

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
PODIPLOMSKI ŠTUDIJ BIOLOŠKIH
IN BIOTEHNIŠKIH ZNANOSTI

Andrej OSTERC

PORAZDELITEV ^{129}I V OKOLJU

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2007

»Visoko čislam učenjaka,
ki nam preganja temo zmot,
a še bolj cenim poštenjaka,
ki ve in hodi pravo pot.«

Simon Gregorčič

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
PODIPLOMSKI ŠTUDIJ BIOLOŠKIH IN BIOTEHNIŠKIH ZNANOSTI

Andrej OSTERC

PORAZDELITEV ^{129}I V OKOLJU

DOKTORSKA DISERTACIJA

DISTRIBUTION OF ^{129}I IN THE ENVIRONMENT

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2007

Popravki:

Doktorska disertacija je zaključek podiplomskega študija bioloških in biotehniških znanosti, s področja biotehnologije. Eksperimentalno delo je bilo opravljeno na Odseku za znanosti o okolju Inštituta Jožef Stefan v Ljubljani. Pripravo in sterilizacijo gojišča ter steklovine in inkubacijo kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* smo opravili na Oddelku za živilstvo, Katedre za biotehnologijo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Senat Univerze v Ljubljani je dne 14. 2. 2006 potrdil temo doktorske disertacije z naslovom: Porazdelitev ^{129}I v okolju. Za mentorico je bila imenovana prof. dr. Vekoslava Stibilj in za somentorja prof. dr. Peter Raspor.

Mentorica: prof. dr. Vekoslava STIBILJ

Somentor: prof. dr. Peter RASPOR

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Domen LEŠTAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: prof. dr. Vekoslava STIBILJ
Odsek za znanosti o okolju, Inštitut Jožef Stefan, Ljubljana

Član: prof. dr. Peter RASPOR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: prof. dr. Marjan VEBER
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Doktorand:

Andrej OSTERC

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)

ŠD	Dd
DK	UDK 543.52.054:546.15:579.26:504(043) = 863
KG	jod/ $^{127}\text{I}/^{129}\text{I}$ /radiokemijska nevtronska aktivacijska analiza/RNAA/validacija/vzorci iz okolja/tla/smrekove iglice/morski sediment/morske alge/ <i>Fucus virsoides</i> /kvasovke/ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> /biomasa/ $\text{Se}^{(\text{VI})}$ / $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ / $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ /radiotoksičnost
AV	OSTERC, Andrej, univ. dipl. inž. živil. tehnol.
SA	STIBILJ, Vekoslava (mentorica)/RASPOR, Peter (somentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101, Slovenija
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti
LI	2007
IN	PORAZDELITEV ^{129}I V OKOLJU
TD	Doktorska disertacija (področje biotehnologija)
OP	XVIII, 178 str., 35 pregl., 48 sl., 115 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Edini stabilni naravni izotop joda je ^{127}I , ^{129}I ($T_{1/2} = 1,57 \cdot 10^7$ let) pa je edini naravni radioaktivni izotop joda, ki je pomemben kot okoljski sledilec biogeokemičnega kroženja joda in širjenja jedrskega onesnaženja. Nastaja v naravi, vendar glavni vir ^{129}I predstavljajo obrati za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva. Namen našega dela je bil razviti radiokemijsko nevtronsko aktivacijsko analizo metodo (RNAA) za določitev ^{129}I v okoljskih vzorcih. Njegova vsebnost v le-teh je nizka, zato smo optimizirali predkoncentriranje joda z razkrojem vzorca (tudi do 150 g) v alkalni talini s KOH. Določili smo ustrezno razmerje vzorec : KOH, ki je za morski sediment in tla 1 : 3, za morske alge 1 : 4 in za smrekove iglice 1 : 6, in pogoje razkroja vzorca. Iz razkrojene, nevtralizirane raztopine vzorca smo jod v toku dušika adsorbirali na aktivnem oglju. Da bi zmanjšali moteče jedrske reakcije zaradi prisotnosti urana v oglju, smo le-tega čistili z različnimi postopki in izbrali čiščenje s HCl (1 mol L ⁻¹), vsebnost urana smo tako zmanjšali za 54 %. Izbrali smo ustrezne razmere obsevanja, sledilo je radiokemijsko separiranje joda, ki je trajalo 25 minut. Meja zaznavnosti metode je $5 \cdot 10^{-14}$ g ^{129}I g ⁻¹ vzorca. Metodo smo validirali z referenčnim materialom IAEA-375 ter ovrednotili merilno negotovost. Na območju Slovenije smo izotopski delež $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ določili v vzorcih iz kopenskega (tla in smrekove iglice) in morskega okolja (morski sediment in rjava morska alga jadranski bračič, <i>Fucus virsoides</i>). V vseh je vsebnost ^{129}I pod mejo zaznavnosti, razen v vzorcih jadranskega bračiča, ki je endemit v Jadranskem morju, so bili izotopski deleži v območju od 5,3 do $31,4 \cdot 10^{-10}$. Naši rezultati potrjujejo, da je ^{129}I v algah prisoten, kar je v soglasju s podatki iz literature. Glavni vir ^{129}I v Sloveniji je suha (aerosol) in mokra (padavine) depozicija ^{129}I . Ugotavljali smo privzem jodovih izotopov pri kvasovki <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Najprej smo proučili vpliv različnih spojin stabilnega ^{127}I (KI, KIO ₃ in KIO ₄) na njegov privzem in rast kvasovke. Rast kvasovk je najbolj inhibiral KIO ₃ in kvasovke so privzele največ joda, dodanega gojišču v obliki KI. V navzkrižnih poskusih smo proučevali specifičnost vezave za jodat ob prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ali $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču z dodatkom $\text{I}^{(\text{V})}$ in brez njega. Jodat je najbolj vplival na zmanjšanje privzema selenata pri kvasovki (za 56 %), kromat pa je najbolj vplival na zmanjšanje privzema jodata (za 81 %). Pri različnih aktivnostih ^{131}I v gojišču, ob prisotnosti stabilnega ^{127}I kot KI, je bil privzem radioaktivnega ^{131}I v obliki KI v povprečju $0,20 \pm 0,05$ % začetne aktivnosti. Kvasovke so privzele več v gojišču razpoložljivega ^{131}I kot ^{127}I in nismo opazili pretvorbe jodida v hlapno obliko. Določili smo časovno odvisnost privzema ^{127}I in ^{129}I , katerih privzem se je bistveno povečal po 12 urah kultivacije. Kvasovke so po 24 urah kultivacije privzele več v gojišču razpoložljivega ^{129}I (3,6 %) kot ^{127}I (0,31 %). Vpliv ^{131}I in ^{129}I na rast kvasovk se ne kaže v rastni krivulji pri dani začetni aktivnosti v gojišču.

KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

DN Dd
 DC UDC 543.52.054:546.15:579.26:504(043) = 863
 CX iodine/ $^{127}\text{I}/^{129}\text{I}$ / radiochemical neutron activation analysis/RNAA//validation/environmental samples/soil/pine needles/marine sediment/marine algae/*Fucus virsoides*/yeasts/*Saccharomyces cerevisiae*/biomass/ $\text{Se}^{(\text{VI})}/\text{Zn}^{(\text{II}+)}/\text{Cr}^{(\text{VI})}$ /radiotoxicity
 AU OSTERC, Andrej
 AA STIBILJ, Vekoslava (supervisor)/RASPOR, Peter (co-advisor)
 PP SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate study of biological and biotechnical sciences
 PY 2007
 TI DISTRIBUTION OF ^{129}I IN THE ENVIRONMENT
 DT Doctoral Dissertation
 NO XVIII, 178 p., 35 tab., 48 fig., 115 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB The only stable natural iodine isotope is ^{127}I , and ^{129}I ($T_{1/2} = 1.57 \cdot 10^7$ years) is the only natural radioactive isotope of iodine, which is important as an environmental tracer of biogeochemical cycling of iodine and of the dissemination of nuclear pollution. ^{129}I is formed in nature, but the main sources of ^{129}I are nuclear fuel reprocessing plants. The aim of our work was to develop a radiochemical neutron activation analysis method (RNAA) for ^{129}I determination in environmental samples, which contain a low amount of ^{129}I . Therefore we optimised the pre-concentration of iodine, using decomposition of the sample (up to 150 g) by alkaline fusion (KOH). We determined the most appropriate sample to KOH ratio which for marine sediments and soil is 1:3, for marine algae 1:4 and for pine needles 1:6, and the conditions needed to decompose the sample efficiently. Iodine was purged from the decomposed, neutralised solution of the sample in a flow of nitrogen and adsorbed on activated charcoal. To minimise interfering nuclear reactions, cleaning of the charcoal by different procedures was tested to reduce the content of uranium. We then choose HCl (1 mol L⁻¹), which reduced the concentration of uranium by 54 %. Appropriate irradiation conditions were selected, followed by radiochemical separation of iodine, lasting 25 minutes. The detection limit of the method is $5 \cdot 10^{-14}$ g ^{129}I g⁻¹ sample. The method was validated using the reference material IAEA-375 and the measurement uncertainty was evaluated. We determined the isotopic $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ratio in samples from the terrestrial (soil and pine needles) and marine environment (marine sediment and brown marine alga *Fucus virsoides* (Donati) J.Agardh) from Slovenia. The content of ^{129}I was below the detection limit of the method, with the exception of *F. virsoides* samples, an alga which is endemic to the Adriatic Sea. We found the isotopic ratio to be in the range from 5.3 to $31.4 \cdot 10^{-10}$. Our results confirm the presence of ^{129}I in algae, in accordance with literature data. The main sources of ^{129}I in the environment of Slovenia are dry (aerosol) and wet (precipitation) depositions. In a laboratory study we assessed the accumulation of iodine isotopes by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. First we studied the influence of different stable iodine ^{127}I compounds (KI, KIO₃ and KIO₄) upon its accumulation and the growth of the yeast. KIO₃ inhibited the growth of the yeast the most; it accumulated most iodine when added as KI to the growth medium. In crosswise experiments we investigated iodate accumulation in the presence of $\text{Se}^{(\text{VI})}$ or $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ or $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ in the growth medium. Iodate resulted in a reduction of $\text{Se}^{(\text{VI})}$ accumulation by the yeast the most (by 56 %), while $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ had the most influence in reducing the accumulation of iodate (by 81 %). At different activity levels of ^{131}I in the growth medium, in the presence of stable ^{127}I as KI, the accumulation of radioactive ^{131}I was on average 0.20 ± 0.05 % of the initial activity. The yeast accumulated more ^{131}I available in the growth medium than ^{127}I , and no transformation of iodide to volatile forms was observed. We determined the kinetics of ^{127}I and ^{129}I accumulation, which showed a tremendous increase after 12 h of cultivation. After 24 h of cultivation the yeast accumulated more ^{129}I (3.6 %) available in the growth medium than ^{127}I (0.31 %). The influence of ^{131}I and ^{129}I upon the growth of the yeast was not reflected in the growth curve for the yeast at the given initial activities in the growth medium.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD).....	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	IX
KAZALO SLIK	XIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XVIII

1 UVOD	1
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KROŽENJE JODA V OKOLJU	3
2.1.1 Vloga organizmov pri kroženju joda v okolju	6
2.2 ^{129}I V OKOLJU IN NJEGOVI VIRI	8
2.2.1 »Prednuklearna« doba	10
2.2.2 Antropogeni prispevek	11
2.3 NEVTRONSKA AKTIVACIJSKA ANALIZA (NAA)	13
2.3.1 INAA in RNAA	16
2.3.2 Moteče jedrske reakcije pri NAA.....	18
2.3.3 Detektorji za γ sevanje	19
2.3.3.1 Scintilacijski detektor	21
2.3.3.2 Polprevodniški detektor	21
2.3.4 Določitev kemijskega izkoristka pri RNAA	24
2.4 METODE DOLOČANJA ^{129}I	26
2.4.1 INAA	27
2.4.2 RNAA.....	27
2.4.2.1 Separiranje ^{129}I iz vzorca	28

2.4.2.2 Indukcija radionuklidov.....	29
2.4.2.3 Separiranje po obsevanju.....	31
2.4.2.4 Merjenje aktivnosti vzorcev in delovnih raztopin (standardov).....	32
2.4.2.5 Določitev kemijskega izkoristka celotnega postopka.....	34
2.4.3 Direktno merjenje aktivnosti ^{129}I.....	35
2.5 CILJ RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE.....	37
2.5.1 Raziskovalne hipoteze	37
3 MATERIAL IN METODE	38
3.1 POTEK DELA.....	38
3.2 VZORCI	41
3.2.1 Kopensko okolje.....	41
3.2.1.1 Tla.....	41
3.2.1.2 Smrekove iglice	43
3.2.2 Morsko okolje	43
3.2.2.1 Morski sediment	43
3.2.2.2 Rjave morske alge (<i>Fucus virsoides</i>)	45
3.3 DELOVNI MIKROORGANIZEM	46
3.4 MATERIAL	47
3.4.1 Reagenti	47
3.4.2 Gojišče YNB brez aminokislin (Yeast Nitrogen Base without amino acids)...53	
3.4.2.1 Tekoče gojišče YNB.....	54
3.4.2.2 Trdno gojišče YNB.....	54
3.5 METODE	54
3.5.1 Določitev ^{129}I.....	54
3.5.1.1 RNAA (Osterc in sod., 2007)	54
3.5.1.1.1 Predsepariranje joda	54
3.5.1.1.2 Priprava delovne raztopine $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (delovni standard)	57
3.5.1.1.3 Obsevanje vzorca in standarda	57
3.5.1.1.4 Radiokemijsko separiranje in merjenje γ aktivnosti ^{130}I in ^{126}I	59

3.5.1.2 Direktna γ -X spektrometrija	61
3.5.2 Določitev stabilnega joda ^{127}I.....	63
3.5.2.1 INAA	63
3.5.2.2 RNAA.....	63
3.5.3 Ugotavljanje privzema jodovih izotopov pri kvasovki <i>S. cerevisiae</i>	65
3.5.3.1 Aerobne submerzne kultivacije na stresalniku	65
3.5.3.2 Vpliv različnih jodovih spojin stabilnega izotopa na njegov privzem in na rast kvasovke	67
3.5.3.3 Specifičnost vezave za jod ob prisotnosti Se ali Zn ali Cr	68
3.5.3.4 Določitev privzema ^{131}I in privzetega izotopskega deleža $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$	69
3.5.3.5 Določitev časovne odvisnosti privzema ^{127}I in ^{129}I ter privzetega izotopskega deleža $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$	70
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	71
4.1 RAZVOJ METODE RNAA ZA DOLOČITEV ^{129}I	71
4.1.1 Predsepariranje joda in adsorpcija na aktivnem oglju.....	71
4.1.2 Optimizacija obsevanja vzorca in delovne raztopine.....	77
4.1.2.1 Izbira aktivnega oglja	78
4.1.2.2 Izbira pogojev obsevanja in proučevanje motečih reakcij.....	82
4.1.3 Določanje kemijskega izkoristka.....	86
4.1.4 Validacija metode RNAA za določitev izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$	89
4.1.5 Ovrednotenje merilne negotovosti metode RNAA za določitev ^{129}I	97
4.1.6 Prednosti in pomanjkljivosti razvite metode RNAA za določitev ^{129}I	99
4.2 UGOTAVLJANJE ^{129}I V OKOLJSKIH VZORCIH	101
4.2.1 Kopensko okolje.....	101
4.2.1.1 Tla.....	101
4.2.1.2 Smrekove iglice	104
4.2.2 Morsko okolje	105
4.2.2.1 Morski sediment	105
4.2.2.2 Rjave morske alge	109

4.2.3 Izvor ^{129}I na območju Slovenije.....	114
4.3 PRIVZEM JODOVIH IZOTOPOV PRI KVASOVKI <i>S. cerevisiae</i>.....	117
4.3.1 Vpliv virov jodida, jodata in perjodata na njihov privzem in rast kvasovke.....	118
4.3.2 Specifičnost vezave za jod ob prisotnosti Se ali Zn ali Cr.....	132
4.3.3 Določitev privzema ^{131}I in privzetega $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ izotopskega deleža.....	149
4.3.4 Določitev časovne odvisnosti privzema ^{127}I in ^{129}I ter privzetega izotopskega deleža $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$	152
5 SKLEPI	160
6 POVZETEK.....	165
6.1 SUMMARY	167
7 VIRI	169

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1.	Jedrske reakcije, ki povzročajo spektroskopske motnje pri NAA	19
Preglednica 2.	Jedrske reakcije, ki omogočajo določitev ^{129}I in ^{127}I z NAA, inducirane s termičnimi ali hitrimi nevtroni	30
Preglednica 3.	Lokacije in parametri vzorčenja morskih sedimentov	43
Preglednica 4.	Sestava gojišča YNB brez aminokislin (Sigma Aldrich, 2000)	53
Preglednica 5.	Koncentracija ^{127}I v referenčnem materialu NIST 1549 in NIES No. 9	64
Preglednica 6.	Začetne koncentracije joda, prisotnega v različnih oblikah, v inokuliranem gojišču	67
Preglednica 7.	Začetne koncentracije Se, Zn in Cr v posameznem inokuliranem gojišču	68
Preglednica 8.	Optimalni pogoji za predsepariranje joda iz tal (IAEA-375 Soil) z razkrojem v alkalni talini (KOH) in adsorpcijo na aktivno oglje	73
Preglednica 9.	Koncentracije sledilcev in nosilcev za proučevanje interferenc pri vezavi joda na aktivno oglje	76
Preglednica 10.	Kemijska sestava različnih vrst aktivnega oglja, analiziranih z metodo k_0 -INAA	79
Preglednica 11.	Vsebnost elementov v aktivnem oglju MERCK 9624 določenih po čiščenju oglja z različnimi postopki, s k_0 -INAA	81
Preglednica 12.	^{133}I in ^{131}I , inducirana iz urana, prisotnega v očiščenem aktivnem oglju, med obsevanjem v centralnem kanalu in v F obroču (pozicija F15 in F19) reaktorja TRIGA Mark II	84
Preglednica 13.	Koncentracija ^{129}I in ^{127}I v referenčnem materialu IAEA-375 Soil	90
Preglednica 14.	Koncentracija ^{129}I in ^{127}I v referenčnem materialu NIST 4357	92
Preglednica 15.	Koncentracija ^{129}I in ^{127}I v referenčnem vzorcu FC-98 Seaweed (<i>Fucus serratus</i>)	94

Preglednica 16.	Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v tleh iz Slovenije	101
Preglednica 17.	Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v tleh iz Ukrajine	102
Preglednica 18.	Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v smrekovih iglicah iz Slovenije	104
Preglednica 19.	Ugotavljanje aktivnosti raztopine sledilca ^{131}I , dodanega morskemu sedimentu, hranjenemu v hladilniku pri 4 °C	106
Preglednica 20.	Ugotavljanje aktivnosti raztopine sledilca ^{131}I , dodanega morskemu sedimentu, hranjenemu v zamrzovalniku pri -20 °C	106
Preglednica 21.	Ugotavljanje aktivnosti raztopine sledilca ^{131}I , dodanega morskemu sedimentu, hranjenemu v zamrzovalniku pri -20 °C, z vmesnim odtajanjem v hladilniku pri 4 °C	107
Preglednica 22.	Določitev izotopskega deleža ^{129}I in ^{127}I v morskih sedimentih iz Sredozemskega in Jadranskega morja	108
Preglednica 23.	Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v rjavih morskih algah <i>Fucus virsoides</i> (jadranski bračič) iz severnega Jadranskega morja, vzorčenih vzdolž italijanske, slovenske in hrvaške obale	110
Preglednica 24.	Primerjava vsebnosti ^{129}I v morskih algah (preračunano na suho snov) z različnih lokacij	113
Preglednica 25.	Privzem joda, dodanega kot KI v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min ⁻¹	120
Preglednica 26.	Privzem joda, dodanega kot KIO ₃ v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min ⁻¹	124
Preglednica 27.	Privzem joda, dodanega kot KIO ₄ v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min ⁻¹	128

-
- Preglednica 28.** Privzem selena, dodanega kot Na_2SeO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt.min⁻¹, brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 µg g⁻¹ gojišča 133
- Preglednica 29.** Privzem cinka, dodanega kot ZnCl_2 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 µg g⁻¹ gojišča 138
- Preglednica 30.** Privzem kroma, dodanega kot K_2CrO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 µg g⁻¹ gojišča 143
- Preglednica 31.** Privzem ^{131}I , dodanega na začetku kulture v tekoče gojišče YNB, pri aerobni submerzni kulturi kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, z dodatkom vira stabilnega joda (KI) do začetne koncentracije 100 µg g⁻¹ v gojišču 149
- Preglednica 32.** Privzem ^{131}I , dodanega na začetku kulture v tekoče gojišče YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije 100 µg g⁻¹ v gojišče, izražen kot izotopsko razmerje $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ pri aerobni submerzni kulturi kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹ 150
- Preglednica 33.** Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do 3,0 µg g⁻¹ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, pri aerobni submerzni kulturi kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, z dodatkom vira stabilnega joda (KI) do začetne koncentracije 100 µg g⁻¹ v gojišču 152
- Preglednica 34.** Časovna odvisnost privzema ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije 100 µg g⁻¹ v gojišču, ob dodatku ^{129}I do 3,0 µg g⁻¹ začetne koncentracije v tekočem YNB gojišču pri aerobni submerzni kulturi kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹ 154

Preglednica 35.	Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, izražena kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$
	 156

KAZALO SLIK

Slika 1.	Pretvorba joda in kemijsko–biološki procesi, ki omogočajo njegovo prehajanje med posameznimi oddelki ekosistema (Leblanc in sod., 2006)	4
Slika 2.	Model globalne porazdelitve stabilnega joda in njegovi pretoki med posameznimi oddelki ekosistema; masa joda v posameznem oddelku je podana v gramih, čas zadrževanja v določenem oddelku v letih in pretoki, zaznamovani nad puščicami, v g leto^{-1} (Fabryka-Martin, 1984)	5
Slika 3.	Razpadna shema ^{129}I (Browne in Firestone, 1986)	9
Slika 4.	Primerjava γ spektrov za vir ^{60}Co in ^{137}Cs , pridobljenih na scintilacijskem detektorju NaI(Tl) in polprevodniškem detektorju HPGe detektorju (Ehmann in Vance, 1991)	23
Slika 5.	Razpadna shema ^{126}I (Browne in Firestone, 1986)	33
Slika 6.	Razpadna shema ^{128}I (Browne in Firestone, 1986)	33
Slika 7.	Razpadna shema ^{130}I (Browne in Firestone, 1986)	34
Slika 8.	Razvoj metode RNAA za določitev $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ izotopskega razmerja v okoljskih vzorcih	38
Slika 9.	Uporaba razvite metode RNAA za določitev izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v vzorcih iz kopenskega in morskega okolja	39
Slika 10.	Ugotavljanje udeležbe kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pri akumulaciji joda	40
Slika 11.	Lokacije vzorčenja morskih sedimentov	44
Slika 12.	Lokacije vzorčenja morskih alg	45
Slika 13.	Shema predsepariranja joda iz vzorca	56
Slika 14.	Položaj vzorca in standarda v Al-zajčku pri obsevanju	57
Slika 15.	Vodoravni prerez sredice reaktorja TRIGA Mark II (Jaćimović, 2003)	58

Slika 16.	Shema radiokemijskega separiranja joda	59
Slika 17.	Shema cilindrične plastične posode, uporabljene za direktno γ -X spektrometrijo	62
Slika 18.	Shematski prikaz adsorpcije joda na aktivnem oglju	75
Slika 19.	γ spekter ^{133}I po separiranju RNAA očiščenega oglja MERCK 9624, obsevanega v centralnem kanalu reaktorja TRIGA Mark II	83
Slika 20.	γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim sledilcem ^{131}I v centralnem kanalu reaktorja TRIGA Mark II (čas obsevanja ~ 15 ur, oglje hladili ~ 12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~ 10 ur)	87
Slika 21.	γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim sledilcem ^{131}I v F obroču reaktorja TRIGA Mark II (čas obsevanja ~ 15 ur, čas hlajenja ~ 12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~ 10 ur)	88
Slika 22.	γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim jodom, separiranim iz referenčnega materiala IAEA 375 Soil v F obroču reaktorja TRIGA Mark II, ter po radiokemijskem separiranju (čas obsevanja ~ 12 ur, čas hlajenja ~ 12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~ 10 ur)	91
Slika 23.	γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim jodom, separiranim iz referenčnega materiala NIST 4357 v F obroču reaktorja TRIGA Mark II, ter po radiokemijskem separiranju (čas obsevanja ~ 12 ur, čas hlajenja ~ 12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~ 10 ur)	93
Slika 24.	γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim jodom, separiranim iz FC-98 Seaweed v F obroču reaktorja TRIGA Mark II, ter po radiokemijskem separiranju (čas obsevanja ~ 12 ur, čas hlajenja ~ 12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~ 1000 s)	95
Slika 25.	γ spekter ^{129}I , dobljen z direktno γ -X spektrometrijo referenčnega vzorca FC-98 Seaweed (čas merjenja, 100 ur)	96
Slika 26.	Viri negotovosti pri določitvi ^{129}I z RNAA v referenčnem materialu IAEA-375 Soil	97
Slika 27.	Prispevki posameznih virov negotovosti k skupni - kombinirani merilni negotovosti pri določevanju ^{129}I z razvito metodo RNAA v referenčnem materialu IAEA-375 Soil	98

- Slika 28.** Koncentracija privzetega joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KI v tekoče gojišče YNB po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹ 121
- Slika 29.** Vpliv desetih različnih začetnih koncentracij joda, dodanega na začetku kulture v gojišče YNB v obliki KI, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kulturi na stresalniku (T = 28 °C, 250 vrt. min⁻¹); 122
- Slika 30.** Koncentracija privzetega joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KIO₃ v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹ 125
- Slika 31.** Vpliv osmih različnih začetnih koncentracij joda, dodanega na začetku kulture v gojišče YNB v obliki KIO₃, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kulturi na stresalniku (T = 28 °C, 250 vrt. min⁻¹) 126
- Slika 32.** Koncentracija privzetega joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KIO₄ v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹ 129
- Slika 33.** Vpliv sedmih različnih začetnih koncentracij joda, dodanega na začetku kulture v gojišče YNB v obliki KIO₄, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kulturi na stresalniku (T = 28 °C, 250 vrt. min⁻¹) 130
- Slika 34.** Primerjava privzema joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KI, KIO₃ in KIO₄ v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹ 131
- Slika 35.** Koncentracija privzetega selena pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot Na₂SeO₄ v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, brez dodanega vira joda in s KIO₃ kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 µg g⁻¹ gojišča 134
- Slika 36.** Vpliv različnih začetnih koncentracij selena, dodanega na začetku kulture v gojišče YNB v obliki Na₂SeO₄, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kulturi na stresalniku (T = 28 °C, 250 vrt. min⁻¹), brez dodanega vira joda in s KIO₃ kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 µg g⁻¹ gojišča; 135

- Slika 37.** Koncentracija privzetega cinka pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot ZnCl_2 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča 139
- Slika 38.** Vpliv različnih začetnih koncentracij cinka, dodanega na začetku kulture v gojišče YNB v obliki ZnCl_2 , na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kulturi na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}), brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča 140
- Slika 39.** Koncentracija privzetega kroma pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot K_2CrO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča 144
- Slika 40.** Vpliv različnih začetnih koncentracij kroma, dodanega na začetku kulture v gojišče YNB v obliki K_2CrO_4 , na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kulturi na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}), brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča 145
- Slika 41.** Privzem $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II})}$ in $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanih kot Na_2SeO_4 , ZnCl_2 in K_2CrO_4 do različnih začetnih koncentracij v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča 147
- Slika 42.** Privzem $\text{I}^{(\text{V})}$ pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KIO_3 do začetne koncentracije $50\text{ }\mu\text{g I}^{(\text{V})}\text{ g}^{-1}$ tekočega gojišča YNB, ob prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II})}$ in $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, dodanih kot Na_2SeO_4 , ZnCl_2 in K_2CrO_4 do različnih začetnih koncentracij v gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in 250 vrt. min^{-1} 148
- Slika 43.** Vpliv ^{131}I , dodanega na začetku kulture v tekoče YNB gojišče, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ v gojišče, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kulturi na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}) 151

- Slika 44.** Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$, z dodatkom vira stabilnega joda (KI) do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču 153
- Slika 45.** Časovna odvisnost privzema ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, ob dodatku ^{129}I do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem YNB gojišču pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$ 155
- Slika 46.** Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, izražena kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$ 157
- Slika 47.** Vpliv ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, $250 \text{ vrt. min}^{-1}$) 158
- Slika 48.** Privzem jodovih izotopov ^{127}I (začetna koncentracija $100 \mu\text{g g}^{-1}$), ^{129}I (začetna koncentracija $3 \mu\text{g g}^{-1}$) in ^{131}I (začetna koncentracija $10,0$ ter $5500 \cdot 10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$), dodanih v obliki KI v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$ 159

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

β^-	razpad »beta minus«; razpad nestabilnega jedra, pri katerem jedro emitira elektron
β^+	razpad »beta plus«; razpad nestabilnega jedra, pri katerem jedro emitira pozitron
E	energija [eV]
ε	zajetje elektrona; nestabilno jedro razpade tako, da zajame orbitalni elektron ter odda pozitron in dva nevtrina
HPGe	germanijev polprevodniški detektor visoke čistoče
INAA	instrumentalna nevtronska aktivacijska analiza
ϕ_f	hitrost fluence hitrih nevtronov [$\text{n}\cdot\text{cm}^{-2}\text{ s}^{-1}$]
ϕ_{th}	hitrost fluence termičnih nevtronov [$\text{n}\cdot\text{cm}^{-2}\text{ s}^{-1}$]
FADH ₂	1,5-dihidro flavin adenin dinukleotid; prenašalec elektronov
k_0	faktor k_0 ; eksperimentalno določeno razmerje med aktivnostjo merjenega nuklida iz vzorca in izbranega komparatorja (zlato ali kobalt ali železo)
NAA	nevtronska aktivacijska analiza
$^n\text{A}(\text{n}, 2\text{n})\text{A}^{n-1}$	zapis jedrske reakcije s hitrimi nevtroni
$^n\text{A}(\text{n}, \gamma)\text{A}^{n+1}$	zapis jedrske reakcije s termičnimi nevtroni
RNAA	radiokemijska nevtronska aktivacijska analiza
σ	aktivacijski (absorpcijski) presek izotopa za nevtrone, izražamo ga v barnih [b]; $1\text{ b} = 10^{-24}\text{ cm}^2$
σ_f	absorpcijski presek izotopa za hitre nevtrone [b]
σ_{th}	absorpcijski presek izotopa za termične nevtrone [b]
$T_{1/2}$	razpolovni čas [s]
VHOC	hlapni halogenirani ogljikovodiki (Volatile Halogenated Organic Compounds)
YNB	gojišče brez aminokislin (Yeast Nitrogen Base without amino acids)

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

V naravi sta znana dva jodova izotopa, stabilni ^{127}I in radioaktivni ^{129}I ($T_{1/2} = 1,57 \cdot 10^7$ let, $E_{\beta, \max} = 0,194$ MeV $E_{\gamma} = 39,58$ keV) z izjemno dolgo razpolovno dobo. Slednji nastaja v naravi s spontano fisijo ^{238}U v litosferi in deloma v hidrosferi (morskem okolju) ter pri interakciji kozmičnih žarkov s ksenonom v atmosferi. Naravna produkcija prispeva ravnotežno maso 263 kg prostega ^{129}I . Ocenili so, da je naravno prednuklearno izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ približno $1,5 \cdot 10^{-12}$ (Szidat in sod., 2000a).

Z razvojem jedrske tehnologije se je povečala množina ^{129}I v okolju. Testiranja jedrskega orožja so prispevala 50 kg, nesreča v Černobilu 1–2 kg, predelovalna obrata za izrabljeno reaktorsko gorivo, ki sta v Franciji (La Hague) in Angliji (Sellafield), pa do leta 2000 kar 3280 kg ^{129}I (Hou in sod., 2002). Leta 1990 so ocenili, da gorivne palice, ki so bile takrat v rabi v jedrskih elektrarnah, vsebujejo približno 5660 kg ^{129}I (Schmidt, 1998). Antropogeni vir ^{129}I je občutno spremenil naravno izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$, predvsem na severni polobli, in ga dvignil za tri velikostne razrede, v sami bližini predelovalnih obratov pa vse do šest velikostnih razredov (Fréchou in Calmet, 2003a).

Zaradi izjemno dolge razpolovne dobe je ^{129}I potencialen globalni onesnaževalec, saj se v atmosferi veže (precipitira) na drobne delce prahu (aerosol) in se lahko z vetrovi razširi zelo daleč ter se s padavinami vrača na tla ter v reke in morja. Tako so na nekem področju na Švedskem, zelo oddaljenem od izvora emisij, v tleh določili razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ med $3,5 \cdot 10^{-7}$ in $6,0 \cdot 10^{-6}$. Določili pa so tudi povečanje ^{129}I na južni polobli, čeprav so tam samo tri od skupno 430 jedrskih elektrarn in ni nobenega obrata za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva (Moran in sod., 1999; Hou in sod., 2003b).

Med drugimi državami tudi za Slovenijo ni podatkov o porazdelitvi ^{129}I v okolju. Na širšem območju Slovenije bomo določili vsebnost ^{129}I v vzorcih tal, rastlin, morskih sedimentov in alg ter jo primerjali z rezultati raziskovalcev, ki so določali vsebnost ^{129}I v drugih evropskih državah. Vsebnost ^{129}I bomo določili tudi v vzorcih tal z območja Ukrajine, vzročenih v obdobju od 1989 do 2006. Tam je bila leta 1986 v Černobilu jedrska nesreča, ki je prispevala 1–2 kg ^{129}I v okolje (Hou in sod., 2002). Te vsebnosti bomo primerjali z vrednostmi, dobljenimi za Slovenijo.

Na kopnem pomembno vplivajo na delež joda v tleh organske komponente tal (humus oz. huminske snovi), ki ga vežejo, in v tleh prisotni mikroorganizmi. Ugotavljali bomo udeležbo kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* pri privzemu jodovih izotopov *in vitro*. Privzem stabilnega izotopa bomo proučili v različnih jodovih spojinah. Aerobno submerzno kultivacijo bomo izvedli na stresalniku v gojišču YNB brez aminokislin (Yeast Nitrogen Base without amino acids). Spremljali bomo vpliv različnih začetnih koncentracij jodovih izotopov na rast kvasovke in časovno odvisnost privzema.

Kot vir radioaktivnega joda bomo zaradi dosegljivosti in kratkega razpolovnega časa najprej uporabili ^{131}I , saj le-ta vstopa v enake reakcije kot ^{129}I , pod pogojem, da sta oba izotopa v enakem oksidacijskem stanju (v gojišče ju bomo dodali v obliki jodida, oksidacijsko stanje 1⁻). Na podlagi dobljenih rezultatov bomo naredili poskuse z uporabo ^{129}I in določili razmerje med stabilnim in radioaktivnim izotopom.

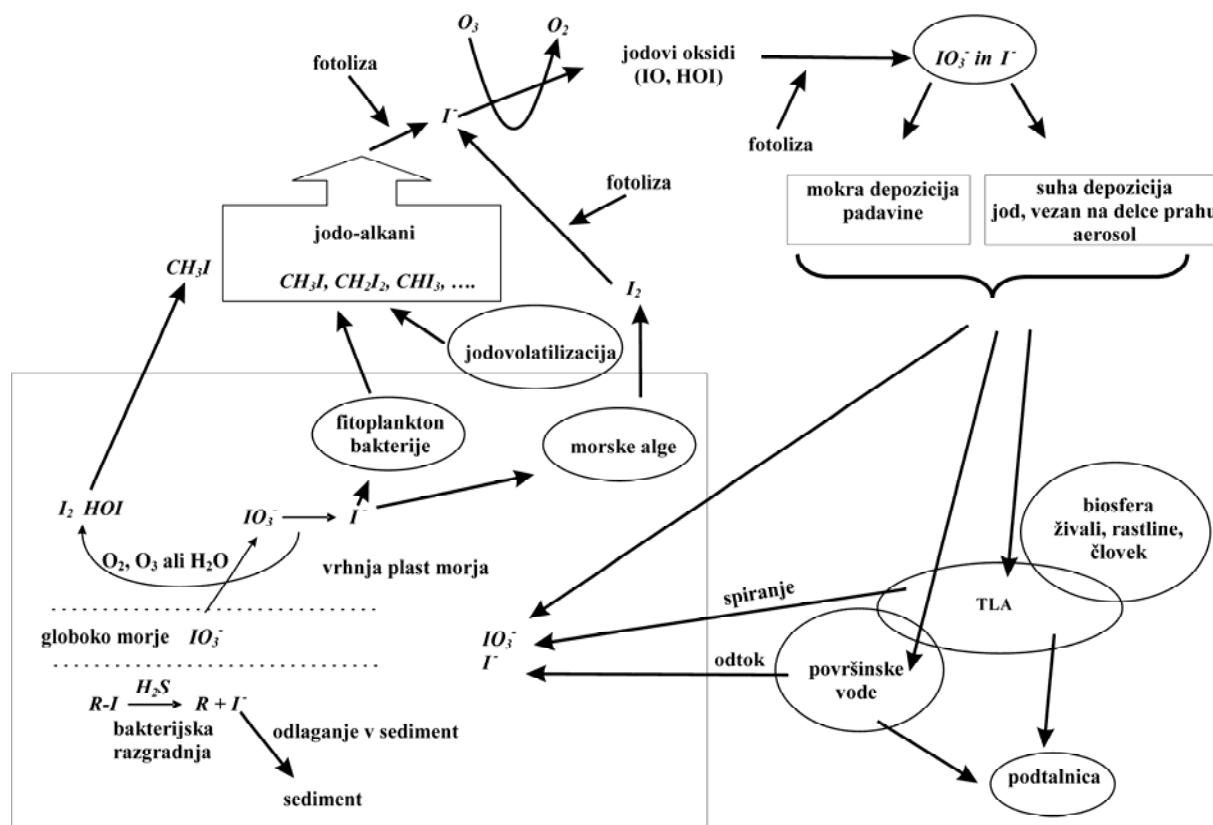
2 PREGLED OBJAV

2.1 KROŽENJE JODA V OKOLJU

Jod (iz grške besede *iódes* = mnogobarven, mavričen) je element sedme skupine periodnega sistema (halogeni elementi) z vrstnim številom 53. Leta 1811 ga je odkril Bernard Courtois (1777–1838). Relativna molekulska masa joda je $126,9045 \text{ g mol}^{-1}$. Kemijsko je jod najmanj reaktiven od halogenov in najbolj elektropozitivni halogen. Edini stabilni naravni izotop joda je ^{127}I , ki je prisoten v vseh oddelkih ekosistema oz. okolja in je torej element, ki je povsod navzoč. Pri sobni temperaturi je jod modro črna, bleščeča se trdna snov, ki pri segrevanju sublimira v modro vijoličen plin z dražljivim vonjem (Lazarini in Brenčič, 1992).

Halogeni elementi tvorijo kemijsko izredno stabilne okside (reaktivne zvrsti halogenov s kisikom), ki v višjih plasteh troposfere počasi prehajajo v stratosfero, kjer fotokemično razpadajo; pri tem nastajajo prosti radikali, ki razgrajujejo plasti ozona. Naravni rezervoar halogenih elementov so oceani, od tam pa prehajajo v atmosfero (Muramatsu in sod., 2004).

Biogeokemično kroženje joda v okolju je pogojeno z biološkimi, geološkimi (fizikalnimi) in kemičnimi procesi, ki se med seboj prepletajo in jih moramo obravnavati celostno. Pod kroženjem joda v okolju razumemo njegovo izmenjavo med posameznimi oddelki ekosistema. Ta izmenjava je pogojena z njegovo mobilnostjo, le-ta pa je odvisna od zvrsti joda (oksidacijsko stanje, organska – anorganska oblika). Kot osrednji člen biogeokemičnega kroženja joda izberemo zemeljsko skorjo oz. kamnine, bogate z jodom. Njegovo prehajanje med posameznimi oddelki ekosistema (hidrosfera – atmosfera – pedosfera – biosfera) poteka preko vodnega cikla in hlapnih halogeniranih ogljikovodikov (angleško VHOC: volatile halogenated organic compounds), kamor sodijo tudi hlapni jodo alkani, slika 1 (Ernst, 2003; Leblanc in sod., 2006).

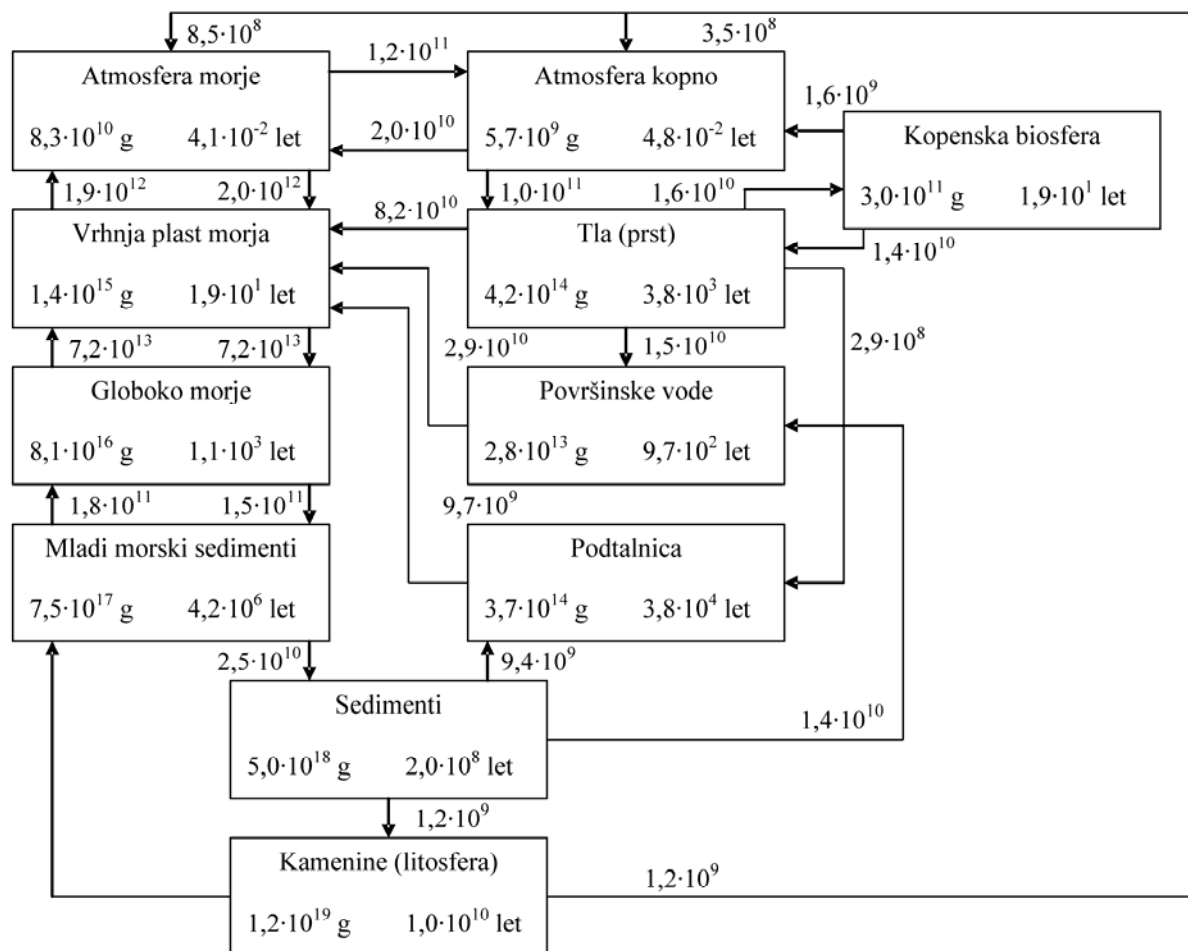


Slika 1. Pretvorba joda in kemijsko–biološki procesi, ki omogočajo njegovo prehajanje med posameznimi oddelki ekosistema (Leblanc in sod., 2006)

Figure 1. Transformation of iodine and chemical-biological processes, which are involved in its cycling between particular compartments of ecosystem

Muramatsu in sod. (1998 in 2001) so ocenili, da je skupna masa stabilnega joda zemeljske skorje (kamnine litosfere) $8,6 \cdot 10^{15}$ kg, od tega ga je kar 70 % navzočega v morskih sedimentih.

Skupni inventar stabilnega joda, njegovo porazdelitev med posamezne oddelke ekosistema, zadrževalne čase v le-teh ter pretoke med njimi ponazarja slika 2 (Fabryka-Martin, 1984; Schmidt, 1998).



Slika 2. Model globalne porazdelitve stabilnega joda in njegovi pretoki med posameznimi oddelki ekosistema; masa joda v posameznem oddelku je podana v gramih, čas zadrževanja v določenem oddelku v letih in pretoki, zaznamovani nad puščicami, v g leto^{-1} (Fabryka-Martin, 1984)

Figure 2. The model of global stable iodine distribution and its fluxes between particular compartments of ecosystem; the amount of iodine in each compartment is given in grams, the residual time in particular compartment is given in years and the fluxes, indicated above arrows, are given in grams per year

Iz modela je razvidno, da se jod v atmosferi zadržuje le nekaj dni, v biosferi kopenskega okolja in vrhnjih plasteh oceanov (morij) dvajset let, globoko v morju tisoč let, v tleh (pedosferi) pa kar štiri tisoč let. V mladih oceanskih sedimentih se zadržuje najdlje ($4,2 \cdot 10^6$ let). Najpomembnejši vir joda za biosfero kopenskega okolja (tudi človeka)

predstavlja pedosfera, ki pa v veliki meri napaja jod iz morskega okolja, izmenjan preko atmosfere.

2.1.1 Vloga organizmov pri kroženju joda v okolju

Mikroorganizmi se v dogajanja v okolju vključujejo kot primarni producenti, pa tudi kot porabniki in razgrajevalci. S svojim delovanjem so sposobni biotransformacije in bioremediacije elementov (spojin). S fizikalno-kemijskimi in biološkimi mehanizmi vplivajo na mobilnost in pretvorbo elementov. Nekateri od teh mehanizmov so reverzibilni in pod vplivom metabolizma mikroorganizmov (njihovih intra- in ekstracelularnih encimov) ter pogojev v okolju (pH, redoks potencial, temperatura, a_w). Tako lahko prihaja do tvorbe kompleksov elementov s sulfidi (sulfidna precipitacija), do privzema le-teh v celico, kjer se organizirajo oz. shranijo v določenih celičnih odsekih (kompartmentih). Vzporedno se z redukcijo pretvarjajo v manj topne oblike, kar posledično vodi v imobilizacijo. Proces, nasproten imobilizaciji, je volatilizacija elementov pod vplivom mikroorganizmov; tak proces je metilacija. S svojim delovanjem, predvsem z oksidacijo/redukcijo, lahko mikroorganizmi prispevajo k večji mobilnosti oz. topnosti elementov, ne samo k njihovi imobilizaciji. Ta dva procesa – imobilizacija in t. i. solubilizacija – sta v okolju v ravnotežju in odvisna od dejavnikov okolja, ki vplivajo na združbo in aktivnost prisotne mikroflore. Ti mehanizmi so tako pomemben del biogeokemičnega kroženja elementov, pri katerem igrajo pomembno vlogo bakterije, cianobakterije, mikroalge in glive (kvasovke) (Gadd, 1996 in 2000).

V literaturi ni zaslediti, da bi bil jod esencialen oz. nujno potreben element za mikroorganizme. Pri pregledu literature smo našli le članek Greavesa in sod. (1928), ki so v začetku 20. stoletja proučevali vpliv joda na rast in metabolizem kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*. Ugotovili so, da nizke koncentracije joda v obliki jodida ($1 \mu\text{g I g}^{-1}$) v gojišču pozitivno vplivajo na rast kvasovke.

Vpliv joda na mikroorganizme je bil raziskan s toksikološkega stališča. Shepard in Hawkins (1995) sta ugotavljala vpliv joda na bakterije, alge, kvasovke in plesni. Ugotovila sta, da so anaerobni mikroorganizmi bolj občutljivi na visoke koncentracije joda kot aerobni. Pri aerobni kultivaciji mikroorganizmov je prišlo do toksičnih učinkov joda šele pri 2000 mg I L^{-1} medija, toksičnost pri anaerobnih pogojih pa se je v nekaterih primerih pokazala že pri 110 mg I L^{-1} medija. Sklepala sta, da do razlik lahko prihaja bodisi zaradi večje senzibilnosti anaerobnih mikroorganizmov v primerjavi z aerobnimi oz. zaradi porušenega/spremenjenega redoks potenciala pri pogojih brez prisotnosti kisika.

Bakterije v kopenskem in morskem okolju ter alge (Itoh in sod., 1997; Baker in sod., 2001) in fitoplankton (Manley in Cuesta, 1997) v morskem okolju sodelujejo pri kroženju joda v okolju, tako da jod pretvarjajo v hlapne jodogljikovodike, od katerih prevladuje jodo metan (Leblanc in sod., 2006). Zadnje raziskave na bakterijah so pokazale, da so v biosintezo halogenih metabolitov vključeni posebni encimi halogenaze, ki so odvisni od prenašalca elektronov 1,5-dihidro flavin adenin dinukleotida (FADH_2) ter sodelujejo pri procesih halogenacije/dehalogenacije (Pée in Unversucht, 2003). Za riževa polja sta Muramatsu in Yoshida (1995a) ugotovila, da mikroorganizmi povzročajo sproščanje joda v obliki jodo metana. Amachi in sod. (2001, 2003) so dokazali, da so bakterije iz morskega in kopenskega okolja sposobne metilacije v gojišče dodanega jodida, ki se sprošča kot jodo metan. Ugotovili so, da metilacija poteka samo pri aerobnih pogojih oz. da anaerobne bakterije (*Clostridium sp.* in metanogene bakterije) niso metilirale joda.

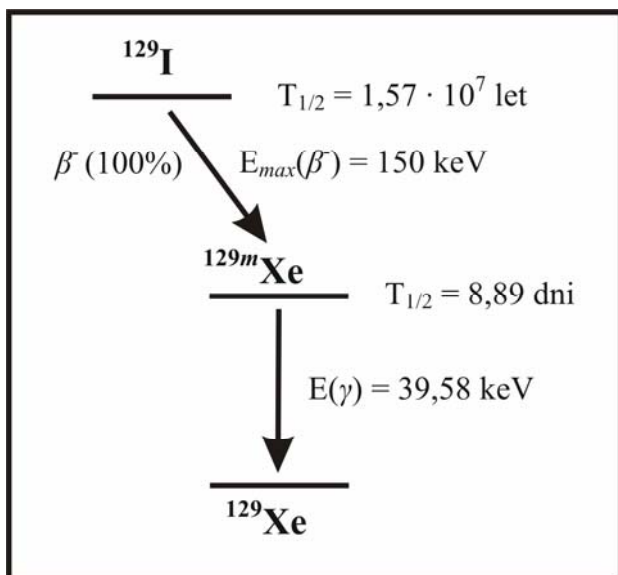
Raziskovalci (Moore in Groszko, 1999; Amachi in sod., 2001; Muramatsu in sod., 2004) menijo, da biološki procesi prispevajo največ h globalnim emisijam hlapnih jodogljikovodikov. Keppler in sod. (2000 in 2003) se z ugotovitvijo zgoraj navedenih raziskav ne strinjajo, saj so odkrili dodaten vir hlapnih jodogljikovodikov, ki temelji na redoks mehanizmu v tleh. Določene fenolne skupine, prisotne v tleh (vir le-teh predstavlja humus), se popolnoma mineralizirajo in tvorijo CO_2 ter vodo. Pri teh pogojih (kisli medij), in ob navzočnosti oksidanta (Fe^{3+}), iz jodida (I^-) nastajajo hlapni jodogljikovodiki ($\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{I}$), ki

difundirajo v troposfero, kjer so podvrženi fotokemičnim reakcijam in se razgrajujejo. Čas zadrževanja jodalkanov v troposferi je približno deset dni; pretvorijo (razgradijo) se že v troposferi ter ne prehajajo v stratosfero, drugače kot alkil bromidi in kloridi, ki so mnogo bolj stabilni, njihova »življenjska doba« v troposferi je vse do enega leta, in prehajajo tudi v stratosfero (Keppler in sod., 2003).

V literaturi je zaslediti, da določene bakterije reducirajo jodat (IO_3^-) in oksidirajo jodid (I^-). Tako so pri nekaterih nitrat reducirajočih bakterijah, sulfat reducirajočih bakterijah in disimilatornih Fe(III) reducirajočih bakterijah opazili redukcijo jodata (IO_3^-) v jodid (I^-) (Tsunogai in Sase, 1969; Councell in sod., 1997; Farrenkopf in sod., 1997). Redukcijo jodata (IO_3^-) v jodid (I^-) so dokazali tudi pri kulturah fitoplanktona (Wong in sod., 2002; Chance in sod., 2006). Amachi in sod. (2005a) so iz kopenskega in morskega okolja izolirali bakterije, ki so sposobne oksidirati jodid (I^-) v elementarni jod (I_2).

2.2 ^{129}I V OKOLJU IN NJEGOVI VIRI

Izotopi so atomi istega elementa, ki imajo v jedru enako število protonov, a različno število nevtronov. Imajo tudi enako število elektronov in s tem enake kemijske lastnosti. ^{129}I nastaja v naravi s spontano fisijo ^{238}U in z interakcijo kozmičnih žarkov s ksenonom. Največ se ga v okolje sprosti pri predelavi izrabljenega reaktorskega goriva. Je radioaktivni izotop joda oz. radionuklid, ki ima v svojem jedru dva dodatna nevtrona in s tem presežek energije, zaradi česar teži k spontani pretvorbi nestabilnega jedra v drugo, bolj stabilno jedro. Pri tem izseva delce in elektromagnetno valovanje (slika 3).



Slika 3. Razpadna shema ^{129}I (Browne in Firestone, 1986)

Figure 3. Decay scheme of ^{129}I

Izvor radionuklidov, ki se pojavlja v okolju, je naslednji:

- **Primordialni** radionuklidi (primordialna nukleosinteza) so se tvorili pri nastanku našega sončnega sistema (Zemlje) pred $4,55 \cdot 10^9$ leti in imajo tako dolge razpolovne čase, da so se ohranili do danes. Najpomembnejši med njimi so ^{40}K in tri kompleksne razpolovne verige ^{238}U (uran–radijeva veriga), ^{232}Th (torijeve veriga) in ^{235}U (uran–aktinijeve veriga), ki s številnimi razpadi alfa, beta in gama preko vmesnih izotopov preidejo v izotope svinca. Ti izotopi so v zemeljski skorji in jih najdemo v tleh in kamninah.
- **Kozmogeni** radionuklidi nastajajo pri absorpciji kozmičnega sevanja v atmosferi; katerih najpomembnejša sta tritij ^3H in radioaktivni ogljik ^{14}C . S padavinami padejo na zemeljsko površino.
- **Antropogeni** radionuklidi nastanejo zaradi človekove dejavnosti, kot je npr. proizvodnja in uporaba radioaktivnih izotopov za potrebe medicine ter uporaba jedrske tehnologije oz. jedrskega reaktorja.

2.2.1 »Prednuklearna« doba

S pojmom »prednuklearna« doba označujemo obdobje pred človekovo jedrsko aktivnostjo, kar pomeni, da ni bilo antropogenega prispevka k skupni masi ^{129}I v okolju; tako predstavlja masa ^{129}I iz tega obdobja naravno ozadje oz. naravno produkcijo. ^{129}I v okolju nastaja z dvema naravnima procesoma:

- Kozmogeni ^{129}I nastaja pri interakcijah kozmičnih žarkov s ksenonom v zgornjih plasteh troposfere ter v stratosferi. Produkcija znaša 5 mg na leto, kar pri upoštevanju srednjega razpolovnega časa ($T_{1/2} / \ln 2$) pomeni, da je ravnotežna masa (ravnotežje med produkcijo in razpadanjem) kozmogenega ^{129}I na Zemlji 120 kg (Szidat, 2000; Schmidt, 1998).
- ^{129}I nastaja tudi pri spontani fisiji primordialnega ^{238}U z izkoristkom 0,03 %. Ta proces poteka predvsem v zemeljski skorji (litosferi), na površje pa se sprošča z vulkanskimi izbruhi (86 %) ter s preperevanjem kamnin (14 %). Z razpadom (fisijo) ^{238}U v hidrosferi oz. morskem okolju nastane dodatnih 1,2 kg fisiogenega ^{129}I . Skupni prispevek fisiogenega ^{129}I je 143 kg (ravnotežna masa) (Fabryka-Martin in sod., 1985; Schmidt, 1998; Hou, 2004).

Fabryka-Martin (1984) je ocenil, da naravni rezervoar Zemlje vsebuje približno 50.000 kg (326,8 TBq) ^{129}I . Večina ga je vezanega v litosferi, samo 263 kg (1,7 TBq) ^{129}I (kozmojeni in fisiogeni) je razpoložljivega v atmosferi, hidrosferi in biosferi Zemlje.

Vsebnost ^{129}I v okoljskih in bioloških vzorcih podajamo kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$, saj sta ^{129}I in ^{127}I v okolju prisotna v vseh oddelkih ekosistema, kjer sta v določenem ravnotežnem razmerju. Pridobiti reprezentativne vzorce za to obdobje je zahtevno, saj lahko hitro pride do kontaminacije vzorcev iz prednuklearne dobe z ^{129}I , ki je produkt človekovega delovanja. To velja predvsem za vzorce kopenske biosfere (biološki vzorci), ki jih lahko najdemo zgolj v različnih medicinskih in muzejskih zbirkah.

Teoretične predpostavke naravnega ravnotežnega izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ predvidevajo vrednost $5,5 \cdot 10^{-13}$ (Fabryka-Martin in sod, 1985). Dobljene vrednosti za morski sediment $(1,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-12}$ in morsko vodo $(1,4 \pm 0,9) \cdot 10^{-12}$, vzorčenih v velikih globinah, so nekoliko višje od teoretične vrednosti, zato Szidat in sod. (2000a) predvidevajo, da je naravno ravnotežno izotopsko razmerje $1,5 \cdot 10^{-12}$. Analizirali so tudi vzorce ščitnice in tal iz prednuklearnega obdobja in kot najnižje vrednosti izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ določili vrednosti približno $5 \cdot 10^{-12}$, najvišjo vrednost, $1,68 \cdot 10^{-10}$, pa v vzorcu tal iz Moskve (Rusija), vzorčenih leta 1910. To je približno 5- oz. 170-krat več od predvidenih ravnotežnih prednuklearnih vrednosti za morsko okolje. To dejstvo so razložili tako, da je med dolgoletnim skladiščenjem najverjetneje prišlo do kontaminacije vzorcev z ^{129}I antropogenega izvora, saj so bile vrednosti za $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v slepem vzorcu v območju od 5 do $20 \cdot 10^{-14}$. Tako so izključili možnost kontaminacije med pripravo vzorcev v laboratoriju.

Liu in sod. (1997) so določevali vsebnost ^{129}I v vzorcih surove nafte (Nevada, ZDA). Določili so izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ za nafto iz dveh naftnih polj in dobili vrednosti od $0,5 \cdot 10^{-12}$ do $2,2 \cdot 10^{-12}$ s povprečjem $1,1 \cdot 10^{-12}$, kar je zelo blizu naravnemu izotopskemu razmerju, ki so ga določili Szidat in sod. (2000a). Vzroke za povišane vrednosti pri nekaterih vzorcih so iskali pri morebitnih nahajališčih z uranom bogatih kamnin v bližini naftnega polja.

Moran in sod. (1998) so določili vsebnost ^{129}I v 25 morskih sedimentih in kot prednuklearno razmerje določili $1,5 \cdot 10^{-12}$.

2.2.2 Antropogeni prispevek

Zaradi človekovega delovanja se povečuje množina ^{129}I v okolju. Naravna produkcija ^{129}I je v primerjavi z antropogenim ^{129}I zanemarljiva. Za morsko okolje so ocenili, da je ocean prednuklearne dobe vseboval približno 100 kg ^{129}I (Raisbeck in Yiou, 1999).

Testiranja jedrskega orožja so prispevala približno $\sim 50 \text{ kg } ^{129}\text{I}$, nesreča v Černobilu (1986) pa le 1–2 kg k skupni masi prostega ^{129}I v okolju (Hou in sod., 2002). Največji vir ^{129}I antropogenega izvora predstavljajo obrati za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva. V Evropi so v Angliji, Belgiji, Nemčiji, Franciji in Rusiji, zunaj Evrope pa na Japonskem. Od obratov, lociranih v Evropi, je vpliv na okolje najbolj raziskan na dveh; eden je v Franciji (La Hague), drugi pa v Angliji (Sellafield). ^{129}I nastaja v jedrskem reaktorju (gorivnih palicah) pri fisiji ^{235}U in ^{239}Pu , inducirani s termičnimi nevtroni. Tipična vsebnost ^{129}I v izrabljenih gorivnih palicah je približno 170 g t^{-1} . Pri obdelavi teh palic, pri recikliranju plutonija in urana se sprošča ^{129}I . S plinskimi izpusti predelovalnih obratov jod prehaja v atmosfero, s tekočimi izpusti pa v morsko okolje, saj sta oba obrata v neposredni bližini morja, kamor imata napeljane izpuste za tekoče efluente. Od leta 1967 (Sellafield), 1975 (La Hague) pa do leta 1992 o iz obeh obratov skupaj v okolje spustili približno $\sim 1200 \text{ kg } ^{129}\text{I}$ (Raisbeck in sod., 1995). Izpusti so se od takrat naprej samo povečevali in do leta 1998 dosegli $\sim 2600 \text{ kg}$ (1800 kg La Hague in 800 kg Sellafield; Hou in sod., 2000c), do leta 2000 pa $\sim 3280 \text{ kg}$ (Hou in sod., 2002). Finkel in Suter (1993) sta leta 1990 ocenila, da tedanje izrabljene reaktorske gorivne palice vsebujejo približno $5660 \text{ kg } ^{129}\text{I}$. Te mase so do danes seveda narasle in še vedno naraščajo.

Naravni ^{129}I je nastajal postopoma in je s stabilnim ^{127}I v določenem ravnotežnem razmerju ($1,5 \cdot 10^{-12}$). Antropogeni ^{129}I vstopa v okolje šele od leta 1945 in ga je trenutno največ v biosferi, tleh (pedosferi) in v vrhnjih plasteh morij (slika 1 in 2). Množina stabilnega joda je v omenjenih oddelkih ekosistema v primerjavi s celotno množino joda v okolju (ekosistemu) majhna, zato je pričakovati, da bo izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ najbolj povečano prav v teh oddelkih ekosistema (Schmidt, 1998).

Današnje koncentracije ^{129}I v okolju ne predstavljajo nevarnosti za človeka (biosfero), pomemben pa je kot okoljski sledilec, saj lahko spremljamo biogeokemično kroženje joda. Obrati za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva predstavljajo vhodne točke, kjer ^{129}I

vstopa v preučevani sistem (okolje), nato pa lahko spremljamo njegovo širjenje (kroženje) v okolju.

2.3 NEVTRONSKA AKTIVACIJSKA ANALIZA (NAA)

Nevtronska aktivacijska analiza (NAA) temelji na indukciji radionuklidov, ki nastanejo pri reakciji nevtronov z jedrom atoma. Ker se reakcija odvija v jedru atoma, govorimo o jedrskih reakcijah. Inducirana aktivnost posameznega elementa je neodvisna od njegove kemijske vezave v vzorcu, saj ne prihaja do interakcij z elektroni atoma, ki določajo kemijske lastnosti določenega elementa.

Najpogostejše je vir nevtronov jedrski reaktor in glede na energijo (hitrost) nevtronov ločimo termične (energija $\approx 0,025$ eV), epitermične (energija v območju od 0,35 eV do 1 MeV) in hitre nevtrone (energija $> 0,5$ MeV). Pri NAA najpogostejše uporabljamo termične nevtrone, ki inducirajo (n, γ) tip jedrske reakcije. Jedro zajame nevtron, preide v vzbujeno jedro, ki je nestabilno in se osvobaja presežka energije z oddajanjem takojšnjih γ žarkov (angl.: prompt γ rays). Pri tem nastali radionuklid še naprej razpada, sprosti naknadne delce (npr. β^-) in zakasnele žarke γ ter preide v stabilno jedro. Pri merjenju aktivnosti γ (γ spektrometrija) praviloma spremljamo zakasnele žarke γ .

Pri (n, γ) tipu jedrske reakcije jedro izotopa prejme nevtron in odda foton. Nastalemu radionuklidu se tako število nevtronov poveča za ena. V nekaterih primerih uporabimo indukcijo nuklidov s hitrimi nevtroni, ki inducirajo (n, 2n) tip jedrske reakcije. Jedro izotopa prejme nevtron, ki pa ima mnogo višjo energijo in se v jedru ne »zajame«, ampak povzroči izbitje dodatnega nevtrona – tako nastane radionuklid, ki se mu število nevtronov zmanjša za ena. Nestabilno jedro inducirane radionuklida odda takojšnje žarke γ , delce (razpad beta in zajetje elektrona) in zakasnele žarke γ ter preide v stabilno jedro.

Verjetnost, da bo jedro zajelo nevtron, opišemo z aktivacijskim oz. absorpcijskim presekom izotopa (σ). Glede na energijo (hitrost) nevtronov ločimo absorpcijski presek izotopa za termične nevtrone (σ_{th}) pri (n, γ) jedrski reakciji ter absorpcijski presek za hitre nevtrone (σ_{f}) pri $(n, 2n)$ jedrski reakciji. Izražamo ga v barnih, $1 \text{ b} = 10^{-24} \text{ cm}^2$ (Ehmann in Vance, 1991).

Razpad beta je vrsta radioaktivnega razpada, pri katerem nestabilna jedra preidejo v stabilna, tako da emitirajo delce beta, to je elektron ali pozitron. Kadar jedro odda elektron, govorimo o »beta minus« (β^-) razpadu (enačba 1), v primeru oddaje pozitrona pa o »beta plus« (β^+) razpadu (enačba 2).

Pri β^- razpadu (enačba 1) se nevtron (n^0) pretvori v proton (p^+) ter pri tem emitira elektron (e^-) in antinevtrino ($\bar{\nu}_e$):



Pri β^+ razpadu (enačba 2) se energija (E) porabi za pretvorbo protona (p^+) v nevtron (n^0), pozitron (e^+) in nevtrino (ν_e):



Pri zajetju elektrona (ϵ) se nestabilno jedro s presežkom protonov (p^+) relaksira tako, da zajame (absorbira) orbitalni elektron (praviloma iz L ali K lupine) ter odda pozitron in dva nevtrina.

Energije izsevanih γ žarkov so značilne za posamezne radionuklide (kvalitativna analiza), intenziteta le-teh pa je sorazmerna koncentraciji izotopa oz. elementa v vzorcu (kvantitativna analiza). Vsak radionuklid ima več energijskih črt, vendar izberemo tisto, ki predstavlja večji delež emitiranja za določen radionuklid in se ne prekriva z energijami drugih radionuklidov.

Osnova kvalitativne identifikacije elementov v aktiviranem vzorcu je ugotovitev vrste in energije emitiranega sevanja ter razpolovnega časa nastalega radionuklida.

Za kvantitativno določitev nekega elementa z NAA lahko uporabimo absolutno ali relativno metodo (Ehmann in Vance, 1991).

- Absolutna metoda:

Inducirana aktivnost določenega radionuklida v določenem času je odvisna od nastajanja novega radionuklida (B, enačba 3) kot tudi od njegovega radioaktivnega razpada (C).

$$A(n, \gamma)B \rightarrow C \quad \dots (3)$$

Matematični zapis teh odnosov je izražen v enačbi 4:

$$A_t = \theta \cdot N \cdot \phi \cdot \sigma \cdot (1 - e^{-\lambda \cdot t}) \quad \dots (4)$$

A_t – aktivnost ob času t ; θ – delež izotopa v naravni izotopski sestavi (%); N – število atomov; Φ – fluenca nevtronov ($\text{n cm}^{-2} \text{s}^{-1}$); σ – aktivacijski presek izotopa (cm^2 , praktična enota »barn«: $\text{b} = 10^{-24} \text{ cm}^2$); λ – razpadna konstanta; t – čas obsevanja (s)

Absolutno metodo uporabljamo redkokdaj. Parametri, kot so fluenca nevtronov, delež izotopa v naravi in aktivacijski presek izotopa, so težko določljivi oz. niso dovolj zanesljivi, zato uporabljamo relativno metodo, kamor uvrščamo instrumentalno nevtronsko aktivacijsko analizo (INAA) in radiokemijsko nevtronsko aktivacijsko analizo (RNAA).

2.3.1 INAA in RNAA

Glavna razlika med INAA in RNAA je v tem, da pri metodi RNAA po obsevanju izvedemo radiokemijsko separiranje induciranih radionuklidov, katerih koncentracijo določamo, medtem ko metoda INAA ne vključuje radiokemijskega separiranja, ampak meritev vzorca kot takega. Pri teh dveh relativnih metodah NAA sočasno z vzorcem obsevamo tudi delovno raztopino (delovni standard), ki vsebuje znano koncentracijo elementa, ki ga določamo. Inducirane aktivnosti iskanega elementa v vzorcu in delovni raztopini merimo pri enakih geometrijskih pogojih. Osnova je podana v enačbi 5:

$$\frac{A_x}{A_{st}} = \frac{m_x}{m_{st}} = \frac{P_x}{P_{st}} \quad \dots (5)$$

A_x – aktivnost inducirane radionuklida iz vzorca; A_{st} – aktivnost inducirane radionuklida v delovni raztopini (standardu); m_x – masa vzorca; m_{st} – masa delovne raztopine (standarda); P_x – površina vrha pri meritvi inducirane radionuklida v vzorcu; P_{st} – površina vrha pri meritvi inducirane radionuklida v delovni raztopini znane koncentracije

Pri praktičnem delu sta meritvi γ aktivnosti vzorca in delovne raztopine časovno zamaknjeni, zato moramo upoštevati razpad izotopa med »hlajenjem« in med samo meritvijo. Pod hlajenjem razumemo čas, ki preteče od začetka meritve vzorca (le-tega praviloma izmerimo prej) do začetka meritve delovne raztopine. Ta korekcija je upoštevana v enačbi 6:

$$m_x = m_{st} \cdot \frac{A_x \cdot e^{-\lambda \cdot t_{st}} \cdot \left(1 - e^{-\lambda \cdot t(m)_{st}}\right)}{A_{st} \cdot e^{-\lambda \cdot t_x} \cdot \left(1 - e^{-\lambda \cdot t(m)_x}\right)} \quad \dots (6)$$

λ – razpadna konstanta; t_{st} – čas hlajenja inducirane radionuklida v delovni raztopini (standardu); $t(m)_{st}$ – čas merjenja γ aktivnosti inducirane radionuklida v delovni raztopini; t_x – čas hlajenja inducirane radionuklida v vzorcu; $t(m)_x$ – čas merjenja γ aktivnosti inducirane radionuklida v vzorcu

Najpomembnejša prednost INAA je ta, da je nedestruktivna metoda. Vzorci pred obsevanjem ali po njem niso podvrženi nobenim kemijskim postopkom, ki bi spremenili njihovo integriteto. Pred obsevanjem in merjenjem je treba zagotoviti homogenost vzorcev, da le-ti predstavljajo reprezentativni alikvot originalnega vzorca. INAA omogoča multielementno analizo.

Pomanjkljivost INAA je ta, da jo je mogoče uporabiti pri tistih vzorcih, ki že sami vsebujejo dovolj visoke koncentracije analita v vzorcu, da se lahko izognemo separiranju le-tega iz vzorca pred obsevanjem, hkrati pa vzorci ne smejo vsebovati izotopov, ki bi po obsevanju motili merjenje aktivnosti induciranih radionuklidov (motnje), saj bi bilo v nasprotnem primeru separiranje po obsevanju neizogibno. Torej določitev želenega analita in sestava vzorca narekujeta izbiro metode.

Poseben tip metode INAA je t. i. k_0 -INAA, ki je kombinacija relativne in absolutne metode in omogoča hkratno določitev večjega števila elementov ob uporabi samo enega standarda, to je komparatorja. Temelji na eksperimentalni določitvi t. i. k-faktorjev, to je razmerij med aktivnostjo elementa (merjenega nuklida v vzorcu), ki nas zanima, in izbranega komparatorja. Pri tem načinu sočasno obsevamo vzorec in komparator ter nato izmerimo njuni aktivnosti. Pri praktičnem delu lahko skupaj z vzorcem obsevamo še enega ali več monitorjev, ki jih uporabimo za določitev spektralnih parametrov (hitrost fluence nevtronov, gradient ...) obsevalnega kanala. Kot komparator praviloma uporabimo zlato, temu namenu pa lahko služi tudi kobalt in železo (Jaćimović, 2003).

Prednosti RNAA v primerjavi z INAA so v večji občutljivost in natančnosti, skoraj popolnoma pa se lahko izognemo negativnemu vplivu matrice oz. sestave vzorca na določitev želenega analita, tako da skrbno izberemo eksperimentalne pogoje, selektivno izoliramo želeni radionuklid z ustreznimi separacijami na osnovi obarjanja, prehlapitve, ionske izmenjave, ekstrakcije in destilacije. S temi postopki lahko znižamo mejo zaznavnosti določenega elementa (Stibilj, 1994).

Pomanjkljivost RNAA pa je v tem, da ni multielementna analizna metoda, ampak smo v večini primerov omejeni na en element, in da dalj časa ravnamo z aktivnim vzorcem.

2.3.2 Moteče jedrske reakcije pri NAA

Med obsevanjem vzorca lahko pride do motečih jedrskih reakcij. Ločimo med dvema tipoma motečih reakcij (Schmidt, 1998):

- Pri nukleogenih motečih jedrskih reakcijah se hčerinski radionuklid, ki ga merimo na γ detektorju in omogoča izračun koncentracije iskanega izotopa (elementa) v vzorcu, inducira tudi pa drugi poti, iz drugega starševskega nuklida. Pri NAA določimo nek element z merjenjem aktivnosti radionuklida, inducirane z jedrsko reakcijo (n, γ) . Enak reakcijski produkt pa dobimo tudi pri jedrski reakciji (n, p) elementa $Z + 1$ in (n, α) elementa $Z + 2$.
- Pri spektroskopskih motečih jedrskih reakcijah nastajajo radionuklidi, ki otežujejo meritev. Lahko vplivajo na ločljivost zaradi morebitnega prekrivanja γ črt, in/ali dvigujejo ozadje γ spektra zaradi prevelike aktivnosti. S tem vplivajo na mejo zaznavnosti metode in povzročajo spektroskopske motnje. Spektroskopske motnje povzročajo predvsem ^{81}Br , ^{23}Na in ^{41}K , ker se v razmeroma velikem deležu nahajajo v naravi, predvsem pa imajo velik absorpcijsko presek za termične nevtrone (preglednica 1).

Preglednica 1. Jedrske reakcije, ki povzročajo spektroskopske motnje pri NAA**Table 1.** Nuclear reactions, that cause that cause spectroscopic interferences at NAA

Jedrska reakcija	Delež v naravi (%)	σ (barn)	$T_{1/2}$ (h)	I (%)	E_γ (keV)
$^{81}\text{Br}(n, \gamma)^{82}\text{Br}$	49,31	2,70	35,28	71,1	554,3
$^{23}\text{Na}(n, \gamma)^{24}\text{Na}$	100	3,03	14,95	100,0	1368,6
$^{41}\text{K}(n, \gamma)^{42}\text{K}$	6,73	1,46	12,32	18,1	1524,6

σ ...aktivacijski presek izotopa za zajetje termičnih oz. hitrih nevtronov (Erdtmann, 1976; IAEA, 2006)

$T_{1/2}$...razpolovni čas inducirane radionuklida

I...intenziteta γ črte pri energiji E_γ

E_γ ...energija γ črte

2.3.3 Detektorji za γ sevanje

Detektorji γ sevanja temeljijo na interakcijah γ žarkov s snovjo. Gama sevanje zajema energijsko območje od 10 keV do 10^4 keV. Najpomembnejše interakcije γ sevanja s snovjo so (Ehmann in Vance, 1991):

- Fotoelektrični pojav:

Foton zadene elektron v atomu snovi in mu preda svojo celotno energijo. Del energije porabi elektron za izstopno delo, da se odtrga od atoma, in postane prost s kinetično energijo, ki je enaka energiji fotona, zmanjšani za izstopno delo.

Pride torej do absorpcije vpadnega fotona, njegova energija pa se pretvori v drugo obliko – kinetično in potencialno energijo elektrona. Ta učinek prevladuje pri energijah γ sevanja pod 1 MeV.

- Comptonso sipanje:

Foton zadene elektron, del energije vpadnega fotona prejme elektron in se odtrga iz atoma, ostanek energije prevzame novo nastali foton. Prosti elektron in novo nastali foton odletita pod določenima kotoma glede na smer vpadnega fotona v skladu z zakonom o ohranitvi gibalne količine.

Gre za neprožno sipanje fotonov na elektronih atoma. Energije sipanih fotonov so nižje od energij vpadnih fotonov (daljše valovne dolžine – sprememba frekvence valovanja), atomi, na katerih so se sipali, pa ostanejo vzbujeni ali ionizirani – comptonski pojav. Ta pojav prevladuje pri energijah γ sevanja okrog 1 MeV.

- Tvorba parov:

V bližini jedra atoma foton izgine, pojavita pa se prosti elektron in prosti pozitron (elektronski par). Za nastanek para se porabi 1,02 MeV fotonske energije, ostanek energije si porazdelita elektron in pozitron v skladu z načelom o ohranitvi energije in gibalne količine. Torej pride do tvorbe para šele pri energijah γ sevanja nad 1,02 MeV, prevladuje pa pri energijah nad 5 MeV.

- Fotoelektrični pojav v jedru atoma:

Do tega pojava pride pri energijah γ sevanja nad 8 MeV. Foton ima tolikšno energijo, da zadene jedro atoma in izbije nevtron ali proton ali celo α delec.

Hkrati imamo več pojavov interakcije γ sevanja s snovjo, vendar določen pojav prevladuje; kateri pojav prevladuje, je odvisno od energije žarkov γ in od vrste snovi. Za merjenje – detekcijo γ sevanja uporabljamo dve vrsti detektorjev; scintilacijski in polprevodniški detektor. Detektorji morajo biti zaščiteni pred kozmičnim sevanjem, pred naravnim sevanjem iz okolice in sevanjem materialov, ki jih uporabljamo v laboratoriju.

2.3.3.1 Scintilacijski detektor

Aktivni del scintelacijskega detektorja je kristal NaI(Tl) (anorganski scintilacijski detektor), ki je v skupnem ohišju s fotopomnoževalko. Tl služi kot aktivator scintilacijskega procesa. V kristalu, imenovanem scintilator, prehod sevanja povzroči ionizacijo zaradi interakcije γ sevanja s scintilacijskim materialom. V kristalni mreži NaI(Tl) pride do dviga elektronov na energijsko višji nivo – iz valenčnega v prevodni pas. Elektroni pri prehodu v osnovno stanje oddajajo svetlobo. Svetloba (fotoni) grejo skozi svetlobni vodnik in nato v fotopomnoževalko, kjer se signal ojača in pretvori v električni signal. NaI(Tl) scintilacijski detektorji imajo dober izkoristek, vendar slabo ločljivost (slika 4; Ehmann in Vance, 1991).

Scintilacijski detektor omogoča tudi detekcijo α in β sevanja, vendar je v tem primeru scintilacijski material organski (antracen in stilben). Elektronski prehodi potekajo v Π elektronskem sistemu in ne med energijskimi nivoji v kristalni mreži. Tekočinska scintilacija se uporablja za določanje tritija ^3H in ogljika ^{14}C . Pri tekočinski scintilaciji uporabljamo scintilacijski koktajl, ki je sestavljen iz topila, raztopljenega vzorca in scintilacijskega materiala. Ionizirajoči delec iz vzorca prenese energijo topilu, ta prenese energijo naprej scintilatorju, vzbujene molekule scintilatorja se nato relaksirajo z oddajanjem fotonov, zaznamo pa jih s fotopomnoževalko (Ehmann in Vance, 1991).

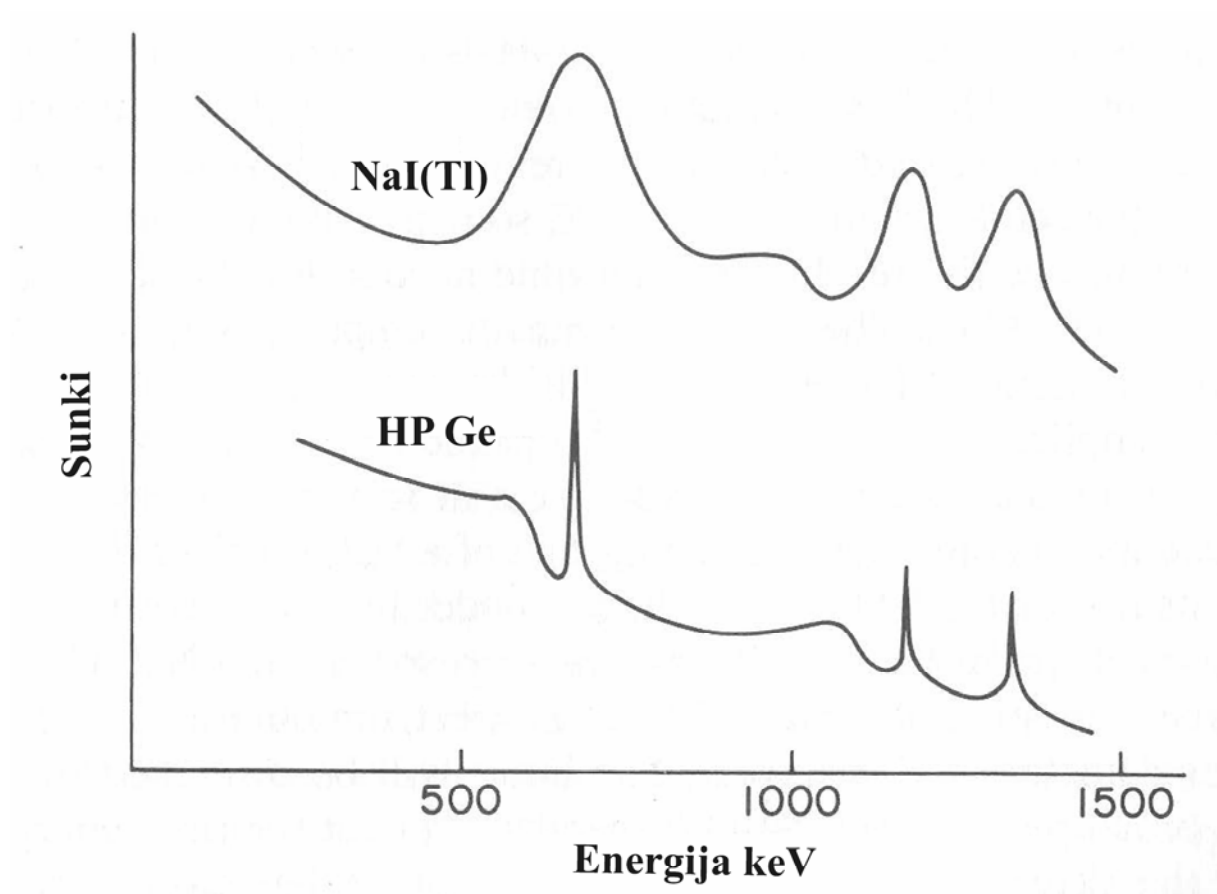
2.3.3.2 Polprevodniški detektor

Glavni del detektorja je polprevodniški kristal. Lahko je iz germanija ali silicija, ki mu je dodan litij, polprevodniški detektor Ge(Li) in Si(Li), ali pa je samo iz germanija visoke čistoče, detektor HPGe. Polprevodniški kristal mora biti ohlajen, zato je nameščen v kriostatski posodi, v kateri je tekoči dušik ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$). Glede na obliko kristala ločimo koaksialni detektor, planarni detektor in detektor z utorom. Ostale komponente detektorskega sistema so še enokanalni analizator višine pulza z diskriminatorjem ali večkanalni analizator

višine pulza z analogno–digitalnim pretvornikom, visokonapetostni napajalnik in predojačevalnik (Ehmann in Vance, 1991).

Pri prehodu γ sevanja (fotonov) skozi polprevodniški material (kristal) pride do ionizacije in izbitja elektrona, ki na svoji poti tako dolgo ustvarja pare elektron-praznina, dokler ne odda vse svoje energije. Torej je število nastalih parov elektron-praznina odvisno od energije absorbiranega γ sevanja. Polprevodnik je pod visoko napetostjo, priključen na visokonapetostni napajalnik, zaradi česar pride do ločitve nastalih parov elektron-praznina po naboju. Zberejo se na elektrodah, kjer jih zaznamo kot signal–impulz (Ehmann in Vance, 1991).

Izkoristek polprevodniških detektorjev je v primerjavi s scintilacijskim anorganskim detektorjem, NaI(Tl), manjši, vendar je ločljivost dosti boljša (slika 4). Ločljivost detektorja je merilo širine na polovični višini vrha (FWHM) pri določeni energiji. Boljša ločljivost omogoča boljše separiranje vrhov v spektru (Ehmann in Vance, 1991).



Slika 4. Primerjava γ spektrov za vir ^{60}Co in ^{137}Cs , pridobljenih na scintilacijskem detektorju NaI(Tl) in polprevodniškem detektorju HPGe detektorju (Ehmann in Vance, 1991)

Figure 4. Comparison of γ spectra for source of ^{60}Co and ^{137}Cs obtained on NaI(Tl) scintillation detector and on semiconductor HPGe detector

2.3.4 Določitev kemijskega izkoristka pri RNAA

Prednost RNAA pred drugimi metodami je tudi možnost določitve kemijskega izkoristka celotnega postopka. Za določitev kemijskega izkoristka pri metodi RNAA uporabljamo nosilce in radioaktivne sledilce–indikatorje (Stibilj, 1994):

- Nosilci:

Kadar določamo element v sledovih, to je pri zelo nizkih koncentracijah elementa v raztopini, so prisotne nespecifične reakcije. Lahko pride do njegovih izgub zaradi koprecipitacije, adsorpcije na stene posode, okluzije in drugih pojavov. Z dodatkom neaktivne oblike elementa, to je nosilca, pri RNAA preprečimo izgubo analiziranega elementa ter zagotovimo ponovljive kemijske razmere. Radionuklid in nosilec morata biti navzoča v enaki kemijski obliki in oksidacijski stopnji. V primeru, da radionuklid in nosilec nimata enake kemijske oblike in valenčne stopnje, ju z ustreznimi reakcijami oksidacije in redukcije pretvorimo v enako obliko.

- Radioaktivni indikatorji – sledilci:

Radioaktivnost je lastnost jedra in je neodvisna od kemijske oblike in vezave atoma. Izotopi istega elementa imajo isto vrstno in različno masno število, zato imajo enake kemijske lastnosti. To lastnost izkoriščamo pri analizi z radioaktivnimi indikatorji pod pogojem, da je v enaki kemijski obliki kot stabilni izotop elementa, ki ga določamo.

Načini določanja izkoristka radioaktivnega separiranja:

- Predhodno, z induciranim radionuklidom, ki ga dodamo neaktivnemu vzorcu:

V primeru, da za želeni analit nimamo na voljo radioaktivnega sledilca, določimo izkoristek predhodno, in sicer tako, da induciramo želeni nuklid, ga dodamo neaktivnemu vzorcu in izvedemo separiranje. Pri tem načinu predpostavljamo, da so napake oz. izgube pri določitvi elementa iz vzorca konstantne in neodvisne od njegove narave. Uporabljamo

ga takrat, kadar nimamo drugih možnosti, saj izkoristek metode, predhodno določen z radioaktivnim sledilcem, posplošimo na vse vzorce.

- Radioaktivni sledilec:

Zelo ustrezno je, če lahko kemijski izkoristek določimo za vsak alikvot vzorca posebej, ko sočasno merimo aktivnost izoliranega inducirane radionuklida in radioaktivnega sledilca. V tem primeru mora radioaktivni sledilec izpolnjevati določene pogoje: imeti mora visoko specifično aktivnost, ustrezen razpolovni čas ter γ fotovrhove pri drugih energijah kot izolirani inducirani radionuklid. Radioaktivni sledilci s kratkim razpolovnim časom niso primerni, ker lahko razpadejo že med analizo. Pri tistih z dolgim razpolovnim časom pa je zato, da dosežemo primerno aktivnosti, potrebna večja masa.

Nekateri elementi nimajo izotopov, ki bi omogočali tak način določitve izkoristka z uporabo radioaktivnih sledilcev. V teh primerih uporabimo nosilec, ki ga dodamo po obsevanju in pred radiokemijskim separiranjem inducirane radionuklida želenega analita. Omogoča nam določitev kemijskega izkoristka celotnega radiokemijskega separiranja inducirane radionuklida za vsak alikvot vzorca posebej.

- Nosilec (prispevek inducirane radionuklida iz vzorca je zanemarljiv):

Kemijski izkoristek lahko določimo z reaktivacijo; po merjenju γ aktivnosti inducirane izoliranega radionuklida iz obsevanega vzorca raztopino ponovno obsevamo in izmerimo γ aktivnost nastalega radionuklida analiziranega elementa iz dodanega nosilca, pri tem pa je prispevek inducirane radionuklida iz vzorca zanemarljiv.

- Nosilec (prispevek elementa iz vzorca je zanemarljiv):

Uporaba nosilca nam omogoča določitev kemijskega izkoristka tudi z drugimi metodami, kot sta gravimetrija in spektrofotometrija. Natančno moramo poznati njegovo maso, ki mora biti tako velika, da je prispevek elementa iz vzorca zanemarljiv.

2.4 METODE DOLOČANJA ^{129}I

^{129}I se v okolju pojavlja skupaj s stabilnim jodom ^{127}I , saj so njune kemijske lastnosti enake. Zaradi tega pri določanju vsebnosti ^{129}I v okoljskih vzorcih uporabljamo analizne metode, ki omogočajo določitev (razlikovanje) posameznih izotopov nekega elementa. To omogočajo metode, ki temeljijo na masni spektrometriji (MS) in nevtronski aktivaciji atomskih jeder (NAA).

V okoljskih vzorcih so prvič uspeli določiti ^{129}I v šestdesetih letih prejšnjega stoletja s pomočjo radiokemijske nevtronske aktivacijske analize (RNAA). To je bila skoraj dve desetletji do razvoja pospeševalne masne spektrometrije (Accelerator Mass Spectrometry, AMS) edina metoda, ki omogoča določitev ^{129}I v okoljskih vzorcih (Studier in sod., 1962).

AMS za določevanje ^{129}I uporabljamo od leta 1980 (Elmore in sod., 1980). S pomočjo te metode je bilo izmerjeno tudi naravno izotopsko razmerje, saj je meja določitve metode, izražena kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$, pod 10^{-13} (Szidat in sod., 2000a).

AMS je zahtevna in dokaj draga analizna metoda. Omogoča določitev izotopskega razmerja, to je $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$, ne pa koncentracije posameznega izotopa. Potrebna je dodatna analizna metoda za določitev ^{127}I . Največkrat uporabljamo masno spektrometrijo z induktivno sklopljeno plazmo (ICP-MS) ali ionsko kromatografijo (IC).

Določitev ^{129}I je mogoča tudi z drugimi instrumentalnimi analitskimi tehnikami, kot so masna spektrometrija z lasersko resonančno ionizacijo (RIMS), masna spektrometrija z induktivno sklopljeno plazmo (ICP-MS), masna spektrometrija z negativno termično ionizacijo (NTIMS) ter direktna γ in β spektrometrija. Tem metodam je skupno to, da niso primerne za določanje ^{129}I v okoljskih vzorcih oz. so primerne za vzorce s povišano vsebnostjo ^{129}I (okolica predelovalnih obratov), saj je meja zaznavnosti teh metod, izražena kot izotopsko razmerje, 10^{-6} – 10^{-8} (Schmidt, 1998).

2.4.1 INAA

Parry (2001) je pri določanju ^{129}I v vzorcu zraka iz bližnje okolice obrata, kjer predelujejo jedrsko gorivo, uporabil INAA. ^{129}I je iz zraka adsorbiral na aktivno oglje (1 g) ter analiziral alikvot dobljenega vzorca. Aktivno oglje z adsorbiranim jodom je homogeniziral, zatalil v polietilenski ampuli ter ga sočasno s pripravljeno delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ 25 min obseval pri fluenci termičnih nevtronov $2,3 \cdot 10^{16} \text{ n}\cdot\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in fluenci hitrih nevtronov $1,4 \cdot 10^{14} \text{ n}\cdot\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Po 15 minutah hlajenja je izmeril aktivnost metastabilnega $^{130\text{m}}\text{I}$ ($T_{1/2} = 9 \text{ min}$, $E_{\gamma} = 536,1 \text{ keV}$), inducirane z jedrsko reakcijo $^{129}\text{I}(\text{n}, \gamma)^{130\text{m}}\text{I}$; čas merjenja je bil 25 minut in meja zaznavnosti metode $3 \cdot 10^{-2} \mu\text{g g}^{-1}$. Vzorec je nato hladil nadaljnjih 12 ur ter izmeril še aktivnost ^{130}I ($T_{1/2} = 12,36 \text{ h}$, $E_{\gamma} = 536,1 \text{ keV}$); čas merjenja je bil 3 ure in meja zaznavnosti metode $2 \cdot 10^{-2} \mu\text{g g}^{-1}$.

2.4.2 RNAA

RNAA je radiokemijska metoda analize, ki je dovolj občutljiva, da omogoča analizo ^{129}I v okoljskih vzorcih. Meja zaznavnosti RNAA, izražena kot izotopsko razmerje, je 10^{-10} (Schmidt, 1998). Določanje ^{129}I z RNAA vključuje štiri stopnje:

- V prvi stopnji potече separiranje oz. izoliranje joda iz vzorca (matrice), da bi dosegli dovolj veliko koncentracijo ^{129}I glede na dosegljivo občutljivost metode.
- V drugi stopnji poteka obsevanje vzorca in uporabljenih standardov, ki vsebujejo tako ^{129}I kakor tudi stabilni jod ^{127}I , v reaktorju. Pri obsevanju potече jedrska reakcija s termičnimi nevtroni $^{129}\text{I}(\text{n}, \gamma)^{130}\text{I}$ ($T_{1/2} = 12,36 \text{ h}$, $E_{\gamma} = 536,1 \text{ keV}$) in s hitrimi nevtroni $^{127}\text{I}(\text{n}, 2\text{n})^{126}\text{I}$ ($T_{1/2} = 12,93 \text{ dni}$, $E_{\gamma} = 388,6 \text{ keV}$).
- V tretji stopnji potече radiokemijsko separiranje joda po obsevanju, to je odstranitev izotopov, ki motijo merjenje ključnih induciranih nuklidov; največji problem predstavlja brom oziroma njegov radionuklid ^{82}Br , ki nastane med obsevanjem vzorcev

z (n, γ) reakcijo $^{81}\text{Br}(n, \gamma)^{82}\text{Br}$. V okolju je broma bistveno več kot joda, ker imata podobne kemijske lastnosti pa sta praviloma oba elementa hkrati prisotna tudi v enakih vzorcih. ^{82}Br dviguje ozadje γ spektra zaradi Comptonovega sipanja ter ima dolg razpolovni čas (35,3 h), zato ni mogoče, da bi njegov vpliv zmanjšali s podaljšanjem hlajenja, saj bi nam v tem času jodovi izotopi razpadli – separiranje moramo voditi tako, da od matrice izoliramo jod.

- V zadnji četrti, stopnji poteka meritev aktivnosti induciranega nuklida ^{130}I in ^{126}I na γ detektorju (najpogostejše detektor HPGe).

2.4.2.1 Separiranje ^{129}I iz vzorca

Za separiranje oz. izoliranje joda iz vzorca pred obsevanjem so na voljo številne separacijske tehnike. Izbira je odvisna od kemijskih lastnosti elementa in od narave vzorca oz. matrice, narekujejo pa jo tudi lastnosti joda kot takega, predvsem njegova hlapnost.

Glavi namen separiranja ^{129}I iz vzorca je njegovo koncentriranje. Potrebne so velike mase vzorca, da se izolira dovolj ^{129}I . Pri določanju ^{129}I v vzorcih tal je tako potrebno tudi do 70 g vzorca, 7 g rastlinskega materiala (trava, listje) ter 3 g biološkega vzorca (ščitnica) (Schmidt in sod., 1998).

Velikokrat uporabljena separacijska metoda pred obsevanjem je sežig v toku kisika in dušika, ki zagotavljata dovolj visoke temperature, potrebne za popoln sežig vzorca. To metodo uporabljamo za vzorce, ki so pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju – tla, rastline in biološki material – ščitnice (Schmidt in sod., 1998; Szidat in sod., 2000b).

Hou in sod. (1999) so za separiranje joda iz rastlinskega materiala (morske alge in trava) ter tal uporabili razkroj vzorca v alkalni talini s KOH. V nikljevih lončkih so razkrojili 40 g rastlinskega materiala ter 3–5 g tal. Za razkroj so k rastlinskemu materialu dodali 160 mL raztopine KOH s koncentracijo 1 mol L^{-1} ter k tlom 10 g KOH in 3–4 mL vode. Vzorec so

najprej 48 ur sušili pri 70–80 °C, nato so ga v žarilni peči postopoma segreli do 600 °C ter to temperaturo vzdrževali 2 uri. Po ohladitvi razkrojenega vzorca so jod izlužili z vročo destilirano vodo, dodali 2 mL KHSO_3 (0,3 mol L^{-1}) ter raztopino razkrojenega vzorca nevtralizirali s HNO_3 . Jodid so nato oksidirali z NaNO_2 (0,5 mol L^{-1}) ter ga ekstrahirali v CCl_4 . Sledila je redukcija joda z raztopino H_2SO_3 (10–20 mL, 0,02 mol L^{-1}), nato so dodali raztopino LiOH (0,3 %) in MgO ter večino vode odparili na grelni plošči. Preostanek raztopine (0,5 mL) so prenesli v kvarčno ampulo ter jo posušili pri 70–80 °C.

Quintana in Thyssen (2000) sta za razgradnjo smrekovih iglic uporabila razkroj v alkalni talini. V nikljev lonček sta dala smrekove iglice in KOH v razmerju 1 : 2 ter 96 % etanol v razmerju 1 : 1. Na grelni plošči sta vzorec posušila pri 400 °C, nato sta ga v žarilni peči segreli do 600 °C in to temperaturo vzdrževala 6 ur. Po končanem razkroju sta jod izlužila z destilirano vodo, raztopino vzorca nevtralizirala s HNO_3 , dodala nosilec (KI , 2 mg) in 2–3 mL KNO_2 (0,5 mol L^{-1}) ter izvedla destilacijo joda, ki je trajala 2 uri. Jod sta absorbirala v raztopini K_2SO_3 (0,2 %) in reducirani jodid oksidirala s koncentrirano HNO_3 in raztopino KNO_2 (0,5 mol L^{-1}) ter jod ekstrahirala v CCl_4 . Sledila je redukcija joda s K_2SO_3 ter ponovna destilacija jodida iz vodne faze. Jodid sta oksidirala z dodano koncentrirano H_2SO_4 in H_2O_2 (kot katalizator reakcije sta dodala amonijev molibdat) ter jod adsorbirala na aktivnem oglju.

Za vzorce, ki so pri sobni temperaturi v tekočem (voda, padavine, mleko) agregatnem stanju, je primerna ionska kromatografija oz. ionska izmenjava z ionskim izmenjevalcem, kot je npr. BioRad AG 1-X8 (Parry in sod., 1995; Simpson in sod., 2001; Hou in sod., 2002). Za adsorpcijo joda iz zraka (atmosferaški vzorci) uporabimo aktivno oglje, s katerega se jod eluira s KOH in etanolom, nato sledi ionska kromatografija (Parry, 2001).

2.4.2.2 Indukcija radionuklidov

Množino oz. koncentracijo ^{129}I največkrat izražamo kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$. Zato moramo v vzorcu določiti oba izotopa joda in RNAA omogoča sočasno določitev obeh z eno

meritvijo. Za aktiviranje ^{127}I in ^{129}I lahko uporabimo jedrske reakcije, ki so predstavljene v preglednici 2.

Preglednica 2. Jedrske reakcije, ki omogočajo določitev ^{129}I in ^{127}I z NAA, inducirane s termičnimi ali hitrimi nevtroni

Table 2. Nuclear reactions, that enable the determination of ^{129}I and ^{127}I with NAA, induced via thermal or fast neutrons

Jedrska reakcija	Tip nevtronov	σ (barn)	$T_{1/2}$	I (%)	E_γ (keV)
$^{127}\text{I}(n, 2n)^{126}\text{I}$	hitri	0,9	13,02 dni	34,1	388,6
$^{127}\text{I}(n, \gamma)^{128}\text{I}$	termični	6,2	24,99 min	16,9	442,9
$^{129}\text{I}(n, \gamma)^{130}\text{I}$	termični	9	12,36 h	99,0	536,1

σ ...aktivacijski presek izotopa za zajetje termičnih oz. hitrih nevtronov (Erdtmann, 1976; IAEA, 2006)

$T_{1/2}$...razpolovni čas induiranega radionuklida

I...intenziteta γ črte pri energiji E_γ

E_γ ...energija γ črte

Med obsevanjem vzorca za določitev ^{129}I z indukcijo s termičnimi nevtroni $^{129}\text{I}(n, \gamma)^{130}\text{I}$ lahko pride do indukcije nukleogenih motečih jedrskih reakcij. Pri teh se hčerinski radionuklid, ki ga merimo na γ detektorju in omogoča izračun koncentracije iskanega izotopa (elementa) v vzorcu, inducira tudi pa drugi poti, iz drugega starševskega nuklida (enačbe 7–9):



Pri določanju ^{127}I v literaturi zasledimo dve možnosti. Prva vključuje uporabo termičnih nevtronov (Hou in sod., 2001), druga pa jedrsko reakcijo, inducirano s hitrimi nevtroni (preglednica 2). Največkrat uporabljamo slednjo, zaradi daljšega razpolovnega časa nastalega

radionuklida (^{126}I), ki omogoča tudi dolgotrajnejše separiranje po obsevanju in boljše statistiko štetja (Hou in sod., 2002 in 2003a)

2.4.2.3 Separiranje po obsevanju

Po obsevanju sledi separiranje oz. izoliranje joda od ostalih radionuklidov, ki bi motili merjenje. Ta postopek je odvisen od tega, v kakšnem agregatnem stanju (obliki) je vzorec, kajti le-to narekuje postopek separiranja vzorca.

Na splošno velja, da pri trdnih vzorcih izvedemo najprej kontroliran sežig pod definiranimi pogoji in nastali jod absorbiramo v reducirajoči raztopini. Pri raztopinah (tekočih vzorcih) tega koraka ni, vendar je pomembno, da z danimi reducenti preprečimo oksidacijo in s tem izgube joda.

Za ekstrakcijo joda iz vodnih raztopin uporabljamo obarjanje z AgNO_3 ali PdCl_2 , prehlapitev ali destilacijo, ki jima sledi adsorpcija joda na adsorbent, kot je aktivno oglje, ali v kriostatsko posodo, ionska izmenjava ter solventna ekstrakcija v halogenirane alkane. To so organska topila, praviloma CCl_4 ; ker je le-ta kancerogen, v zadnjem času uporabljamo CHCl_3 .

Hou in sod. (1999) so izvedli ekstrakcijo joda iz raztopine po obsevanju s CCl_4 . Brom so odstranili tako, da so izvedli redukcijo organske faze s KHSO_3 . K vodni raztopini jodida so dodali paladijev klorid PdCl_2 , ki je kvantitativno oboril jodid (PdI_2), temu sta sledila filtracija in merjenje aktivnosti nastale oborine.

Simpson in sod. (2001) so določili vsebnost ^{129}I in ^{127}I v vzorcu mleka. Separiranje joda pred obsevanjem so izvedli z ionsko izmenjavo in uporabili anionski izmenjevalec BioRad AG 1-X8. Ionski izmenjevalec z adsorbiranim jodom so obsevali v reaktorju in po obsevanju inducirane radionuklide joda eluirali. Ionska izmenjava traja dlje časa kot ekstrakcija z organskimi topili, zato je primerna takrat, kadar metoda vključuje merjenje inducirane ^{126}I ,

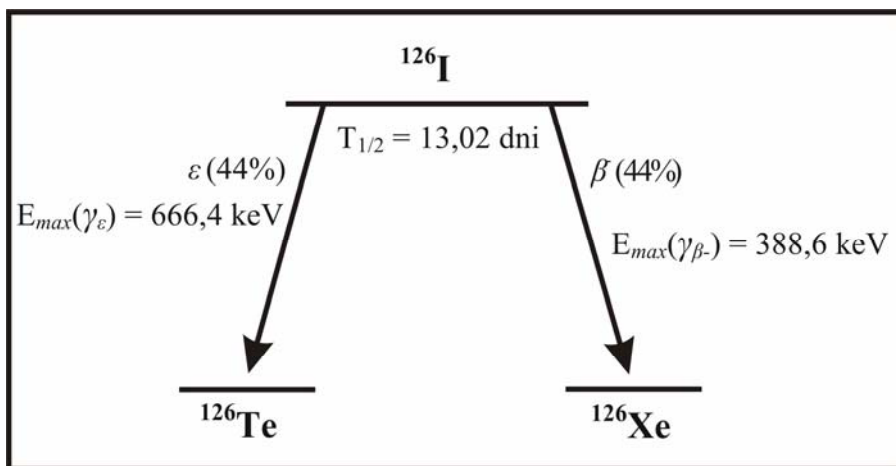
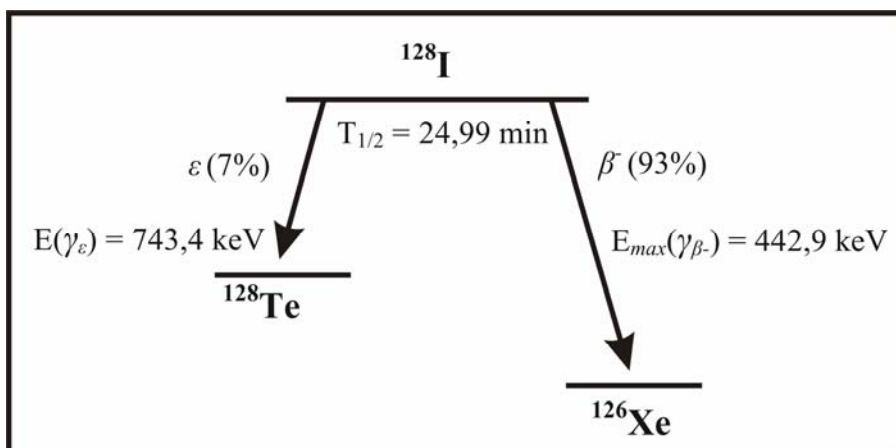
ki nastane po jedrski reakciji $^{127}\text{I}(n, 2n)^{126}\text{I}$, saj je razpolovni čas ^{126}I 13 dni. Kot mobilno fazo so uporabili raztopino NaNO_3 , ki prednostno eluira brom. Eksperimentalno so določili, da se le-ta eluira predvsem v prvih 70 mL, ki so jih zavrgli, naslednjih 150 mL pa so zbrali ter dodali NH_4Br , NH_4OH in AgNO_3 – precipitacija (obarjanje) jodida – aktivnost oborine so izmerili po filtriranju.

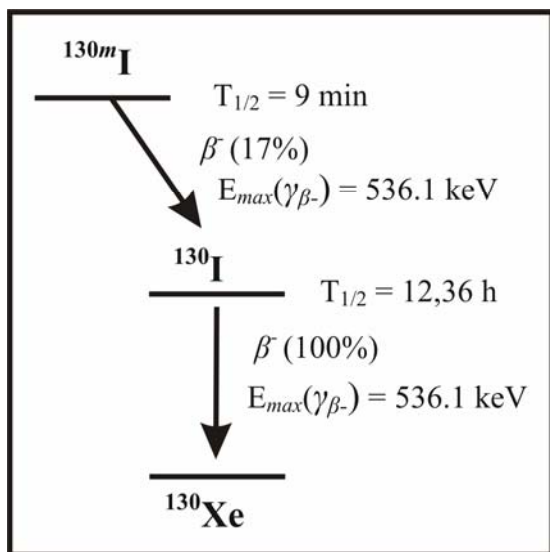
Parry in sod. (1995) so določali ^{129}I v mleku. Jod so pred obsevanjem separirali iz mleka z ionsko izmenjavo in obsevali ionski izmenjevalec z adsorbiranim jodom. Po obsevanju so jod eluirali z ionskega izmenjevalca z NaNO_3 . Iz frakcije so jodid precipitirali z AgNO_3 , pri čemer nastane AgI .

Quintana in Thyssen (2000) sta določala vsebnost ^{129}I v smrekovih iglicah. Separiranje joda pred obsevanjem sta izvedla z dvema zaporednima destilacijama z vmesno solventno ekstrakcijo s CCl_4 ter jod adsorbirala na aktivno oglje. Po obsevanju sta jod z aktivnega oglja desorbirala z destilacijo ter ga absorbirala v raztopini K_2SO_3 . Sledila je oksidacija jodida s HNO_3 in KNO_2 ter ekstrakcija v CCl_4 . Jod sta reducirala z raztopino K_2SO_3 ter izvedla ponovno reekstrakcijo.

2.4.2.4 Merjenje aktivnosti vzorcev in delovnih raztopin (standardov)

Aktivnost vzorcev oz. standardov najpogosteje merimo na Ge-detektorju visoke čistoče. Za ^{126}I , ^{128}I in ^{130}I so značilni beta razpadi (β^- in β^+) in zajetje elektrona z emisijo pozitrona (ϵ) (slike 5–7), samo transformacijo pa spremlja sevanje gama oz. prihaja pri relaksaciji jedra do sproščanja fotonov.

Slika 5. Razpadna shema ^{126}I (Browne in Firestone, 1986)Figure 5. Decay scheme of ^{126}I Slika 6. Razpadna shema ^{128}I (Browne in Firestone, 1986)Figure 6. Decay scheme of ^{128}I



Slika 7. Razpadna shema ^{130}I (Browne in Firestone, 1986)

Figure 7. Decay scheme of ^{130}I

2.4.2.5 Določitev kemijskega izkoristka celotnega postopka

Hou in sod. (1999) so za separiranje joda iz trdnih vzorcev pred obsevanjem uporabili razkroj v alkalni talini, za določitev skupnega kemijskega izkoristka separiranja joda uporabili ^{125}I sledilec. Pri rastlinskem materialu so za travo dosegli kemijske izkoristke za celotno metodo v območju od 60 do 65 % ter za morske alge v območju od 85 – 97,5 %. Pri vzorcih tal so bili kemijski izkoristki celotne metode med 70 in 79 %.

Simpson in sod. (2001) so kemijski izkoristek separiranja joda z ionsko kromatografijo določali gravimetrično z AgNO_3 . Kemijski izkoristki pa so bili zelo nizki, saj je bil povprečni kemijski izkoristek 40 % v območju od 25 do 52 %.

Parry in sod. (1995) so joda iz mleka separirali z uporabo ionske izmenjave. Učinkovitost separiranja so določili tako, da so k vzorcu dodali znano maso stabilnega joda in izkoristek določili gravimetrično (tehtanje oborine AgI) ter z določitvijo aktivnosti joda inducirane z

jedrsko reakcijo $^{127}\text{I}(n,\gamma)^{128}\text{I}$. Ugotovili so, da so bili izkoristki, določeni z merjenjem aktivnosti ^{128}I bolj zanesljivi. Bili se v območju med 60 in 65 %. Vsebnost stabilnega joda v mleku niso določali, ampak so z reaktivacijo oborine AgI določili izkoristek separiranja ^{129}I z jedrsko reakcijo $^{127}\text{I}(n,\gamma)^{128}\text{I}$ in jo primerjali z jedrsko reakcijo $^{127}\text{I}(n,2n)^{126}\text{I}$.

Quintana in Thyssen (2000) sta uporabila ^{131}I kot sledilec za določitev kemijskega izkoristka separiranja joda, ko sta določala vsebnost ^{129}I v smrekovih iglicah. Navajata, da so bili kemijski izkoristki celotne metode v območju med 70 in 85 %. Pri določitve kemijskega izkoristka sta upoštevala prispevek urana k nastanku ^{131}I , kateri je induciran z jedrsko reakcijo $^{235}\text{U}(n,f)^{131}\text{I}$.

2.4.3 Direktno merjenje aktivnosti ^{129}I

Zaradi dolge razpolovne dobe ($1,57 \cdot 10^7$ let) ima ^{129}I majhno specifično aktivnost. Direktno merjenje β in γ sevanja je možno samo pri vzorcih z visoko vsebnostjo ^{129}I . Meja zaznavnosti direktne γ -X spektrometrije, pri čemer merimo sunke fotonov (γ sevanje) sproščene ob razpadu ^{129}I pri 39,58 keV je $0,5 \text{ Bq kg}^{-1}$ (Fréchou in sod., 2001).

Pri direktnem merjenju aktivnosti ^{129}I v vzorcu brez vsakršne obdelave vzorca pred merjenjem intenzitete izsevanih γ žarkov je vpliv sipanja žarkov in gostote vzorca na rezultat meritve precejšen. Treba je opraviti presevalne teste in izračunati ustrezne faktorje sipanja, ki so pogojeni z gostoto vzorca in elementi ter spojinami, ki so prisotni v samem vzorcu (Lefèvre in sod., 2003).

Fréchou in sod. (2001, 2003a in 2003b) so z uporabo direktne γ -X spektrometrije določili vsebnost ^{129}I v vzorcih številnih vrst morskih alg, ki uspevajo v neposredni bližini obrata za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva (La Hague, Francija) in vzdolž kanala, ki ločuje

Francijo in Anglijo. Določili so izotopske deleže $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v območju med 10^{-6} in 10^{-5} , kar je do sedem velikostnih razredov več od naravnega izotopskega razmerja, $1,5 \cdot 10^{-12}$.

Szanto in sod. (2001) so predstavili metodo za merjenje ^{129}I v radioaktivnih odpadkih nizke aktivnosti. Pri tej metodi so skušali po separiranju ^{129}I izmeriti njegovo aktivnost oz. njegove karakteristične $K\alpha$ γ -žarke pri 29,8 keV, ki se sproščajo zaradi relaksacije radionuklida ob razpadu v ksenon. ^{129}I so kvantitativno oborili z AgNO_3 (nastane AgI) in dosegli kemijske izkoristke od 45 do 60 %. Izmerili so aktivnost ^{129}I v vzorcu, standardu ter slepem vzorcu. Sama meritev je potekala teden dni, pri čemer so izmerili štiristo sunkov.

Duffa in Fréchou (2003) sta z direktnim merjenjem γ sevanja določala ^{129}I v rastlinskih vzorcih. Vzorce sta najprej posušila pri 80 °C, nato sta jih zmlela in prenesla v cilindrične posode, velike 17, 60, 200 ali 380 mL, saj je od predvidene vsebnosti ^{129}I v vzorcu odvisna tudi masa potrebnega vzorca. Stabilni jod sta določila z ionsko kromatografijo, potem ko sta v Schönigerjevi bučki sežgala posušene, zmlete vzorce.

2.5 CILJ RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE

Podatki iz literature kažejo, da se množine ^{129}I povečujejo, predvsem na severni zemeljski polobli. Ker bodo v prihodnjih desetletjih nekatere jedrske elektrarne zaprli, se bo množina ^{129}I zaradi predelave velike množine reaktorskega goriva še povečevala. Za številna območja, tudi za Slovenijo in njeno bližnjo okolico, ni podatkov o razširjenosti ^{129}I v okolju, ki je zaradi izjemno dolge razpolovne dobe zanimiv tudi kot okoljski sledilec spremljanja kroženja joda in širjenja radioaktivnega onesnaženja.

Namen dela je razviti in izboljšati metodo RNAA, ki bo omogočala določanje ^{129}I v okoljskih vzorcih. Tako bo mogoče izvesti pregled porazdelitve ^{129}I v posameznih oddelkih ekosistema na območju Slovenije in proučiti privzem jodovih izotopov v biološkem okolju na modelu kvasovk.

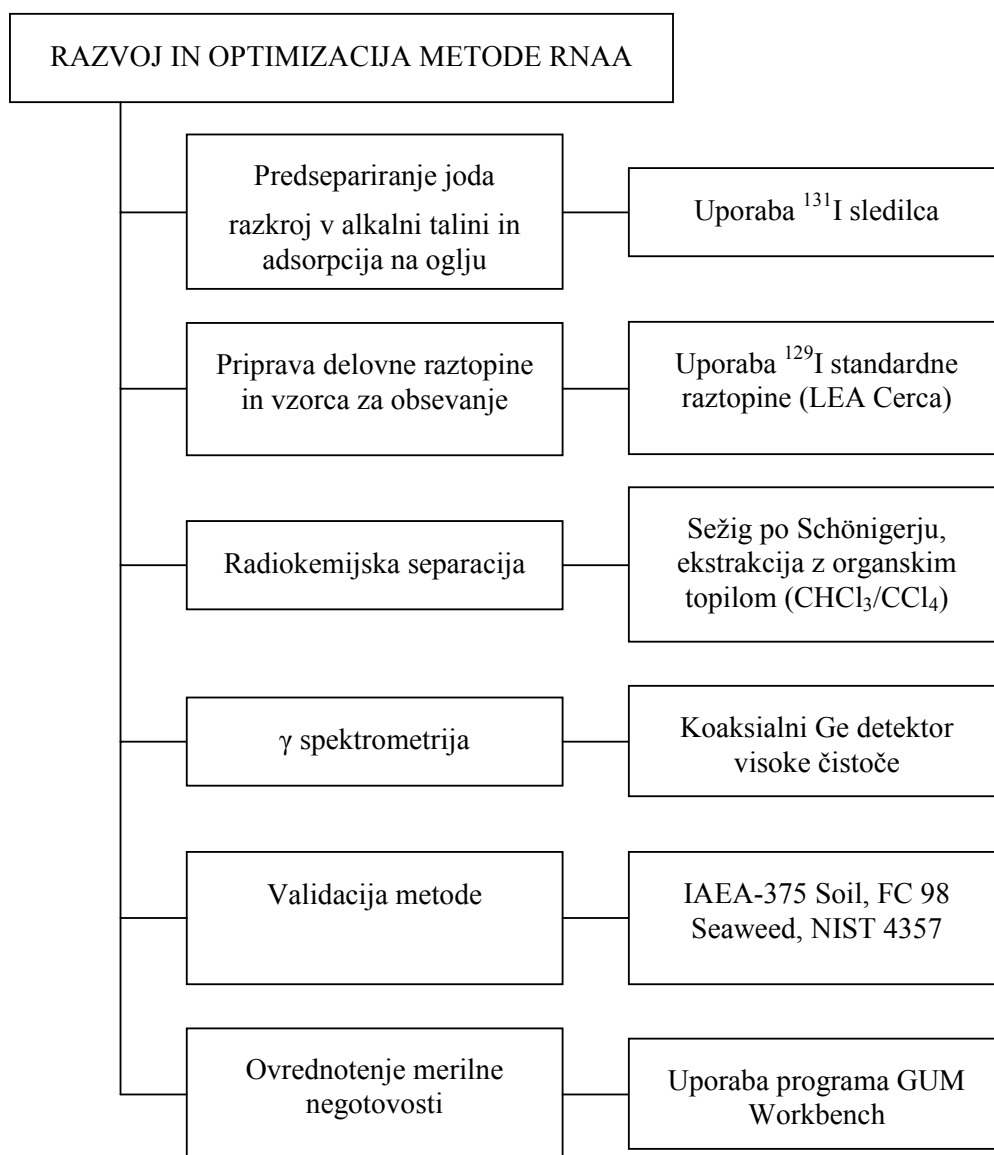
2.5.1 Raziskovalne hipoteze

- Razvili bomo metodo RNAA za določitev ^{129}I v okoljskih vzorcih.
- Ugotavljali bomo porazdelitev ^{129}I v okolju na območju Slovenije.
- Predvidevamo, da so kvasovke predvsem akumulatorji joda in ga ne pretvarjajo v hlapne organske oblike (metilacija).
- Predvidevamo, da ne obstajajo razlike v deležu privzetega ^{129}I in ^{127}I v odvisnosti od časa.
- Skušali bomo dokazati, da nizke koncentracije joda v gojišču pozitivno vplivajo na rast kvasovk in da visoke inhibirajo rast.

3 MATERIAL IN METODE

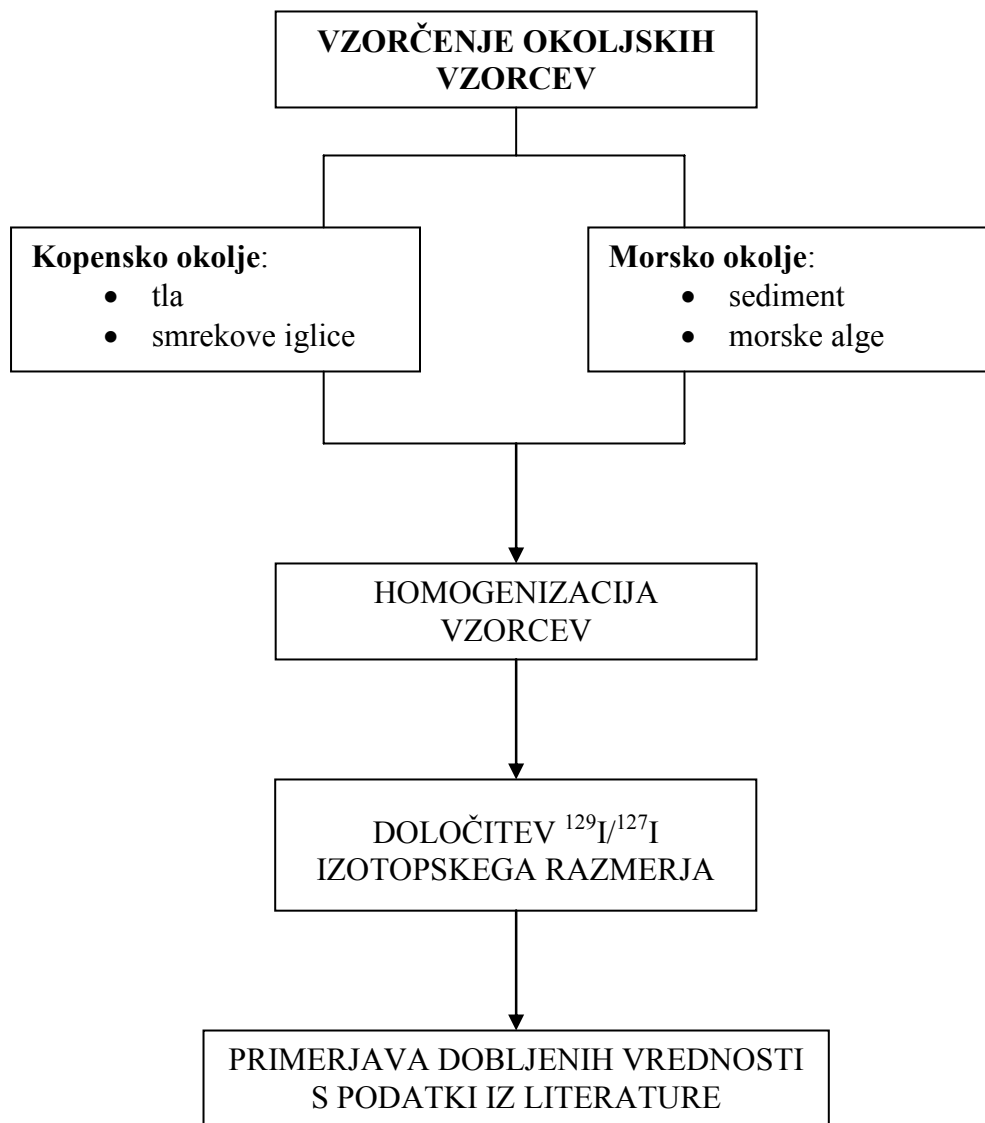
3.1 POTEK DELA

Potek dela je shematsko prikazan na slikah 8, 9 in 10.



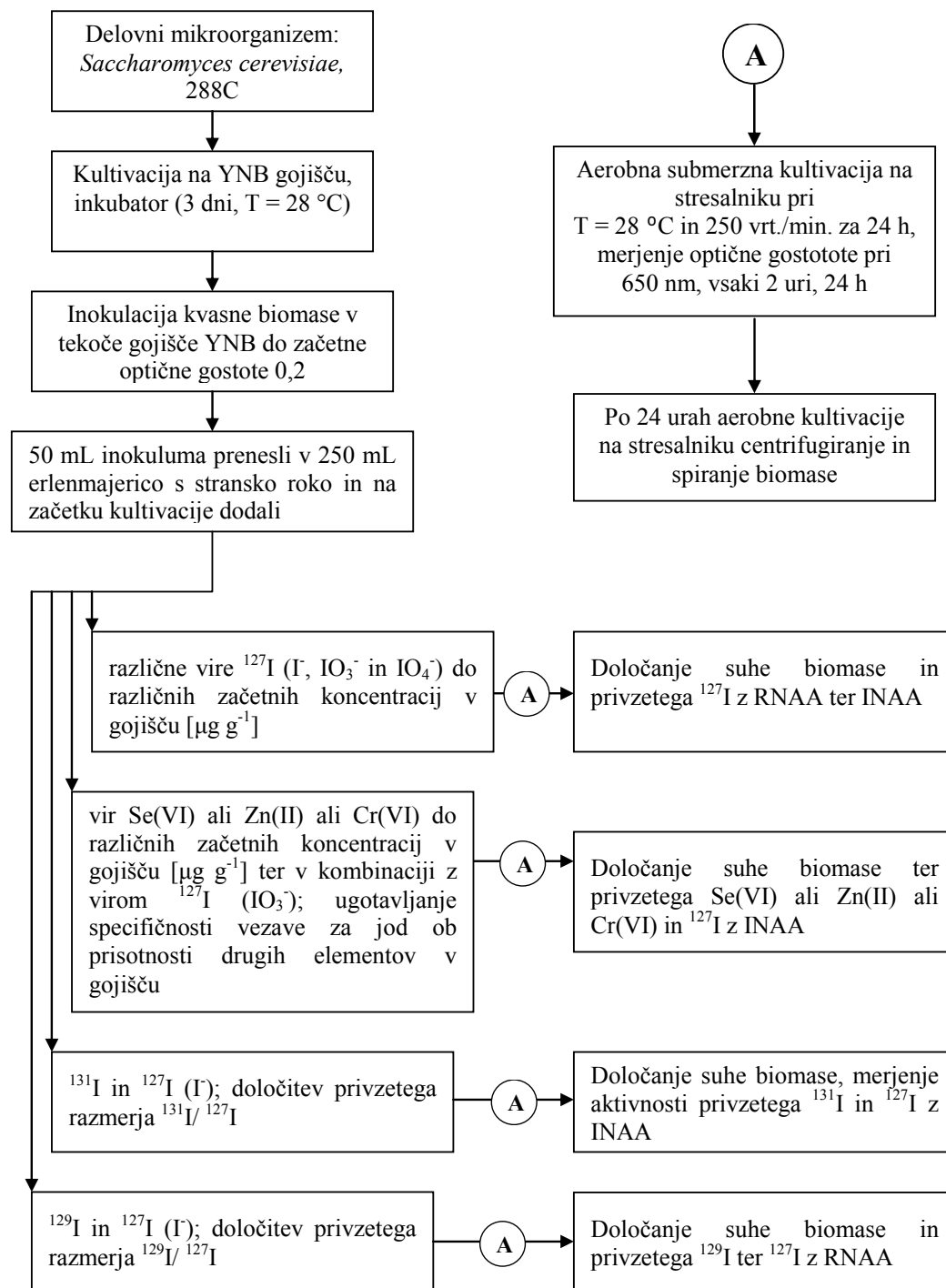
Slika 8. Razvoj metode RNAA za določitev $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ izotopskega razmerja v okoljskih vzorcih

Figure 8. Development of the RNAA method for the determination of $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ isotopic ratio in environmental samples



Slika 9. Uporaba razvite metode RNAA za določitev izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v vzorcih iz kopenskega in morskega okolja

Figure 9. Application of the developed RNAA method for the determination of the $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ isotopic ratio in samples from the terrestrial and marine environment

Slika 10. Ugotavljanje udeležbe kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri akumulaciji jodaFigure 10. Assessment of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* involvement in accumulation of iodine

3.2 VZORCI

Vzorčenje smo opravili v kopenskem in morskem okolju ter analizirali vzorce tal, smrekovih iglic, morskega sedimenta in morskih alg.

3.2.1 Kopensko okolje

3.2.1.1 Tla

Vzorčenje tal smo opravili na območjih, kjer smo zaradi prisotnosti jedrskih objektov oz. nahajališč uranove rude pričakovali povečano vsebnost ^{129}I , ter ta območja primerjali z območjem, kjer ni nahajališč uranove rude in jedrskih objektov. Izbrali smo Mursko Soboto, saj je oddaljena od potencialnih virov ^{129}I na območju Slovenije (vzorčenje smo opravili oktobra 2006).

Junija 2006 smo opravili vzorčenje tal na območju masiva Žirovski vrh, kjer je rudnik urana, ki pa ga zapirajo in sanirajo okolje. Pri pridobivanju uranove rude ostaja jalovina, ki potencialno vsebuje potomce uranove razpadne verige. Vzorčenje smo opravili na območju jalovišča Boršt, in sicer na vrhu jalovišča in ob vznožju le-tega, ter na področju naravne anomalije v bližini Šimcove domačije, kjer se uranova ruda nahaja tik ob površju.

Oktobra 2006 smo vzorčili tla v Podgorici na zemljišču reaktorskega centra v neposredni bližini reaktorja TRIGA Mark II.

Vsebnost ^{129}I smo določili tudi v vzorcih tal iz Ukrajine, pridobljenih na naslednjih območjih:

- Odesa, Kijev, Umanj, Bela Cerkev in Zhovten (junij 2006),
- Černobil (april 1996),
- Kijev (april 1996),
- Yaniv (julij 1993),
- Buriakivka (april 1989),
- Buriakivka (april 1993).

Vzorčenje tal smo opravili po naslednjem protokolu (Zorzi in sod., 2005):

- na območju vzorčenja smo si izbrali kvadrat s stranico 5 m;
- s pomočjo ročne sonde smo opravili vzorčenje vrhnje plasti tal (10–20 cm) brez trave;
- vzorčenje smo opravili v ogliščih kvadrata ter v stičišču diagonal;
- tako smo dobili kompozitni vzorec, sestavljen iz petih posameznih vzorcev.

Vzorci tal smo enakomerno in v čim tanjši plasti (do 1 cm) porazdelili na filter papirju velikosti 50 x 50 cm ter posušili na zraku (naravno sušenje) v temnem prostoru. Med sušenjem smo jih večkrat premešali. Suhe vzorce tal smo homogenizirali v terilnici ter presejali skozi sito z luknjicami premera 0,2 mm. Do analize smo vzorce hranili v inertni plastični posodi v hladilniku pri 4 °C.

3.2.1.2 Smrekove iglice

Vzorčili smo jih maja 2006 na območju Podgorice (reaktorski center), Bohinja, Pokljuke in Vogrskega. Iglice smo vzorčili v višini dveh metrov nad tlemi in jih sušili na zraku, v temnem prostoru, razprostrte v tankem sloju. Med sušenjem smo jih večkrat premešali, nato smo jih homogenizirali v rotacijskem mlinu (Fritsch, Pulverisette 14) pri 18000 obratih min^{-1} . Do analize smo vzorce hranili v inertni plastični posodi v hladilniku pri 4 °C.

3.2.2 Morsko okolje

3.2.2.1 Morski sediment

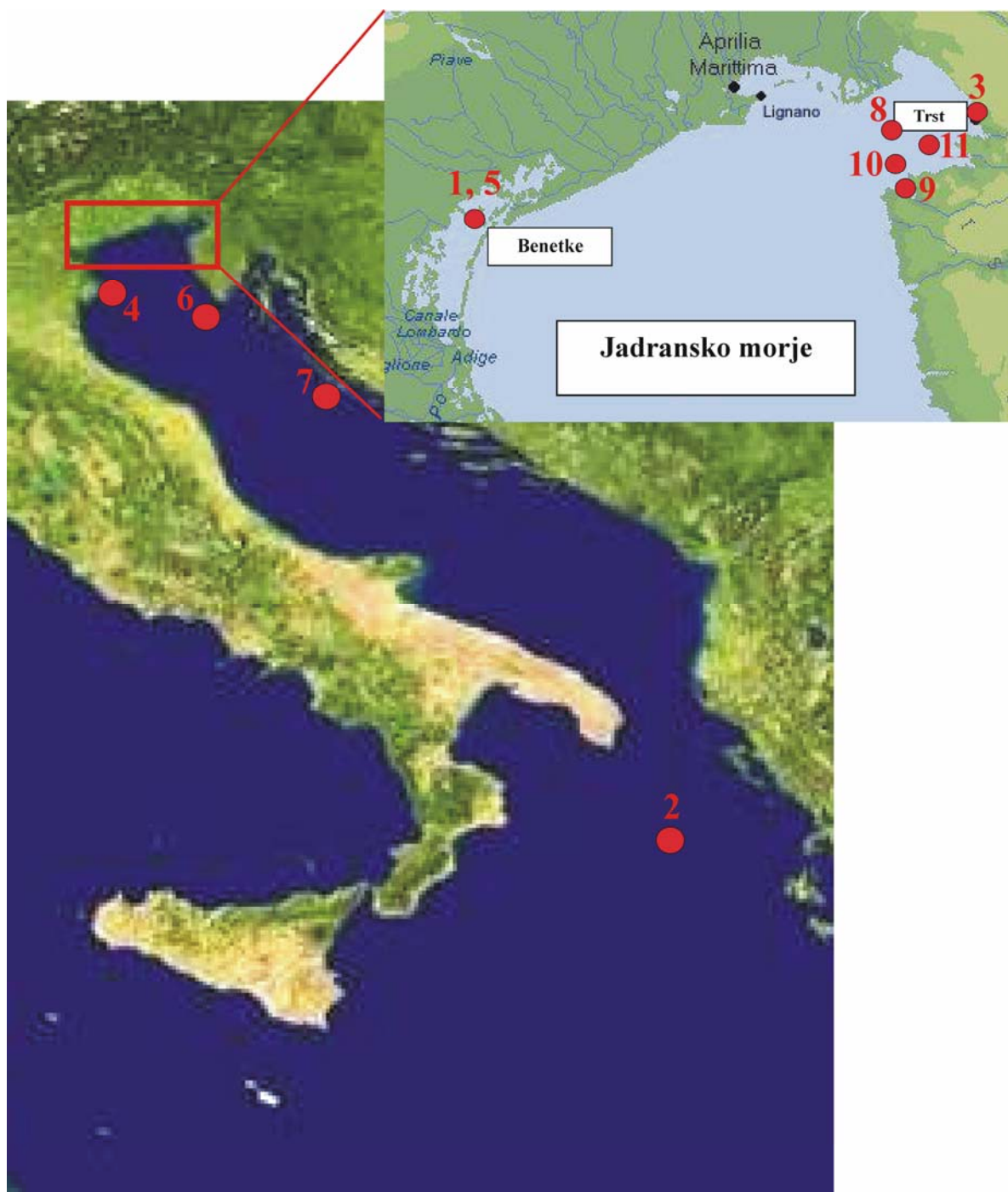
Vzorčili smo enajst vzorcev sedimentov z območja Sredozemskega in Jadranskega morja (preglednica 3, slika 11). To so bili kompozitni vzorci in zajemajo vrhno plast sedimenta – približno 20 cm. Vzorčenje sedimentov je bilo opravljeno z van Veenovim grabilom. Morske sedimente smo takoj po vzorčenju zamrznili in jih nespremenjene hranili do analize. Odstotek suhe snovi smo določili na alikvotu vzorca.

Preglednica 3. Lokacije in parametri vzorčenja morskih sedimentov

Table 3. Sampling locations and conditions of marine sediments

Oznaka	Lokacija	Globina (m)	Datum vzorčenja
1	Benetke	14,8	november, 2004
2	Jonsko morje, Grčija	3008,0	november, 2004
3	Trst	17,9	junij, 2005
4	Delta reke Pad	32,1	junij, 2005
5	Benetke	26,4	junij, 2005
6	Pulj	53,7	junij, 2005
7	Kornati	187,7	junij, 2005
8	sredina Tržaškega zaliva	-	september, 2005
9	sredina Piranskega zaliva	-	september, 2005
10	2 milji od piranske Punte	-	september, 2005
11	zunanj rob Koprškega zaliva	-	september, 2005

- ni podatka



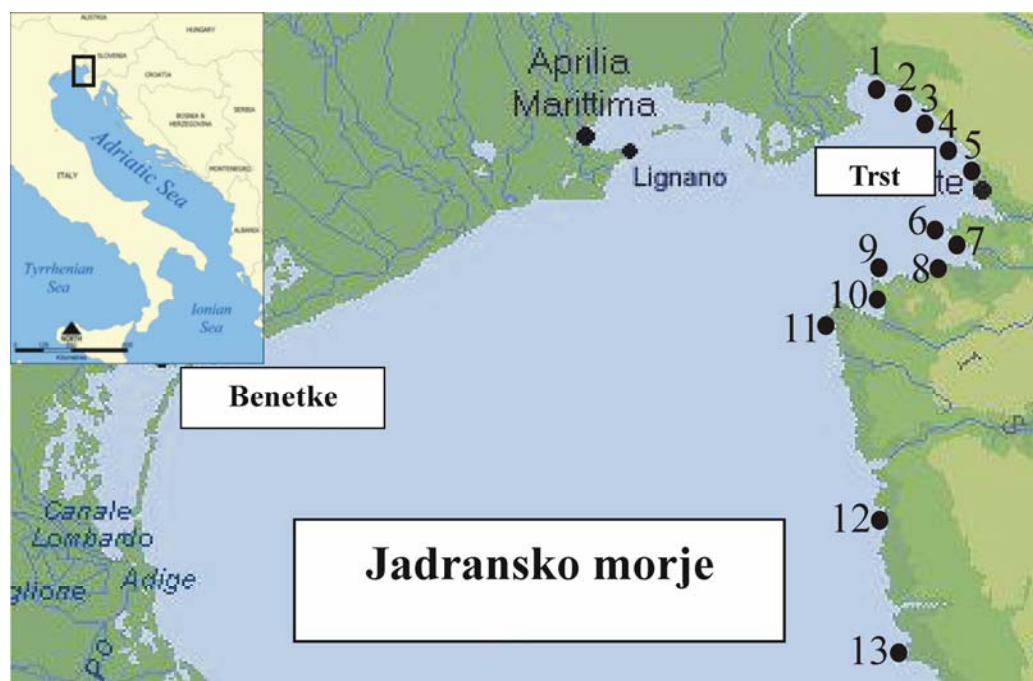
Slika 11. Lokacije vzorčenja morskih sedimentov

Figure 11. Sampling locations of marine sediments

3.2.2.2 Rjave morske alge (*Fucus virsoides*)

Alge smo vzorčili vzdolž slovenske, hrvaške in italijanske obale v obdobju enega leta (september 2005–oktober 2006). Lokacije vzorčenja so naslednje (slika 12):

- slovenska obala: Piran, Portorož, Ankaran, Debeli rtič, Žusterna (september 2005);
- italijanska obala: Ribiška vas, Sosljan, Nabrežina, grad Miramar, Trst (junij 2006);
- hrvaška obala: Umag, Poreč, Rovinj (oktober 2006).



1 Ribiška vas	6 Debeli rtič	11 Umag
2 Sosljan	7 Ankaran	12 Poreč
3 Nabrežina	8 Žusterna	13 Rovinj
4 Grad Miramar	9 Piran	
5 Trst	10 Portorož	

Slika 12. Lokacije vzorčenja morskih alg

Figure 12. Sampling locations of marine algae

Na mestu vzorčenja smo alge sprali z morsko vodo, da smo odstranili ostanke peska, sedimenta ter pritrjene organizme/delce. Nato smo jih na hitro sprali z navadno vodo, dali v plastične vrečke ter zamrznili v tekočem dušiku. Do prenosa v laboratorij smo jih hranili v hladilni torbi, da smo preprečili izgube joda.

Alge smo približno 172 ur liofilizirali pri $-54\text{ }^{\circ}\text{C}$ in tlaku 0,030 mbar v liofilizatorju (Christ Alpha 1-4, LOC-1) ter homogenizirali v rotacijskem mlinu (Fritsch, Pulverisette 14) pri 18000 obratih min^{-1} . Do analize smo vzorce hranili v inertni plastični posodi v hladilniku pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3 DELOVNI MIKROORGANIZEM

V poskusih aerobne submerzne kulture na stresalniku smo kot delovni mikroorganizem uporabili kvasovko *Saccharomyces cerevisiae* (288C) iz Zbirke industrijskih mikroorganizmov Katedre za biotehnologijo na Biotehniški fakulteti (Raspor in sod., 1995). Kvasovko smo hranili v inkubatorju pri $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ na trdnem agarnem gojišču YNB (Sigma Aldrich, 2000). Vitalnost kvasovke smo po revitalizaciji ohranjali s precepljanjem dvakrat tedensko oz. smo jo pred vsako uporabo tri dni inkubirali.

3.4 MATERIAL

3.4.1 Reagenti

Aktivno oglje:

- Oglje Merck 9624 (0,5–1 mm) smo uporabljali za adsorpcijo joda. Pred uporabo smo ga očistili s klorovodikovo kislino koncentracije 1 mol L^{-1} .

Kemikalije:

- kalijev hidrogen fosfat (K_2HPO_4); za spiranje biomase smo uporabili vodno raztopino K_2HPO_4 s koncentracijo $0,015 \text{ mol L}^{-1}$; v ta namen smo 2,6127 g K_2HPO_4 dodali v 1000 mL H_2O ; za pripravo založnih raztopin joda (KI , KIO_3 in KIO_4) ter za resuspendiranje kvasne biomase smo uporabili raztopino K_2HPO_4 s koncentracijo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (1,7418 g K_2HPO_4 / 100 mL H_2O);
- kalijev hidroksid (KOH , peleti, Riedel de Haën, puriss);
- koncentrirana žveplena kislina (H_2SO_4 , 96 %, Carlo Erba, p.a.);
- raztopina natrijevega sulfita (Na_2SO_3 , 10 %, Roth, p.a.); pripravili smo jo tako, da smo v 100 mL merilno bučko odtehtali 10 g Na_2SO_3 in do oznake dopolnili z destilirano H_2O ;
- raztopina kalijevega sulfita (K_2SO_3 , 10 % in 0,3 %, Aldrich, p.a.);
- raztopina natrijevega nitrita (NaNO_2 , 10 %, Roth, p.a.);
- žveplena kislina s koncentracijo 2,5 in $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (H_2SO_4 , Carlo Erba, p.a.);
- klorovodikova kislina s koncentracijo $1\text{--}6 \text{ mol L}^{-1}$ (HCl , Merck, 37 %, p.a.);
- dušikova kislina s koncentracijo $1\text{--}14 \text{ mol L}^{-1}$ (HNO_3 , Merck, 65 %, p.a.);
- očetna kislina s koncentracijo $1\text{--}16 \text{ mol L}^{-1}$ (CH_3COOH , Kemika Zagreb, p.a.);
- raztopina litijevega hidroksida (LiOH , 0,3 %, Kemika Zagreb, p.a.).

Organski topili:

- kloroform (CHCl_3 , Merck, p.a.);
- tetraklorometan (CCl_4 , Merck, p.a.).

Delovne raztopine:

- delovna raztopina sledilca ^{131}I ; prazne ampule, ki so vsebovale ^{131}I v sledovih, smo z dovoljenjem in pod pogoji Agencije za jedrsko varstvo Slovenije pridobili na Oddelku za nuklearno medicino Kliničnega centra Ljubljana; ampule smo sprali z LiOH (0,3 %) in Na_2SO_3 (10 %) ter pripravili založno raztopino sledilca ^{131}I z aktivnostjo $\sim 100 \text{ Bq g}^{-1}$, ki smo ji dodali stabilni jod ^{127}I kot kalijev jodid (KI), tako da je bila koncentracija stabilnega joda v založni raztopini $\sim 1 \text{ mg g}^{-1}$; iz založne raztopine smo z razredčitvijo z LiOH (0,3 %) pripravili delovno raztopino ^{131}I z aktivnostjo $\sim 2 \text{ Bq g}^{-1}$; delovno raztopino sledilca ^{131}I smo uporabili pri razvoju in optimizaciji predsepariranja joda za določitev ^{129}I v okoljskih vzorcih;
- raztopina sledilca ^{131}I uporabljena pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*; uporaba LiOH za doseg alkalnosti delovne raztopine ni bila mogoča zaradi morebitnega vpliva LiOH na rast kvasovke; raztopino ^{131}I smo pripravili tako, da smo ampulo s sledovi ^{131}I , pridobljeno na Oddelku za nuklearno medicino (KC Ljubljana), sprali z raztopino kalijevega hidrogenfosfata K_2HPO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 8,8), ki smo mu dodali kalijev jodid (KI), tako da je bila koncentracija stabilnega ^{127}I 1 mg g^{-1} raztopine;
- delovna raztopina $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ s koncentracijo $0,63 \text{ } \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ (delovni standard, $A = 4,2 \text{ Bq g}^{-1}$) in s koncentracijo $50 \text{ mg } ^{127}\text{I g}^{-1}$; pripravili smo jo z razredčitvijo komercialno pridobljenega, certificiranega ^{129}I (LEA Cerca, $A = 420 \text{ Bq g}^{-1}$) z LiOH (0,3 %); kot vir stabilnega joda smo uporabili kalijev jodid (KI, Merck, p.a.);

- raztopina arzenovega (III) oksida (As_2O_3 , Merck, p.a.) s koncentracijo 50 mg g^{-1} in $10 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$;
- raztopina antimonovega (III) oksida (Sb_2O_3 , Riedel de Haën, p.a.) s koncentracijo 50 mg g^{-1} in $20 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$;
- raztopina natrijevega bromida (NaBr , Merck p.a.) s koncentracijo 60 mg g^{-1} in $20 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$;
- raztopina natrijevega klorida (NaCl , Merck, p.a.) s koncentracijo 60 mg g^{-1} in $50 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$;
- delovna raztopina kalijevega jodata (KIO_3 , Kemika Zagreb, p.a.) s koncentracijo 10 in $100 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$.

Raztopine na zalogi:

- raztopina kalijevega jodida s koncentracijo 50 mg I g^{-1} (KI , Merck, p.a.); v 50 mL merilno bučko smo odtehtali 3,270 g KI , dodali destilirano vodo in 10 mL 25 % NH_3 (Merck, p.a.);
- raztopina kalijevega jodata s koncentracijo 1 mg g^{-1} (KIO_3 , Kemika Zagreb, p.a.); KIO_3 smo sušili 1–2 uri pri 105°C , odtehtali 0,4216 g v 250 mL merilno bučo, dolili 50 mL 25 % NH_3 ter do oznake dopolnili z destilirano vodo; pripravili smo delovni raztopini KIO_3 s koncentracijama 10 in $100 \text{ } \mu\text{g I g}^{-1}$;

- raztopini kalijevega jodida s koncentracijama 25 in 400 mg I g⁻¹ (KI, Merck, p.a.); ustrezno maso kalijevega jodida (3,271 oz. 52,328 g) smo odtehtali v 100 mL merilno bučo ter do oznake dopolnili z raztopino K₂HPO₄ (0,1 mol L⁻¹);
- raztopini kalijevega jodata s koncentracijama 25 in 50 mg I g⁻¹ (KIO₃, Kemika Zagreb, p.a.); ustrezno maso kalijevega jodata (4,216 g) smo odtehtali v 100 oz. 50 mL merilno bučo ter do oznake dopolnili z raztopino K₂HPO₄ (0,1 mol L⁻¹);
- raztopina kalijevega perjodata s koncentracijo 2,5 mg I g⁻¹ (KIO₄, Merck, p.a.); ustrezno maso kalijevega perjodata (0,227 g) smo odtehtali v 50 mL merilno bučo ter do oznake dopolnili z raztopino K₂HPO₄ (0,1 mol L⁻¹);
- raztopina natrijevega selenata s koncentracijo 50 mg Se g⁻¹ (Na₂SeO₄, Sigma, p.a.); v 50 mL merilno bučo smo odtehtali 5,9821 g Na₂SeO₄ ter do oznake dopolnili z destilirano H₂O;
- raztopina cinkovega klorida s koncentracijo 25 mg Zn g⁻¹ (ZnCl₂, Kemika Zagreb, p.a.); v 50 mL merilno bučo smo odtehtali 2,6058 g ZnCl₂ ter do oznake dopolnili z destilirano H₂O;
- raztopina kalijevega (VI) kromata koncentracije 50 mol Cr g⁻¹ (K₂CrO₄, Kemika Zagreb, p.a.); v 100 mL merilno bučo smo odtehtali 0,971 g K₂CrO₄ ter do oznake dopolnili z destilirano H₂O.

(Vse naštetе raztopine smo sterilizirali z aseptično filtracijo s pomočjo sterilne filtrirne naprave skozi membranski filter (Satorius, velikost por 0,2 µm) in jih uporabili pri ugotavljanju specifičnosti privzema omenjenih elementov pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*.)

- raztopina Se s koncentracijo 1 mg g^{-1} (Merck, raztopine Se v 5 % HNO_3 , za ICP) za pripravo delovnih raztopin Se s koncentracijami v območju od 100 do $500 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$;
- raztopina Zn s koncentracijo 1 mg g^{-1} (Merck, raztopine Zn v 5 % HNO_3 , za ICP) za pripravo delovnih raztopin Zn s koncentracijami v območju od 100 do $500 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$;
- raztopina Cr s koncentracijo 1 mg g^{-1} (Merck, raztopine Cr v 5 % HNO_3 , za ICP) za pripravo delovnih raztopin Cr s koncentracijami v območju od 100 do $500 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$;

(Delovne raztopine Se, Zn in Cr smo uporabili za določitev omenjenih elementov z INAA v gojišču in pri kvasni biomasi med aerobno submerzno kultivacijo.)

- raztopina ^{129}I z aktivnostjo 420 Bq g^{-1} (LEA Cerca, $63,2 \text{ } \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$) za pripravo delovnih raztopin $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$, ki so služile kot primerjalni standard pri določanju ^{129}I z metodo RNAA.

(Vzorci smo obsevali v reaktorju TRIGA Mark II od nekaj minut v pnevmatski pošti do 20 ur v vrtiljaku.)

Steklovina in potrošni material:

- osnovni laboratorijski material.

Aparature:

- avtoklav Sutjeska,
- avtomatske pipete Gilson,
- brezprašna komora Iskra PIO SMBC 122,
- centrifuga (4000 vrt. min⁻¹, Tehnica, Centric 322A),
- inkubator BTES Frigomat,
- magnetno mešalo Tehnica Železniki 550 M,
- membranska filtrirna naprava (Sartorius),
- mikrovalovna pečica Candy,
- pH-meter (Mettler Toledo),
- rotacijski stresalnik (Braun),
- stresalnik (IKA, MS1),
- spektrofotometer za merjenje optične gostote (ISKRA, Spekol 210, MA 9525),
- sušilnik Sutjeska,
- tehnica Sartorius analytic,
- tehnica Sartorius excellence,
- tehnica Mettler AE 163,
- tehnica Tehnica Exacta 300 EB,
- vakuumška črpalka VEB REGLER VERK,
- koaksialni germanijev detektor visoke čistoče (Canberra in Ortec),
- utorni germanijev detektor visoke čistoče (Canberra in Ortec),
- grelna plošča (Thermolyne, Tip 2200),
- termoblok (Termoproc, TBSL),
- žarilna peč (Aurodent, Tip 5206),
- liofilizator (Christ Alpha 1-4, LOC-1),
- rotacijski mlin (Fritsch, Pulverisette 14),
- rotacijski mlin (Fritsch, Pulverisette 7),
- horizontalni stresalnik (IKA, HS 501 digital),
- cilindrična batna stiskalnica (SPECAC, 25.011).

Programska oprema:

- Microcal Origin,
- Microsoft Office,
- Genie 2000 (Canberra),
- Maestro,
- S100 (Canberra),
- Hypermet-PC, Version 5.0,
- GUM Workbench.

3.4.2 Gojišče YNB brez aminokislin (Yeast Nitrogen Base without amino acids)

V gojišču YNB so prisotne vse vrste vitaminov in anorganskih soli v sledovih, v koncentracijah, manjših od 1 mg L^{-1} . Sestavo gojišča YNB prikazuje preglednica 4.

Preglednica 4. Sestava gojišča YNB brez aminokislin (Sigma Aldrich, 2000)

Table 4. Composition of YNB culture medium without amino acids

Sestavina	Proizvajalec	Koncentracija v gojišču (g L^{-1})
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (p.a.)	Sigma	5,000
KH_2PO_4 (p.a.)	Sigma	1,000
MgSO_4 (p.a.)	Sigma	0,500
NaCl (p.a.)	Sigma	0,100
CaCl_2 (p.a.)	Sigma	0,100
Inozitol	Sigma	0,002

Za 1 L gojišča smo 6,7 g gojišča YNB suspendirali v 100 mL de. H_2O in ga s pomočjo sterilne filtrirne naprave aseptično prefiltrirali skozi membranski filter (Satorius, velikost por $0,2 \mu\text{m}$).

3.4.2.1 Tekoče gojišče YNB

Uporabili smo ga za aerobne submerzne kultivacije. Raztopino glukoze (900 mL, koncentracija 10 g L^{-1}) smo sterilizirali v avtoklavu (20 min, pri 121°C in nadtlaku 1,1 bar), ohladili na sobno temperaturo in dodali 100 mL gojišča YNB.

3.4.2.2 Trdno gojišče YNB

Raztopini glukoze (900 mL) s koncentracijo 10 g L^{-1} smo dodali 20 g L^{-1} bakteriološkega agarja, ga zaklejili v mikrovalovni pečici ter sterilizirali v avtoklavu (20 min, pri 121°C in nadtlaku 1,1 bar). Po sterilizaciji smo gojišče ohladili na 50°C , dodali sterilno gojišče YNB, premešali in gojišče razlili na petrijeve plošče. Trdno gojišče YNB smo uporabili za ohranjanje vitalnosti kvasovk.

3.5 METODE

3.5.1 Določitev ^{129}I

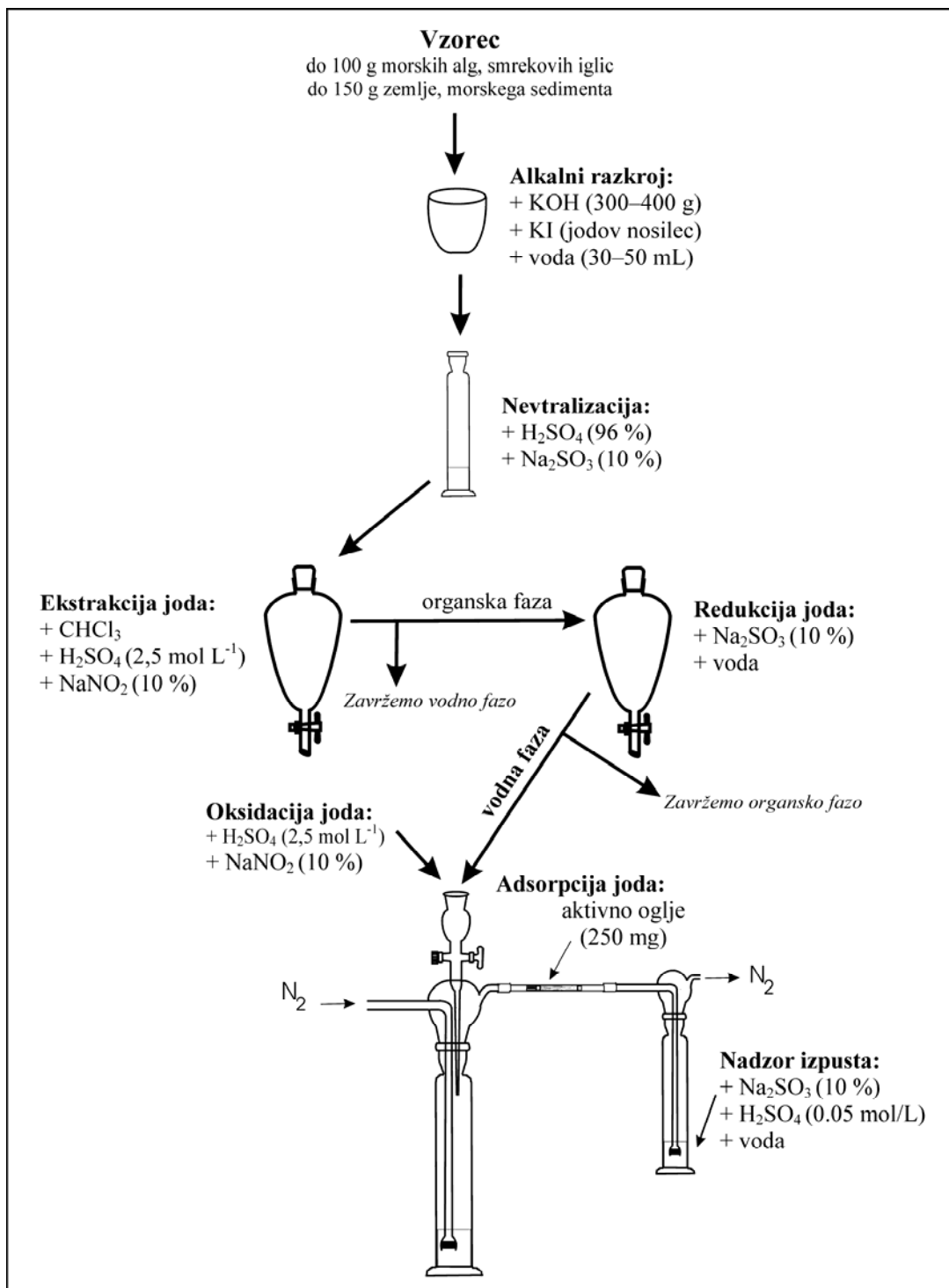
3.5.1.1 RNAA (Osterc in sod., 2007)

3.5.1.1.1 Predsepariranje joda

Vzorec (do 100 g morskih alg in smrekovih iglic, do 150 g tal in morskega sedimenta) smo razkrojili v nikljevih lončkih (500 mL) z alkalnim razkrojem (KOH). Razmerje vzorec : KOH je bilo pri morskih algah 1 : 4, pri smrekovih iglicah 1 : 6 ter pri tleh in morskih sedimentih 1 : 3. Z dodatkom jodovega nosilca (150–200 mg raztopine KI v 5 % raztopini amoniaka, ki je vsebovala 50 mg I g^{-1}) smo zagotovili ponovljive kemijske razmere razkroja ter omogočili določitev kemijskega izkoristka celotne metode. Sledil je dodatek destilirane vode (30–50 mL), vzorec smo za 24 ur postavili v sušilnik pri $70\text{--}80^\circ\text{C}$. Sledilo je postopno dvigovanje temperature na termobloku, najprej do 150°C (pri tej temperaturi smo vzorec pustili 12 ur),

nato do 240 °C (za 24 ur) in v končni fazi do 350 °C (za 12 ur). Vzorec smo prenesli v žarilno peč ter ga 4 ure pustili pri 600 °C.

Po ohladitvi razkrojenega vzorca smo dodali destilirano vodo (300–400 mL) ter alkalni preostanek raztopili. Dodali smo Na_2SO_3 (10 %, 5 mL) ter raztopino nevtralizirali s koncentrirano H_2SO_4 (96 %). Nevtralizirano raztopino smo prenesli v lij ločnik, dodali NaNO_2 (10 %, 5 mL) in H_2SO_4 (2,5 mol L^{-1} , 3 mL) ter jod ekstrahirali s CCl_4 ; ekstrakcijo smo ponovili trikrat (100 mL + 100 mL + 50 mL). K skupnemu volumnu organske faze (~230 mL), zbrane v drugem liju ločniku, smo dodali destilirano vodo (60 mL) ter 10 % Na_2SO_3 (12 mL). Jodid v vodni fazi smo prenesli v izpihovalko, dodali NaNO_2 (10 %, 5 mL) in H_2SO_4 (2,5 mol L^{-1} , 3 mL) in v toku dušika (pretok 12 mL min^{-1} , trajanje 60 min) adsorbirali jod na aktivnem oglju (250 mg). Shematski prikaz predsepariranja joda prikazuje slika 13.



Slika 13. Shema predsepariranja joda iz vzorca

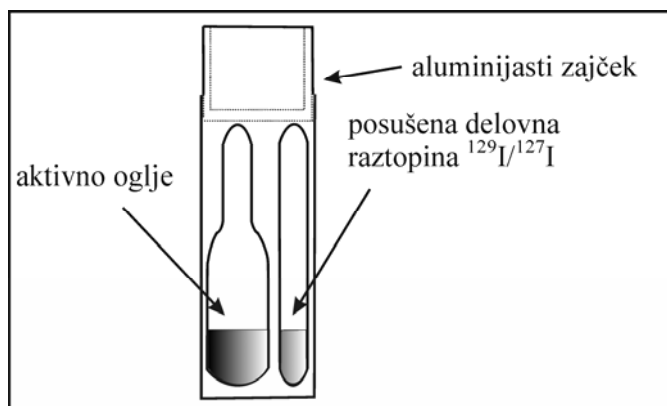
Figure 13. Scheme of pre-separation of iodine from the sample

3.5.1.1.2 Priprava delovne raztopine $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (delovni standard)

Delovno standardno raztopino ^{129}I ($A = 4,2 \text{ Bq g}^{-1}$) smo pripravili z razredčitvijo originalne, komercialno dostopne standardne raztopine ^{129}I (LEA Cerca, $A = 420 \text{ Bq g}^{-1}$) z 0,3 % LiOH. Kot vir stabilnega joda ^{127}I smo dodali kalijev jodid. Pripravljen delovni standard $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ je vseboval $50 \text{ mg g}^{-1} \text{ }^{127}\text{I}$ in $0,63 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ }^{129}\text{I}$. Približno 100–150 mg tako pripravljene delovne standardne raztopine smo prenesli v kvarčno ampulo, jo posušili v sušilniku pri $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ter ampulo nato zatalili.

3.5.1.1.3 Obsevanje vzorca in standarda

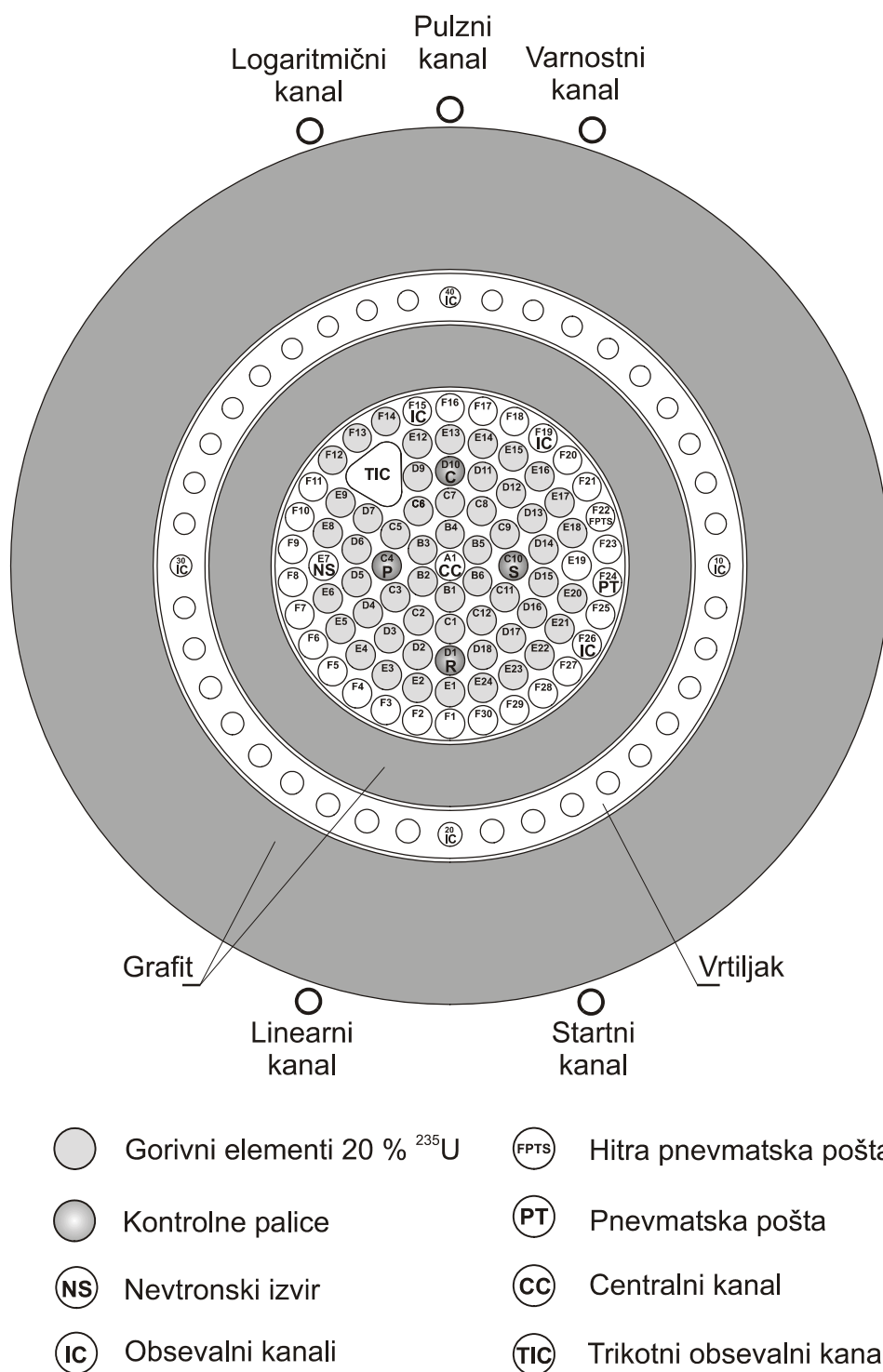
Aktivno oglje z adsorbiranim jodom smo prenesli v kvarčno ampulo in jo zatalili. Ampuli z aktivnim ogljem (vzorec) in delovnim standardom $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ smo prenesli v aluminijasti zajček (slika 14) ter ju sočasno dvanajst ur obsevali v F obroču reaktorja TRIGA Mark II ($\phi_{\text{th}} = 3,5 \cdot 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in $\phi_{\text{f}} = 1,2 \cdot 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$).



Slika 14. Položaj vzorca in standarda v Al-zajčku pri obsevanju

Figure 14. Sample and standard position during irradiation in the Al-rabbit

Vodoravni prerez sredice reaktorja TRIGA Mark II iz reaktorskega centra Podgorica, Institut Jožef Stefan z razporeditvijo obsevalnih kanalov, prikazuje slika 15.

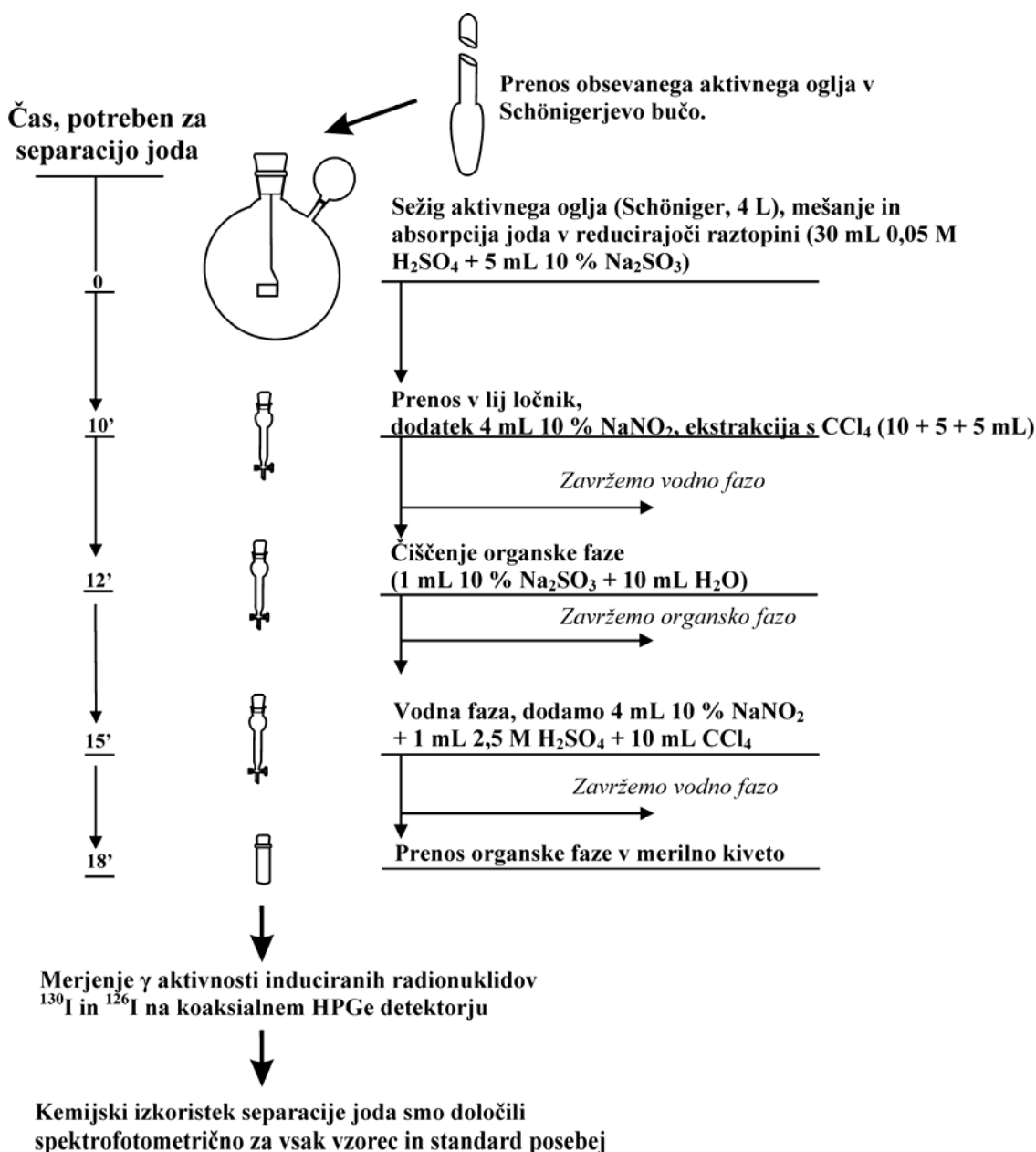


Slika 15. Vodoravni prerez sredice reaktorja TRIGA Mark II (Jaćimović, 2003)

Figure 15. Horizontal profile of the TRIGA Mark II reactor core

3.5.1.1.4 Radiokemijsko separiranje in merjenje γ aktivnosti ^{130}I in ^{126}I

Postopek ekstrakcije joda po obsevanju (radiokemijskega separiranja) je shematično prikazan na sliki 16.



Slika 16. Shema radiokemijskega separiranja joda

Figure 16. Scheme of radiochemical separation of iodine

Po obsevanju smo počakali 10–12 ur, da se je akumulirana doza aktivnega oglja zmanjšala na varno raven (princip ALARA). Nato smo kvarčno ampulo dali za kratek čas v tekoči dušik ter vrh ampule odrezali z nožem. Aktivno oglje smo sežgali v štirilitrski Schönigerjevi buči, ki je vsebovala rahlo kislo, reducirajočo raztopino (30 mL, $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ in 4 mL, 10 % Na_2SO_3). Po sežigu smo počakali 15–20 min, da se je ves sproščeni jod absorbiral v reducirajoči raztopini. Prenesli smo jo v lij ločnik in jod oksidirali z dodatkom NaNO_2 (10 %, 3 mL) in H_2SO_4 ($2,5 \text{ mol L}^{-1}$, 1 mL) ter ekstrahirali s CCl_4 . Ekstrakcijo smo ponovili trikrat ter organsko fazo zbrali v drugem liju ločniku. Dodali smo Na_2SO_3 (10 %, 3 mL) ter 10 mL vode, jod reducirali in ločili od broma ter klora, ki se ne reducirata in ostaneta v organski fazi. Organsko fazo smo zavrgli, iz vodne pa ponovno ekstrahirali jod s CCl_4 ob dodatku NaNO_2 (10 %). Organsko fazo smo zbrali v merilno kiveto ter izmerili γ aktivnost induciranih radioizotopov ^{130}I in ^{126}I na koaksialnem germanijevem detektorju visoke čistoče (detektor HPGe). Nato smo določili kemijski izkoristek celotnega postopka (predsepariranje in separiranje po obsevanju) – spektrofotometrično pri 517 nm. Pri izračunu izkoristka smo upoštevali dodatek joda kot nosilca, pa tudi jod, prisoten v vzorcu, ki ga ne moremo zanemariti, saj smo pri analizi uporabili tudi do 150 g vzorca. Vsebnost joda v izhodnem vzorcu smo določili na alikvotu vzorca z metodo RNAA za stabilni jod.

Ampulo s posušeno delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ smo dali v tekoči dušik, vrh odrezali z nožem ter jod izlužili z dodatkom raztopine NaOH (1 mol L^{-1}) in Na_2SO_3 (10 %). V liju ločniku smo izvedli ekstrakcijo joda po opisanem postopku ter izmerili γ aktivnost induciranih radionuklidov. Meritev je trajala od 30 do 60 minut. Za vsak standard smo določili tudi kemijski izkoristek ekstrakcije joda – spektrofotometrično pri 517 nm.

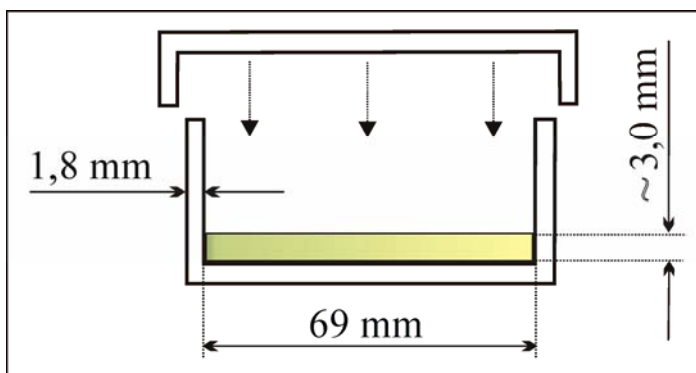
Metodo za določitev ^{129}I smo validirali z uporabo naslednjih referenčnih materialov: za tla Radionuclides and Trace Elements in Soil (IAEA-375), za morski sediment Ocean Sediment Environmental Radioactivity Standard (NIST 4357) in za morske alge – rastlinski material FC-98 Seaweed, ki so ga Fréhou in sod. (2001) pripravili za potrebe internega standarda in medlaboratorijske primerjave.

Ovrednotili smo merilno negotovost za določitev ^{129}I in ^{127}I v analiziranih okoljskih vzorcih. Pri izračunu merilne negotovosti smo sledili priporočilom, ki jih najdemo v GUM-u, Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (ISO, 1995). Merilno negotovost smo izračunali z uporabo računalniškega programa GUM Workbench, verzija 1.2 (Metrodata, 2005).

3.5.1.2 Direktna γ -X spektrometrija

Direktno γ -X spektrometrijo smo uporabili za določitev vsebnosti ^{129}I v vzorcu FC-98 Seaweed (*Fucus vesiculosus*), ki so pa Fréchou in sod. (2001) pripravili kot interni standard za medlaboratorijske primerjave.

Približno deset gramov vzorca FC-98 Seaweed smo enakomerno razporedili v cilindrični plastični posodi (notranji premer posode 69 mm, debelina stene 1,8 mm, višina posode 40 mm, višina vzorca 2,5–3 mm) z volumnom 100 mL (slika 17). Na koaksialnem detektorju HPGe za nizke energije smo izmerili aktivnost izsevanih γ -X žarkov ^{129}I pri 39,6 keV (meritev je potekala 360000 sekund). Izmerjeno aktivnost vzorca smo primerjali z aktivnostjo delovne standardne raztopine, ki smo jo pripravili z razredčitvijo izhodne, originalne ^{129}I raztopine, pridobljene od Lea CERCA ($A = 420 \text{ Bq g}^{-1}$) s K_2SO_3 (0,3 %). Meritev standardne raztopine smo izvedli v podobni cilindrični plastični posodi ter standard dopolnili do enake višine kot vzorec, da smo zagotovili enako geometrijo merjenja aktivnosti.



Slika 17. Shema cilindrične plastične posode, uporabljene za direktno γ -X spektrometrijo

Figure 17. Scheme of cylindrical plastic vessel used for the direct γ -X spectrometry

Pri izračunu koncentracije ^{129}I smo upoštevali absorpcijo γ žarkov ^{129}I v matrici ter izračunali koeficiente sipanja in tako upoštevali vpliv različne gostote vzorca in standarda na meritev γ aktivnosti ^{129}I (Lèfevre in sod., 2003).

Koeficiente sipanja smo določili tako, da smo deset gramov homogeniziranih alg jadranskega bračiča (*Fucus virsoides*) enakomerno razporedili v enaki cilindrični plastični posodi, v kateri smo opravili meritev vzorca FC-98 Seaweed. Na sredino vrha posode smo namestili točkovne vire ^{137}Cs ($T_{1/2} = 30,03$ let, $E_{XR,k\alpha1} = 31,8$ keV, $E_{XR,k\alpha2} = 32,2$ keV), ^{133}Ba ($T_{1/2} = 3841$ dni, $E_{XR,k\beta2} = 53,2$ keV) in ^{241}Am ($T_{1/2} = 432,6$ let, $E_{XR,I} = 59,5$ keV) znane aktivnosti. Le-te smo izbrali zato, ker imajo njihovi karakteristični γ -X žarki vrhove pri energijah, ki so blizu energiji ^{129}I pri 39,6 keV. Na podlagi razlike med izmerjeno in dejansko aktivnostjo uporabljenih točkovnih virov ^{137}Cs , ^{133}Ba in ^{241}Am smo izračunali koeficiente sipanja, to je zmanjšanje (izgubo) aktivnosti točkovnega vira zaradi sipanja žarkov pri prehodu le-teh skozi vzorec morskih alg.

3.5.2 Določitev stabilnega joda ^{127}I

3.5.2.1 INAA

Uporabili smo jo za vzorce z višjo vsebnostjo stabilnega joda. Na pnevmatskem sistemu reaktorja TRIGA Mark II smo pri fluenci termičnih nevtronov $4 \cdot 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ sočasno obsevali vzorec (1–2 g) in delovno raztopino joda (1–2 g raztopine kalijevega jodata v 5 % raztopini NH_3 s koncentracijo $100 \mu\text{g I g}^{-1}$). Podobno kot pri metodi RNAA za stabilni jod smo vzorec in delovno raztopino pripravili v polietilenski ampuli in izvedli obsevanje, ki je trajalo od 30 sekund do 3 minute, odvisno od pričakovane vsebnosti stabilnega joda v vzorcu. Po obsevanju smo izvedli direktno merjenje ^{128}I , inducirane pri jedrski reakciji s termičnimi nevtroni $^{127}\text{I}(\text{n}, \gamma)^{128}\text{I}$, $T_{1/2} = 25 \text{ min}$, $E_\gamma = 442,9 \text{ keV}$, tako pri vzorcu kot pri delovni raztopini. Meritev γ aktivnosti obsevanega vzorca in delovne raztopine smo izvedli na koaksialnem detektorju HPGe.

3.5.2.2 RNAA

Določitev stabilnega joda je temeljila na sočasnem obsevanju vzorca in delovne raztopine ^{127}I ($\sim 100 \text{ mg}$ raztopine kalijevega jodata v 5 % raztopini NH_3 s koncentracijo $10 \mu\text{g I g}^{-1}$). Posušen, homogeniziran vzorec (200–500 mg) in delovno raztopino smo prenesli v polietilensko ampulo, ju dopolnili do enake višine, zatalili ter ju obsevali zaprti v plastičnem zajčku na pnevmatskem sistemu reaktorja TRIGA Mark II pri fluenci termičnih nevtronov $4 \cdot 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Pri obsevanju poteka jedrska reakcija s termičnimi nevtroni $^{127}\text{I}(\text{n}, \gamma)^{128}\text{I}$; $T_{1/2} = 25 \text{ min}$, $E_\gamma = 442,9 \text{ keV}$.

Vzorce tal in morskih sedimentov smo pripravili v obliki tablet. Odtehtali smo 180 mg vzorca in 120 mg celuloze v prahu ter na cilindrični batni stiskalnici (SPECAC, 25.011) pripravili tablete. S tem smo dosegli sintranje vzorca pri sežigu (Dermelj in sod., 1996).

Po obsevanju smo vzorec prenesli na platinasto ladjico, na katero smo prej nanegli jodov nosilec (~100 mg raztopine kalijevega jodida v 5 % raztopini amoniaka s koncentracijo 50 mg I g^{-1}), in vzorec sežgali v štirilitrski Schönigerjevi buči. Jod se je absorbiral v reducirajoči raztopini (30 mL, 0,05 mol L^{-1} H_2SO_4 in 4 mL, 10 % Na_2SO_3), ki smo jo nato prenesli v lij ločnik in jod ekstrahirali s kloroformom po postopku, opisanem v točki 3.5.1.1.4, ter izmerili γ aktivnost inducirane ^{128}I na detektorju HPGe z utorom (well type). Kemijski izkoristek ekstrakcije joda smo izmerili spektrofotometrično pri 517 nm (Dermelj in sod., 1990 in 1996).

Metodo RNAA za določitev stabilnega ^{127}I smo preverili z uporabo referenčnih materialov NIST 1549 non-fat milk powder, ker ni na voljo referenčnega materiala s podobno osnovo kot so kvasovke, za morske alge pa z NIES CRM No. 9 Sargasso. V obeh primerih smo dobili dobro ujemanje med določeno in certificirano vrednostjo (preglednica 5).

Preglednica 5. Koncentracija ^{127}I v referenčnem materialu NIST 1549 in NIES No. 9

Table 5. Concentration of ^{127}I in the reference material NIST 1549 and NIES No. 9

Vir	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	NIST 1549	CRM No. 9
Certificirana vrednost	$3,38 \pm 0,02^a$	520
Naša določitev ($n = 12$) ^a	$3,44 \pm 0,16$ ($n = 12$)	520 ± 6 ($n = 4$)

^aRezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, $k = 2$).

Merilno negotovost za metodo RNAA za določitev stabilnega ^{127}I smo ovrednotili z uporabo standardnega referenčnega materiala NIST 1549 non-fat milk powder (Osterc in Stibilj, 2005). Za vsak vir smo določili oz. ovrednotili standardne negotovosti in s pomočjo programa GUM Workbench (Metrodata, 2005) izračunali prispevke posameznih virov k merilni negotovosti in kombinirano merilno negotovost.

3.5.3 Ugotavljanje privzema jodovih izotopov pri kvasovki *S. cerevisiae*

3.5.3.1 Aerobne submerzne kultivacije na stresalniku

Vse aerobne kultivacije smo izvedli z uporabo standardiziranega inokuluma. Tri dni staro kvasno biomaso smo s plošč, inkubiranih pri 28 °C, s cepilno zanko prenesli v 1000 mL erlenmajerico, ki je vsebovala 700 mL tekočega steriliziranega gojišča YNB brez aminokislin (za sestavo gojišča glej 3.5.1) do začetne optične gostote 0,20 ($\lambda = 650 \text{ nm}$). V 250 mL erlenmajerice s stransko roko smo s sterilnim merilnim valjem prelili 50 ml inokuliranega gojišča, in glede na poskus dodali še ustrezne volumne založnih raztopin KI, KIO_3 ali KIO_4 kot vir stabilnega joda, Na_2SeO_4 , K_2CrO_4 ali ZnCl_2 kot vir selenata, kromata in cinka ter delovnih raztopin ^{131}I ali ^{129}I v obliki jodida kot vir radioaktivnega joda. Kot kontrolni vzorec nam je služila 250 mL erlenmajerica z inokuliranim gojiščem brez dodatka založnih raztopin (Fujs, 2004).

Sledila je aerobna submerzna kultivacija na stresalniku pri temperaturi 28 °C in 250 vrt. min^{-1} . Rast kvasne biomase smo spremljali z merjenjem optične gostote pri 650 nm ob začetku poskusa in nato vsaki dve uri prvih 12 ur ter še s končno meritvijo po 24 urah. Za umerjanje spektrofotometra smo uporabili slepi vzorec, to je gojišče pred inokulacijo. Na osnovi dobljenih podatkov o optični gostoti posameznih vzorcev in o času kultivacije smo narisali rastne krivulje, to je odvisnost optične gostote od časa kultivacije (Raspor in sod., 2003).

Ob koncu poskusa, po 24 urah kultivacije, smo gojišče z namnoženo kvasno biomaso prelili v 50 mL centrifugirke (Falcon) ter jih 15 min centrifugirali pri 4000 vrt. min^{-1} . Odvzeli smo 20 mL supernatanta za določitev mase joda (^{127}I , ^{129}I in ^{131}I) ali selena ali kroma ali cinka (odvisno od poskusa), kvasno biomaso (oborino) pa sprali s 30 mL raztopine K_2HPO_4 koncentracije 0,015 mol L^{-1} . Po dodatku K_2HPO_4 smo oborino premešali na vibracijskem mešalu (Vortex) in po 15-minutnem centrifugiranju pri 4000 vrt. min^{-1} postopek še dvakrat ponovili. Sprani biomasi smo dodali 2 mL K_2HPO_4 (0,1 mol L^{-1}) in 1,5 mL K_2SO_3 (10 %),

premešali na vibracijskem mešalu ter 1 mL odpipetirali v stehtan tehtič in sušili v sušilniku do konstantne mase (105 °C, 3 ure) za določitev mase suhe biomase (Raspor in sod., 2003). Upoštevali smo prispevek K_2HPO_4 in K_2SO_3 k masi suhe biomase. Preostanek resuspendirane kvasne biomase smo shranili za določitev privzema joda (^{127}I , ^{129}I in ^{131}I) ali selena ali kroma ali cinka.

Vse rezultate privzema joda (^{127}I , ^{129}I in ^{131}I) ali selena ali kroma ali cinka smo preračunali na maso suhe biomase in rezultat predstavili kot maso privzetega elementa (izotopa)/g suhe biomase (Raspor in sod., 2003).

Aerobne submerzne kultivacije na stresalniku, merjenje optične gostote, določitev mase suhe biomase, določanje privzetega joda ali selena ali cinka ali kroma smo izvedli v več neodvisnih ponovitvah. Rezultate meritev smo podali kot povprečno vrednost ($\bar{X}$) (Adamič, 1989).

Izračun privzema dodanih elementov v gojišče med kultivacijo kvasovke smo izračunali po enačbi 10.

$$\text{Privzem}(\%) = \frac{C_k \cdot m_k \cdot 100}{C_g \cdot m_g} \quad \dots (10)$$

c_k – koncentracija akumuliranega elementa pri kvasovkah; m_k – masa suhe biomase; c_g – koncentracija elementa v gojišču; m_g – masa gojišča

Povezavo med maso radionuklida in njegovo aktivnostjo (število razpadov na časovno enoto [Bq]) podaja enačba 11. Uporabili smo jo za izračun specifične aktivnosti ^{129}I in ^{131}I v gojišču ali kvasni biomasi, ki je definirana kot število razpadov na časovno enoto na eno masno enoto izvora [Bq kg^{-1}]).

$$m = \frac{A_0 \cdot M \cdot T_{1/2}}{N_A \cdot \ln 2 \cdot m_v} \quad \dots (11)$$

m – masa radionuklida; A_0 – aktivnost radionuklida; M – atomska masa radionuklida; $T_{1/2}$ – razpolovni čas radionuklida; N_A – avogadrovo število; m_v – masa gojišča ali suhe biomase

3.5.3.2 Vpliv različnih jodovih spojin stabilnega izotopa na njegov privzem in na rast kvasovke

Kot vir stabilnega joda smo uporabili kalijev jodid (KI), kalijev jodat (KIO_3) in kalijev perjodat (KIO_4). Pripravili smo založne raztopine ustreznih koncentracij ter potrebne volumne le-teh dodali ob začetku poskusa v posamezne 250 mL erlenmajerice, ki so vsebovale 50 mL inokuliranega gojišča, da smo dosegli želeno začetno koncentracijo joda (preglednica 6).

Preglednica 6. Začetne koncentracije joda, prisotnega v različnih oblikah, v inokuliranem gojišču

Table 6. Initial concentrations of iodine, present as different sources, in the inoculated culture medium

KI			KIO ₃			KIO ₄		
C ₀ (I) ^a (mg g ⁻¹)	V ^b (μL)	C _z (I) ^c (mg L ⁻¹)	C ₀ (I) ^a (mg g ⁻¹)	V ^b (μL)	C _z (I) ^c (mg L ⁻¹)	C ₀ (I) ^a (mg g ⁻¹)	V ^b (μL)	C _z (I) ^c (mg L ⁻¹)
25	10	5	25	10	5	2,5	10	0,5
	20	10		20	10		20	1,0
	40	20		40	20		40	2,0
	100	50		100	50		100	5,0
	200	100		200	100		200	10,0
	400	200		400	200		400	20,0
	1000	500		1000	500		1000	50,0
400	125	1000	50	750	750			
	250	2000						
	375	3000						

^akoncentracija joda v raztopini na zalogi

^bvolumen dodatka raztopine na zalogi v inokulirano gojišče

^czačetna koncentracija joda v inokuliranem gojišču

Kultivacija je trajala 24 ur, nato smo določili maso suhe biomase ter v gojišču in kvasni biomasi določili vsebnost ^{127}I z INAA po postopku, opisanem v točki 3.4.2.1. V primerih, ko v kvasni biomasi zaradi nizke vsebnosti joda določitev z INAA ni bila mogoča, smo privzeti jod določili z metodo RNAA opisano v točki 3.4.2.2, saj je meja njene zaznavnosti nižja.

3.5.3.3 Specifičnost vezave za jod ob prisotnosti Se ali Zn ali Cr

Specifičnost vezave, privzema za jod pri kvasovki *S. cerevisiae*, smo preverjali v navzkrižnih poskusih ob prisotnosti selenata (Na_2SeO_3) ali cinka (ZnCl_2) ali kromata (K_2CrO_4). V 250 mL erlenmajerice smo prenesli 50 mL inokuliranega gojišča in izvedli dva sklopa poskusov. V prvem smo v inokulirano gojišče posamezno dodali samo $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ali $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v določenih koncentracijah (preglednica 7), v drugem smo poleg omenjenih elementov dodali KIO_3 z začetno koncentracijo $50 \mu\text{g I g}^{-1}$ inokuliranega gojišča.

Preglednica 7. Začetne koncentracije Se, Zn in Cr v posameznem inokuliranem gojišču

Table 7. Initial concentrations of Se, Zn and Cr in each inoculated culture medium

Na_2SeO_4		
$C_0(\text{Se})^a$ (mg g^{-1})	V^b (μL)	$C_z(\text{Se})^c$ (mg L^{-1})
50	50	50
	500	500
	1000	1000
ZnCl_2		
$C_0(\text{Zn})^a$ (mg g^{-1})	V^b (μL)	$C_z(\text{Zn})^c$ (mg L^{-1})
25	100	50
	200	100
	1000	500
K_2CrO_4		
$C_0(\text{Cr})^a$ (mg g^{-1})	V^b (μL)	$C_z(\text{Cr})^c$ (mg L^{-1})
2,6	50	2,6
	100	5,2
	500	26

^akoncentracija selena ali cinka ali kroma v raztopini na zalogi

^bvolumen dodatka raztopine na zalogi v inokulirano gojišče

^czačetna koncentracija selena ali cinka ali kroma v inokuliranem gojišču

Kultivacija je trajala 24 ur, nato smo določili maso suhe biomase ter v gojišču in kvasni biomasi določili vsebnost ^{127}I z INAA po postopku, opisanem v točki 3.4.2.1 (v primerih, ko smo v inokulirano gojišče dodali tudi jod v obliki KIO_3).

Na podoben način smo po 24 urah kultivacije v gojišču in kvasni biomasi določili tudi Se ali Zn ali Cr. V vrtiljaku reaktorja TRIGA Mark II smo pri fluenci termičnih nevtronov $1,1 \cdot 10^{12} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ sočasno obsevali gojišče oz. resuspendirano kvasno biomaso (1–2 g) in delovno standardno raztopino (1–2 g) Se ali Zn ali Cr. Delovne raztopine s koncentracijami v območju od 100–500 $\mu\text{g g}^{-1}$ smo pripravili z razredčitvijo originalnih raztopin Se, Zn in Cr (Merck, koncentracija 1 mg g^{-1}). Vzorec in delovno raztopino smo zatalili v polietilenski ampuli, ju namestili v aluminijasti zajček in 20 ur obsevali v vrtiljaku. Po obsevanju smo vzorec »hladili«, da se je akumulirana doza sevanja zmanjšala, in izvedli direktno merjenje ^{75}Se , ^{65}Zn in ^{51}Cr , – nedestruktivna metoda INAA. Pod vplivom termičnih nevtronov so se pri naslednjih jedrskih reakcijah inducirali $^{74}\text{Se}(\text{n}, \gamma)^{75}\text{Se}$, $T_{1/2} = 119,79 \text{ dni}$, $E_{\gamma} = 264,7 \text{ keV}$; $^{64}\text{Zn}(\text{n}, \gamma)^{65}\text{Zn}$, $T_{1/2} = 243,66 \text{ dni}$, $E_{\gamma} = 1115,5 \text{ keV}$ in $^{50}\text{Cr}(\text{n}, \gamma)^{51}\text{Cr}$, $T_{1/2} = 27,7 \text{ dni}$, $E_{\gamma} = 320,1 \text{ keV}$, tako v vzorcu kot v delovni raztopini. Meritev γ aktivnosti obsevanega vzorca in delovne raztopine smo izvedli na koaksialnem detektorju HPGe.

3.5.3.4 Določitev privzema ^{131}I in privzetega izotopskega deleža $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$

Pripravili smo raztopino ^{131}I v kalijevem hidrogenfosfatnem pufru ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), ki smo mu dodali kalijev jodid (KI), tako da je bila koncentracija stabilnega ^{127}I 1 mg g^{-1} raztopine. Uporabili smo najvišjo možno aktivnost sledilca ^{131}I . Celotna doza izvzetja za ^{131}I je 10^6 Bq (Uradni list RS, 2004). Poskus smo izvedli v 250 mL erlenmajerici, v katero smo z merilnim valjem odmerili 50 mL inokuliranega gojišča in dodali 1 mL pripravljene raztopine ^{131}I ter raztopino kalijevega jodida kot vir stabilnega joda, tako da je bila začetna koncentracija ^{127}I v inokuliranem gojišču 100 $\mu\text{g g}^{-1}$. Kultivacija je trajala 24 ur, nato smo določili maso suhe biomase ter direktno izmerili γ aktivnost ^{131}I ($T_{1/2} = 8,02 \text{ dni}$, $E_{\gamma} = 364,5 \text{ keV}$) v gojišču ter privzem pri kvasni biomasi. Meritev smo primerjali z γ aktivnostjo ^{131}I raztopine, ki smo jo k inokuliranemu gojišču dodali na začetku. Določili smo tudi vsebnost ^{127}I v gojišču ob koncu kultivacije ter njegov privzem pri kvasni biomasi z metodo INAA.

3.5.3.5 Določitev časovne odvisnosti privzema ^{127}I in ^{129}I ter privzetega izotopskega deleža $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$

V 250 mL erlenmajerico smo z merilnim valjem odmerili 48 mL inokuliranega gojišča ter dodali 2 mL ^{129}I raztopine (LEA Cerca, $A = 420 \text{ Bq g}^{-1}$). To je najvišja možna koncentracija (aktivnost) ^{129}I v gojišču, ker bi v primeru, če bi dodali več raztopine ^{129}I , spremenili koncentracijo mikro in makro elementov, ki so prisotni v gojišču in so potrebni za normalno rast kvasovk. Kot vir stabilnega joda smo dodali raztopino kalijevega jodida, tako da je bila začetna koncentracija ^{127}I v gojišču $100 \mu\text{g g}^{-1}$. Poskus smo spremljali 24 ur, in sicer smo prvih 12 ur vzorčenje opravili vsaki 2 uri in nato še končno vzorčenje po 24 urah kultivacije. Ob vsakem vzorčenju smo vsebino dveh erlenmajeric prenesli v 50 mL centrifugirko (Falcon) ter 15 minut centrifugirali pri $4000 \text{ vrt. min}^{-1}$. Supernatant smo shranili, kvasno biomaso pa trikrat sprali s 30 mL K_2HPO_4 ($0,015 \text{ mol L}^{-1}$) z vmesnim 15-minutnim centrifugiranjem pri $4000 \text{ vrt. min}^{-1}$. Sprano kvasno biomaso smo resuspendirali z dodatkom 2 mL K_2HPO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) in 1,5 mL K_2SO_3 (10 %).

Za določitev mase suhe biomase smo uporabili 1 mL resuspendirane kvasne biomase, v preostali pa smo določili privzem ^{127}I in ^{129}I .

V supernatantu (gojišču) in sprani kvasni biomasi smo določili vsebnost ^{127}I z metodo, opisano v točki 3.4.2.1.

^{129}I v gojišču smo določili z direktno γ -X spektrometrijo, opisano v točki 3.4.1.2. Privzem ^{129}I pri kvasni biomasi smo določili tako, da smo alikvot resuspendirane kvasne biomase posušili z liofiliziranjem pri $-54 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 ur (Christ Alpha 1-4, LOC-1 liofilizator). Posušeno kvasno biomaso smo kvantitativno prenesli v kvarčno ampulo, jo zatalili ter obsevali skupaj s posušeno delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v F obroču reaktorja Triga Mark II. Po obsevanju smo izvedli radiokemijsko separiranje in merjenje γ aktivnosti induciranih jodovih izotopov po postopku, opisanem v točki 3.4.1.1.4.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 RAZVOJ METODE RNAA ZA DOLOČITEV ^{129}I

Določitev ^{129}I z radiokemijsko nevtronsko aktivacijsko analizo poteka v štirih glavnih korakih, ki smo jih optimizirali, da bi dosegli dovolj nizko mejo zaznavnosti metode, saj je vsebnost ^{129}I v okoljskih vzorcih reda velikosti 10^{-8} – 10^{-10} $\mu\text{g g}^{-1}$. Razvili in optimizirali smo razkroj vzorca v alkalni talini (KOH) za posamezno matrico proučevanih okoljskih vzorcev (tla, smrekove iglice, morski sediment in morske alge) ter določili ustrezno razmerje vzorec : KOH in pogoje razkroja, to je postopno dvigovanje temperature in čas zadrževanja ob določeni temperaturi. Sledila je nevtralizacija taline vzorca, nato smo jodid oksidirali z NaNO_2 in ga v toku dušika adsorbirali na aktivnem oglju. Optimizirali smo parametre, ki vplivajo na adsorpcijo joda na aktivno oglje, to je pretok dušika, maso aktivnega oglja in trajanje procesa adsorpcije. Predsepariranju joda je sledilo obsevanje vzorca, to je aktivnega oglja, z adsorbiranim jodom in delovne raztopine ^{129}I . Izbrali smo ustrezno aktivno oglje glede na njegovo sestavo, saj le-ta vpliva na moteče jedrske reakcije, in oglje čistili z različnimi postopki ter proučili primerne pogoje obsevanja. Sledilo je hitro separiranje joda po obsevanju s solventno ekstrakcijo v CHCl_3 (CCl_4) ter merjenje γ aktivnosti induciranih radionuklidov na primernem detektorju HPGe.

4.1.1 Predsepariranje joda in adsorpcija na aktivnem oglju

Optimalne pogoje za predsepariranje joda smo proučevali z uporabo delovne raztopine ^{131}I , ki je služila kot sledilec. Dodali smo jo k vzorcu, kar nam je omogočilo določitev kemijskega izkoristka za vsako stopnjo predsepariranja. K stabilnemu izotopu ^{127}I smo dodali znano množino radioaktivnega sledilca ^{131}I ter z merjenjem njegove aktivnosti v vsaki stopnji analiznega postopka dobili točno informacijo o obnašanju neaktivne oblike elementa, pri pogoju, da sta bila sledilec in neaktivna oblika elementa v isti kemijski obliki.

Raziskovali smo dva postopka: ciklični sežig vzorca v Schönigerjevi buči, ker je čas sežiga kratek – 20 minut, in razkroj v alkalni talini.

Ključna pomanjkljivost sežiga v Schönigerjevi buči je, da smo omejeni z maso vzorca, ki jo lahko sežgemo. Tako lahko naenkrat sežgemo približno 500 mg vzorca. Maso vzorca smo povečali s cikličnim sežigom, to je v isti Schönigerjevi buči smo sežig ponovili dvajsetkrat in tako sežgali do 10 g vzorca. Po vsakem sežigu smo počakali, da se je jod absorbiral v reducirajoči raztopini, Na_2SO_3 (10 %) in H_2SO_4 (0,05 mol L^{-1}). Nato smo jod oksidirali z dodatkom NaNO_2 (10 %) ter ga v toku dušika adsorbirali na aktivno oglje. Spreminjali smo pretoke dušika in čas adsorpcije, da bi povečali izkoristek metode, vendar le-ta ni bil nikoli večji kot 50 % in masa vzorca je bila zgolj 10 g. Ob povečevanju števila ciklov sežiga se je kemijski izkoristek še bolj zmanjševal, zato smo razvoj tega postopka opustili in se posvetili razkroju vzorca v alkalni talini.

Pri iskanju optimalnih pogojev za predsepariranje joda z razkrojem v alkalni talini (KOH) smo uporabili 10 g referenčnega materiala IAEA-375 Soil. Za to matrico (tla) smo se odločili zaradi njene sestave, ker vsebuje ~20 % Si oz. silikatov. Empirično smo določili potrebno razmerje med maso vzorca in KOH ter pogoje razkroja. Rezultati so zbrani v preglednici 8.

Preglednica 8. Optimalni pogoji za predsepariranje joda iz tal (IAEA-375 Soil) z razkrojem v alkalni talini (KOH) in adsorpcijo na aktivno oglje

Table 8. Results and optimal conditions for pre-separation of iodine from soil (IAEA-375 Soil) with decomposition in alkaline fusion (KOH) and adsorption on activated charcoal

Parametri	Raziskovano območje	Izkoristek η (%)	Optimalni pogoji
razmerje vzorec : KOH	1 : 2 1 : 3 1 : 4 1 : 5 1 : 6	40 ± 7 87 ± 5 88 ± 5 88 ± 5 88 ± 5	1 : 3
pogoji razkroja	grelna plošča: 25°C, 24 h 70–80 °C, 24 h 70–80 °C, 48 h		70–80 °C, 24 h
	termoblok: 100–350 °C, 24–60 h		150 °C, 12 h 240 °C, 24 h 350 °C, 12 h
	žarilna peč: 560 °C, 4 h 600 °C, 4 h	72 ± 4 87 ± 5	600 °C, 4 h
pretok dušika (mL min ⁻¹)	8 10 12 15	70 ± 5 85 ± 4 97 ± 2 89 ± 6	12
vpliv mase aktivnega oglja na kemijski izkoristek	masa (mg) 100 150 200 250 300	70 ± 5 81 ± 4 89 ± 2 97 ± 2 97 ± 2	250
trajanje procesa adsorpcije (min)	45 60 75	80 ± 5 97 ± 2 93 ± 5	60

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD treh neodvisnih ponovitev.

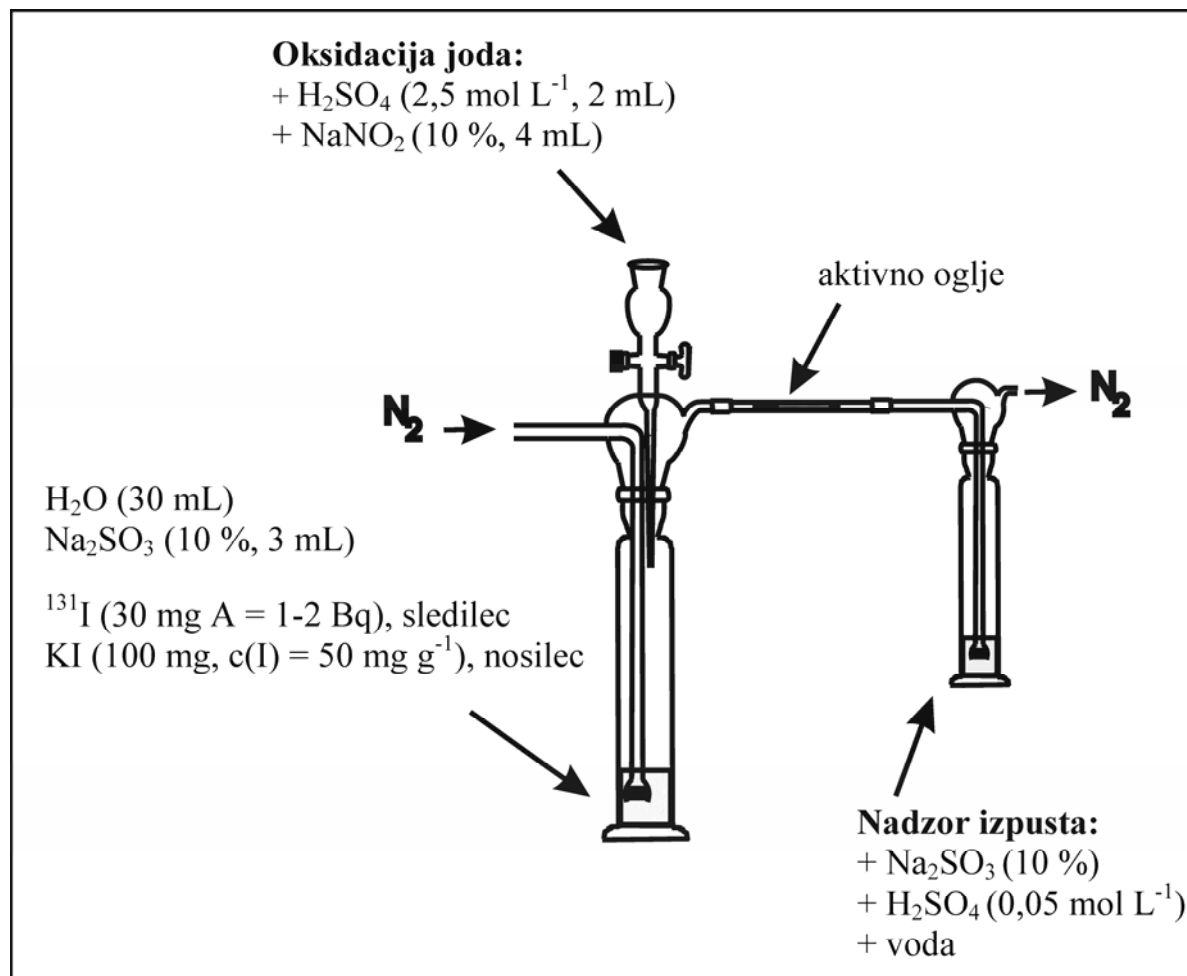
Določili smo tudi optimalne pogoje za razkroj vzorcev z različno matrico (morski sediment in alge ter smrekove iglice) v alkalni talini (KOH).

Ugotovili smo, da je potrebno pri morskem sedimentu enako razmerje vzorec : KOH kot pri tleh (1 : 3); pri morskih algah se je zaradi večjega deleža organskih snovi to razmerje povečalo na 1 : 4, pri smrekovih iglicah pa zaradi prisotnosti večje množine maščob, eteričnih olj in voska na 1 : 6.

Razkroj vzorca moramo voditi tako, da se razgradijo vse organske komponente, ki so prisotne v vzorcu. V nasprotnem primeru nerazgrajene organske komponente vzorca pri segrevanju do 600 °C (žarilna peč) pooglenijo. Razkroj vzorca je uspešen takrat, kadar je alkalni preostanek vzorca bele do svetlo modre barve brez »oglja«, ki je črne barve. To je bilo tudi merilo za uspešno razgradnjo vzorca pri iskanju optimalnih pogojev. Pogoje smo spreminjali toliko časa, dokler ni prišlo do pooglenitve.

Glavna prednost razkroja vzorca v alkalni talini je masa vzorca, ki jo lahko razkrojimo (do 150 g). Po razkroju smo alkalni preostanek vzorca nevtralizirali. Za nevtralizacijo smo testirali primernost dveh kislin H_2SO_4 (96 %) in HNO_3 (65 %) ob dodatku Na_2SO_3 (10 %), da smo preprečili izgube joda. Ugotovili smo, da je imela H_2SO_4 (96 %) v primerjavi s HNO_3 (65 %) dve prednosti: ne prihaja do tvorbe dušikovih oksidov (plinov), ki so toksični, in poraba H_2SO_4 je manjša, čeprav je v literaturi zaslediti uporabo HNO_3 za nevtralizacijo alkalne taline (Hou in sod, 1999).

Razkroju vzorca v alkalni talini je sledila adsorpcija joda, in sicer v toku dušika, na aktivno oglje. Eksperimentalno smo iskali optimalne pogoje za izpihovanje joda iz kisle raztopine. V sistem za izpihovanje joda smo v izpihovalko dali destilirano vodo (30 mL), 3 mL Na_2SO_3 (10 %), raztopino sledilca ^{131}I (20–30 mg, $A = 1\text{--}2\text{ Bq}$) in nosilec v obliki kalijevega jodida (100 mg, raztopina KI v 5 % raztopini NH_3 s koncentracijo 50 mg I g $^{-1}$), da bi zagotovili ponovljive razmere eksperimenta. Jodid smo oksidirali z dodatkom 4 mL NaNO_2 (10 %) in 2 mL H_2SO_4 (2,5 mol L $^{-1}$), ga izpihali v toku dušika in adsorbirali na aktivnem oglju (slika 18).



Slika 18. Shematski prikaz adsorpcije joda na aktivnem oglju

Figure 18. Scheme of iodine adsorption on activated charcoal

Spreminjali smo pretok dušika v območju od 8 do 15 mL min^{-1} , maso aktivnega oglja v območju od 100–300 mg, trajanje izpihovanja v območju od 45–75 min ter razmerje med volumnom vzorca in volumnom izpihovalke. Rezultati so zbrani v preglednici 8.

Največje izkoristke adsorpcije joda na oglje smo dosegli po 60 minutah izpihovanja pri pretoku dušika 12 mL min^{-1} , z uporabo 250 mg oglja in kadar je bilo razmerje med volumnom vzorca (vodna raztopine jodida) in volumnom izpihovalke 1 : 3.

Poskuse z ^{131}I sledilcem smo ponovili tudi na razkrojenem, nevtraliziranem vzorcu. Po razkroju, nevtralizaciji in dodatku NaNO_2 (10 %) smo hoteli jod adsorbirati direktno iz nevtralizirane raztopine v toku dušika na aktivnem oglju. Preverjali smo, ali se ob jodu na aktivno oglje vežejo tudi drugi elementi, ki bi lahko vplivali na velikost doze po obsevanju oglja v reaktorju, saj so bili v razkrojenem vzorcu prisotni tudi drugi elementi, ne samo jod. Preverjali smo motnje As, Br, Cl in Sb. Izvedli smo eksperiment, pri katerem smo v posamezno izpihovalko (slika 18) razen ^{131}I in jodovega nosilca dodali tudi sledilce in nosilce arzena, broma, klora in antimona (preglednica 9), ter v prisotnosti teh elementov jod izpihali na aktivno oglje.

Preglednica 9. Koncentracije sledilcev in nosilcev za proučevanje interferenc pri vezavi joda na aktivno oglje

Table 9. Tracer and carrier concentrations used to study interferences for iodine adsorption on activated charcoal

Element	Vir	Koncentracija nosilca ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Jedrska reakcija nastanka sledilca	Koncentracija sledilca ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
As	As_2O_3	50	$^{75}\text{As}(\text{n}, \gamma)^{76}\text{As}$, 559,1 keV	10
Br	NaBr	60	$^{81}\text{Br}(\text{n}, \gamma)^{82}\text{Br}$, 776,5 keV	20
Cl	NaCl	60	$^{37}\text{Cl}(\text{n}, \gamma)^{38}\text{Cl}$, 1642,4 keV	50
Sb	Sb_2O_3	50	$^{121}\text{Sb}(\text{n}, \gamma)^{122}\text{Sb}$, 564,1 keV	20

Raztopine sledilcev smo pripravili sami z obsevanjem raztopin As, Br, Cl in Sb v reaktorju TRIGA Mark II.

As, Sb in Cl se niso adsorbirali na aktivno oglje, nanj se je adsorbiral le ^{131}I z izkoristkom 98 ± 1 %. Samo v primeru broma se je 1–2 % Br ($20 \mu\text{g g}^{-1}$) adsorbiralo na aktivnem oglju, vendar brez vpliva na adsorpcijo ^{131}I , saj se ga je adsorbiralo 97 ± 2 %.

Kljub temu da ni prihajalo do interferenc pri vezavi joda iz kisle raztopine na aktivno oglje, direktna adsorpcije joda ni bila praktična. Raztopina je bila pregosta (zaradi K_2SO_4) in že po desetih minutah je prihajalo do zamašitve frite. Zato smo raztopino prenesli v lij ločnik (1 L), jodid oksidirali z $\text{NaNO}_2 / \text{H}_2\text{SO}_4$ in I_2 ekstrahirali s CHCl_3 (CCl_4). Nato smo jod ekstrahirali v vodno fazo z Na_2SO_3 .

Pomembna je bila tudi priprava aktivnega oglja v pasti za adsorpcijo joda. Odtehtali smo 250 mg oglja, ga dali v kvarčno past (prirejena cev) in zatesnili s kvarčno volno. Tako pripravljeno past smo pretresli na vibracijskem stresalniku, da so se delci oglja enakomerno razporedili. Adsorpcija joda (sledilca ^{131}I) je bila v območju med 95 in 99 %.

4.1.2 Optimizacija obsevanja vzorca in delovne raztopine

Pri izbiri ustreznih razmer obsevanja smo izboljšali varnost dela z obsevanim vzorcem in standardom. Sledili smo načelu ALARA (angl.: As Low As Reasonably Achievable – tako nizko, kot je to dosegljivo na smiseln način), kar pomeni, da naj bo dejanska izpostavitvev analitika obsevanju čim nižja.

Eksperimentalno smo določili trajanje obsevanja in fluenco nevtronov, tako da je bila aktivnost obsevanega vzorca čim nižja in da smo hkrati dosegli dovolj veliko indukcijo ^{130}I pri jedrski reakciji $^{129}\text{I}(n,\gamma)^{130}\text{I}$, saj je absorpcijski presek ^{129}I za termične nevtrone 9 barnov.

Uporaba aktivnega oglja kot »nosilca« za obsevanje joda, separiranega iz razkrojenega vzorca, je bila potrebna zaradi že omenjene omejenosti volumna vzorca, ki ga lahko obsevamo – velikost nosilca za obsevanje vzorca (aluminijasti zajček) je omejena. Priporočljivo je tudi, da vzorec obsevamo v trdnem agregatnem stanju, saj med obsevanjem prihaja do tvorbe radiolitskih plinov, ki povečujejo pritisk v kvarčni ampuli. Pri vzorcih v trdnem agregatnem stanju je tvorba radiolitskih plinov med obsevanjem v primerjavi z vzorci, ki so v tekočem agregatnem stanju močno zmanjšana.

Zato smo tudi delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ posušili in pripravili v trdnem agregatnem stanju (točka 3.4.1.1.2). Morebitne izgube joda med sušenjem delovne raztopine $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ smo preverili s poskusom, pri katerem smo uporabili raztopino sledilca ^{131}I , in opazili nismo nobenih izgub.

4.1.2.1 Izbira aktivnega oglja

Vzorec, v katerem smo določali ^{129}I , smo razkrojili v alkalni talini in jod adsorbirali na aktivno oglje, ki smo ga obsevali v reaktorju TRIGA Mark II. Elementi, prisotni v aktivnem oglju, vplivajo na nukleogene (U, Cs in Te) in na spektroskopske (Br, Na, in K) moteče jedrske reakcije.

Treba je bilo poiskati aktivno oglje, ki vsebuje elemente v sledovih, predvsem Br, Na, K, Cs, Te in U. Z metodo k_0 -INAA (Jaćimović in sod., 2003b) smo določili kemijsko sestavo štirih različnih vzorcev aktivnega oglja (preglednica 10): MERCK 2514, oglje, namenjeno za živilsko industrijo; MERCK 9624, oglje, namenjeno za plinsko kromatografijo; SIGMA Darco, oglje, čiščeno s kislinami in namenjeno splošni uporabi, in BDH, oglje namenjeno za plinsko absorpcijo.

Preglednica 10. Kemijska sestava različnih vrst aktivnega oglja, analiziranih z metodo k_0 -INAA**Table 10.** Chemical composition of different activated charcoals determined by k_0 -INAA method

	Merck 9624	Merck 2514	Sigma Darco 242241	BDH
Element	Vsebnost ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Vsebnost ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Vsebnost ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Vsebnost ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ag	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
As	$7,7 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,1$	$11,0 \pm 0,4$	$24,7 \pm 0,9$
Au	< 0,001	< 0,001	$0,006 \pm 0,001$	< 0,001
Ba	$99,4 \pm 4,9$	$38,1 \pm 1,7$	$502,0 \pm 18,0$	$287,0 \pm 10,0$
Br	< 0,3	$1,5 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,2$
Ca	1500 ± 203	< 938	1553 ± 199	3157 ± 249
Cd	< 0,54	< 0,60	< 1,06	< 0,71
Ce	$14,7 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,3$	$10,9 \pm 0,4$
Co	$19,2 \pm 0,7$	$5,9 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,2$	$5,4 \pm 0,2$
Cr	$12,0 \pm 0,5$	$11,2 \pm 0,4$	$17,7 \pm 0,8$	$18,7 \pm 0,7$
Cs	$0,53 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,02$	$0,23 \pm 0,01$
Cu	< 50	< 50	< 259	< 101
Eu	$0,42 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,03$
Fe	3893 ± 138	936 ± 33	1490 ± 53	16904 ± 592
Ga	$5,7 \pm 0,3$	$6,2 \pm 0,2$	$9,0 \pm 0,8$	$2,9 \pm 0,4$
Hf	$0,51 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,02$	$1,95 \pm 0,07$	< 0,32
Hg	< 0,07	< 0,40	< 0,32	< 0,07
In	< 0,43	< 0,40	< 0,40	< 0,49
K	1110 ± 47	578 ± 21	518 ± 92	819 ± 64
La	$6,9 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$	$3,6 \pm 0,1$	$6,1 \pm 0,2$
Mo	$2,3 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1$	$13,3 \pm 0,7$	$4,6 \pm 0,2$
Na	486 ± 17	285 ± 10	2562 ± 90	1975 ± 69
Nd	$8,3 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$	$5,7 \pm 0,5$
Rb	$6,8 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,4$
Sb	$2,0 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$
Sc	$3,9 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$4,8 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,1$
Se	$3,1 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,1$	$34,2 \pm 1,2$	$2,0 \pm 0,1$
Sm	$1,8 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$
Sr	$130,0 \pm 6,0$	$36,6 \pm 3,8$	$107,0 \pm 7,0$	$177,0 \pm 8,0$
Ta	$0,13 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01$
Tb	$0,30 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,01$
Te	< 0,10	< 0,20	< 0,10	< 0,10
Th	$1,92 \pm 0,07$	$0,74 \pm 0,03$	$5,73 \pm 0,20$	$1,36 \pm 0,05$
U	$1,50 \pm 0,05$	$1,16 \pm 0,04$	$5,73 \pm 0,21$	$0,51 \pm 0,02$
W	$0,81 \pm 0,05$	$1,42 \pm 0,05$	$2,61 \pm 0,14$	$0,69 \pm 0,15$
Yb	$1,13 \pm 0,06$	$0,26 \pm 0,01$	$0,59 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,02$
Zn	< 1,80	< 0,40	$1,38 \pm 0,30$	$24,30 \pm 1,00$
Zr	< 24,0	< 25,0	$81,4 \pm 9,5$	< 19,0

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih ponovitev.

Sigma Darco[®] in BDH imata previsoko vsebnost natrija, od preostalih dveh pa MERCK 9624 ne vsebuje broma in ima ugodno granulacijo v primerjavi z aktivnim ogljem MERCK 2514, zato smo oglje MERCK 9624 (Darmstadt) uporabili za adsorpcijo joda.

Izbrano oglje je vsebovalo tudi sledove urana in cezija (preglednica 10), ki lahko povzročita nukleogene moteče jedrske reakcije. Vsebnost urana in cezija smo poskušali zmanjšati s čiščenjem oglja z naslednjimi postopki:

- z uporabo različnih kislin: HCl ($1\text{--}6\text{ mol L}^{-1}$), HNO₃ ($1\text{--}14\text{ mol L}^{-1}$) in CH₃COOH ($1\text{--}16\text{ mol L}^{-1}$); v plastično centrifugirko (Falcon, 50 mL) smo odtehtali 2 g aktivnega oglja in dodali 30 mL kisline; oglje smo dali na horizontalni stresalnik in ga stresali 24 ur; postopek čiščenja smo ponovili trikrat; oglje smo nato sprali z destilirano vodo in ga posušili pri 110 °C;
- s segrevanjem v dušikovi atmosferi pri 900 °C,
- s postopkom, kot so ga opisali Izgi in sod. (2006); oglje smo najprej čistili s koncentrirano HCl in ga med mešanjem na magnetnem mešalu segreli do vrenja; postopek je trajal tri ure, nato smo oglje sprali z destilirano vodo in posušili; oglje smo nato prelili z zlatotopko (HCl-HNO₃, 3:1) in mešali nadaljnjih 24 ur; sledila je filtracija oglja, potem smo ga sprali z destilirano vodo in posušili pri 110 °C.

Rezultati čiščenja oglja so zbrani v preglednici 11.

Preglednica 11. Vsebnost elementov v aktivnem oglju MERCK 9624 določenih po čiščenju oglja z različnimi postopki, s k_0 -INAA

Table 11. Content of elements in activated charcoal MERCK 9624 determined after cleaning the charcoal by different procedures obtained by k_0 -INAA

Postopek čiščenja		Vsebnost elementov ($\mu\text{g g}^{-1}$)				
		Br	K	Na	Cs	U
Brez čiščenja		< 0,25	1110 $\pm$ 47	486 $\pm$ 17	0,53 $\pm$ 0,02	1,50 $\pm$ 0,05
Kislina	C(mol L ⁻¹)					
HCl	1	1,68 $\pm$ 0,06	1290 $\pm$ 179*	422 $\pm$ 15*	0,60 $\pm$ 0,03*	0,69 $\pm$ 0,02
	2	2,13 $\pm$ 0,08				0,66 $\pm$ 0,03
	3	2,43 $\pm$ 0,09				0,72 $\pm$ 0,03
	4	2,89 $\pm$ 0,10				0,83 $\pm$ 0,03
	5	3,05 $\pm$ 0,11				0,97 $\pm$ 0,04
	6	3,74 $\pm$ 0,14				1,10 $\pm$ 0,05
	9	16,2 $\pm$ 0,6				0,69 $\pm$ 0,03
HNO ₃	1	< 0,25	1070 $\pm$ 58*	385 $\pm$ 14*	0,54 $\pm$ 0,02*	0,80 $\pm$ 0,03
	3	< 0,25				0,76 $\pm$ 0,03
	6	0,34 $\pm$ 0,05				0,65 $\pm$ 0,02
	8	0,30 $\pm$ 0,05				0,65 $\pm$ 0,02
	10	0,53 $\pm$ 0,02				0,60 $\pm$ 0,02
	12	0,27 $\pm$ 0,02				0,61 $\pm$ 0,02
	14	0,84 $\pm$ 0,04				0,63 $\pm$ 0,02
CH ₃ -COOH	1	0,60 $\pm$ 0,03	1203 $\pm$ 71*	423 $\pm$ 15*	0,60 $\pm$ 0,03*	1,57 $\pm$ 0,06
	2	1,35 $\pm$ 0,05				1,54 $\pm$ 0,06
	4	0,72 $\pm$ 0,03				1,48 $\pm$ 0,05
	6	0,60 $\pm$ 0,03				1,39 $\pm$ 0,05
	8	0,25 $\pm$ 0,03				1,33 $\pm$ 0,05
	10	0,35 $\pm$ 0,03				1,30 $\pm$ 0,05
	12	0,31 $\pm$ 0,03				1,26 $\pm$ 0,05
	14	0,55 $\pm$ 0,03				1,32 $\pm$ 0,06
Segrevanje pri 900 °C		< 0,25	1185 $\pm$ 45	446 $\pm$ 16	0,58 $\pm$ 0,02	1,48 $\pm$ 0,05
HCl/zlatotopka		3,74 $\pm$ 0,13	1165 $\pm$ 61	351 $\pm$ 13	0,55 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,02

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD treh neodvisnih ponovitev.

* povprečna vrednost; učinek različnih koncentracij uporabljenih kislin se ni bistveno razlikoval

Iz preglednice 11 je razvidno, da se koncentraciji natrija in kalija nista bistveno zmanjšali. Sam postopek čiščenja (sledovi broma v raztopinah kislin) je oglje »obogatilo« z bromom, saj ga le-to prej ni vsebovalo, vendar so koncentracije minimalne, od 0,25 do 3,74 $\mu\text{g g}^{-1}$. Tudi delež cezija je ostal nespremenjen, ne glede na uporabljeni postopek čiščenja. Ocetna kislina in segrevanje oglja pri 900 °C v atmosferi dušika nista zmanjšala vsebnosti urana. S

postopkom, pri katerem smo uporabili zlatotopko (Izgi in sod., 2006), smo vsebnost urana zmanjšali na $0,54 \mu\text{g g}^{-1}$ (za 64 %), s HCl (1 mol L^{-1}) na $0,69 \mu\text{g g}^{-1}$ (za 54 %) in s HNO_3 (10 mol L^{-1}) na $0,60 \mu\text{g g}^{-1}$ (za 60 %). Na podlagi dobljenih rezultatov smo se odločili, da je za čiščenje oglja najprimerneje uporabiti HCl (1 mol L^{-1}), saj tako dosežemo bolj zadovoljivo čiščenje oglja kot pri HNO_3 in zlatotopki.

4.1.2.2 Izbira pogojev obsevanja in proučevanje motečih reakcij

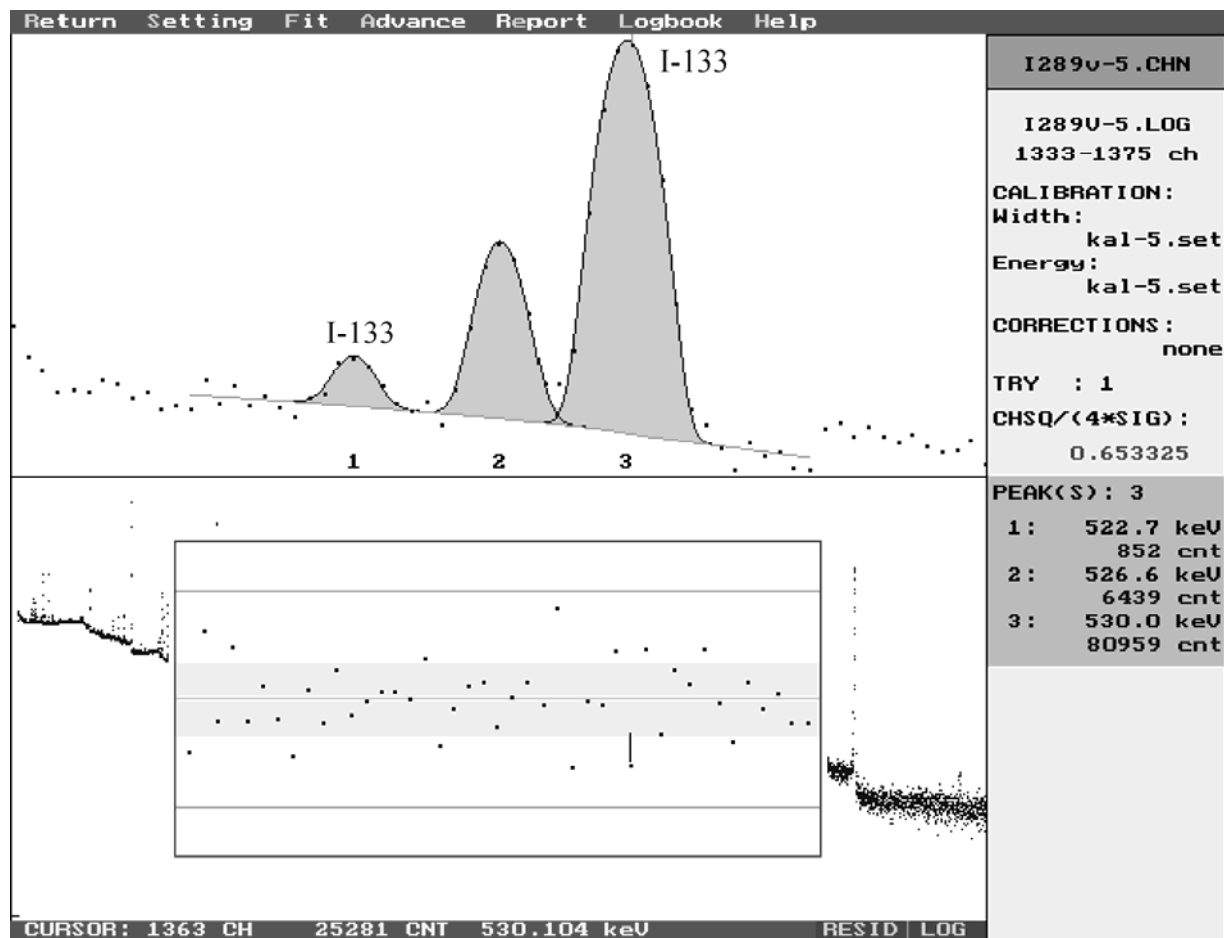
Trajanje obsevanja je odvisno od razpolovne dobe hčerinskega radionuklida in od njegove pričakovane koncentracije v vzorcu. Vzorce je smiselno obsevati največ toliko časa, kolikor znaša njihova razpolovna doba, saj se s podaljševanjem obsevanja povečuje akumulirana doza (aktivnost), s tem pa se podaljšuje tudi čas hlajenja, ki je potreben za zmanjšanje aktivnosti vzorca na varno raven, da lahko potem ravnamo z njim. Število induciranih jeder merjenega radioizotopa pa se bistveno ne povečuje, saj že med samim obsevanjem razpadajo.

Razpolovna doba ^{130}I , ki nastane po indukciji ^{129}I s termičnimi nevtroni $^{129}\text{I}(n, \gamma)^{130}\text{I}$, je 12,36 ur. Vzorce je zato smiselno obsevati nekje do 15 ur.

Primerni poziciji za obsevanje vzorcev in delovnih standardov v reaktorju TRIGA Mark II sta F obroč s fluenco termičnih nevtronov $3,5 \cdot 10^{12} \text{ n}\cdot\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ in s fluenco hitrih nevtronov $1,2 \cdot 10^{12} \text{ n}\cdot\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ter centralni kanal s fluencama hitrih in termičnih nevtronov $1 \cdot 10^{13} \text{ n}\cdot\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Pri izbiri obsevalnih pogojev smo sledili principu ALARA.

Vpliv matrice aktivnega oglja (moteče in nezaželenе jedrske reakcije) smo proučevali tako, da smo očiščeno oglje (MERCK 9624) obsevali v centralnem kanalu in F obroču (dve poziciji – F15 in F19) reaktorja TRIGA Mark II. V kvarčno ampulo smo zatalili aktivno oglje in ga 15 ur obsevali skupaj s kvarčno ampulo, ki je vsebovala zataljeno delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$. Oglje smo nato sežgali ter naredili radiokemijsko separiranje induciranih jodovih izotopov po

postopku, opisanem v točki 3.4.1.1.4, in izmerili njihovo aktivnost na germanijevem detektorju visoke čistoče (HPGe). Koncentracija ^{130}I je bila pod mejo zaznavnosti ($5 \cdot 10^{-14} \text{ g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ vzorca), zato je tvorba ^{130}I iz sledov urana in cezija, ki ostanejo po čiščenju oglja, pod mejo zaznavnosti metode, saj na sliki 19 ni prisotnega vrha pri 536 keV.



Slika 19. γ spekter ^{133}I po separiranju RNAA očiščenega oglja MERCK 9624, obsevanega v centralnem kanalu reaktorja TRIGA Mark II

Figure 19. γ spectra of ^{133}I after RNAA separation of cleaned MERCK 9624 charcoal irradiated in the central channel of the TRIGA Mark II reactor

Opazili smo tvorbo ^{133}I ($T_{1/2} = 20,8$ h, $E_{\gamma} = 529,9$ keV) in ^{131}I ($T_{1/2} = 8,0207$ dni, $E_{\gamma} = 364,5$ keV), ki nastaneta iz urana s fisijskimi reakcijami: $^{235}\text{U}(n,f)^{131}\text{I}$ in $^{235}\text{U}(n,f)^{133}\text{I}$ (preglednica 12).

Preglednica 12. ^{133}I in ^{131}I , inducirana iz urana, prisotnega v očiščenem aktivnem oglju, med obsevanjem v centralnem kanalu in v F obroču (pozicija F15 in F19) reaktorja TRIGA Mark II

Table 12. Radionuclides ^{133}I and ^{131}I induced from uranium, present in cleaned activated charcoal, during irradiation in the central channel and F ring (F15 and F19 positions) of the TRIGA Mark II reactor

Masa aktivnega oglja (g)	Čas merjenja (s)	¹³¹ I ^a	¹³³ I ^b	¹³¹ I ^a	¹³³ I ^b	¹³³ I/ ¹³¹ I
		Površina vrha		Specifična aktivnost (sunki s ⁻¹ g ⁻¹)		Razmerje
Centralni kanal						
0,1692	2000	2289	29997	6.76	88.64	13.11
0,1754		2366	32057	6.75	91.38	13.54
0,1867		2492	33321	6.67	89.24	13.38
F obroč (pozicija F15)						
0,2498	36000	9115	125492	1.01	13.95	13.77
0,2532		9636	130752	1.06	14.34	13.57
0,2516		9416	127461	1.04	14.07	13.54
F obroč (pozicija F19)						
0,2568	36000	10008	137689	1.08	14.89	13.76
0,2487		12038	164012	1.34	18.32	13.62
0,2506		11940	157439	1.32	17.45	13.19

$^a E_{\gamma} = 364,5$ keV

$^b E_{\gamma} = 529,9$ keV

Iz preglednice 12 je razvidno rahlo nihanje razmerij $^{133}\text{I}/^{131}\text{I}$, ker meritev nismo izvedli pri optimalnih pogojih. Najprej bi morali izmeriti ^{133}I (zaradi krajšega razpolovnega časa) in šele nato, ko bi se zmanjšal vpliv comptonskega sevanja, ^{131}I . Meritev smo izvedli po 10–12 urah hlajenja vzorca, saj smo se hoteli čim bolj približati poteku postopka določitve ^{129}I z metodo RNAA. Spektroskopske motnje lahko povzroči predvsem ^{133}I ($E_{\gamma} = 529,9$ keV), zato ker je

njegova γ črta zelo blizu γ črti ^{130}I ($E_\gamma = 536,1 \text{ keV}$) in lahko vpliva na meritev inducirane aktivnosti ^{130}I .

Prispevek uporabljenih kemikalij, reagentov in organskih topil k tvorbi ^{130}I smo preverili s pripravo slepega vzorca. V nikljevem lončku smo raztopili 200 g KOH, dodali nosilec v obliki KI in naprej ravnali enako kot pri vzorcu, v katerem smo določali vsebnost ^{129}I . Koncentracija inducirane ^{130}I je bila pod mejo zaznavnosti metode ($5 \cdot 10^{-14} \text{ g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ vzorca).

Razmere obsevanja, potrebne za indukcijo ^{130}I , smo proučevali z eksperimentom, pri katerem smo na $\sim 250 \text{ mg}$ aktivnega oglja v kvarčno ampulo nakapali pripravljeno delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (delovni standard, $A = 4,2 \cdot 10^{-4} \text{ Bq g}^{-1}$), ki smo ga pripravili z razredčitvijo originalne raztopine ^{129}I (LEA Cerca, $A = 420 \text{ Bq g}^{-1}$) z LiOH (0,3 %), in dodali stabilni jod ^{127}I v obliki kalijevega jodida, tako da je bila koncentracija stabilnega joda v pripravljeni delovni raztopini $\sim 50 \text{ mg I g}^{-1}$. Ampulo z ogljem smo posušili v sušilniku pri 60°C . V drugo kvarčno ampulo smo odtehtali pripravljeno delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ($\sim 1 \text{ g}$) ter vsebino ampule prav tako posušili v sušilniku pri 60°C . Kvarčni ampuli smo zatalili in hkrati 15 ur obsevali v F obroču reaktorja TRIGA Mark II. Po obsevanju smo oglje sežgali, ekstrahirali inducirane jodove izotope (3.4.1.1.4) ter izmerili γ aktivnosti na detektorju HPGe koaksialnega tipa. Določili smo vrednost $2,83 \cdot 10^{-4} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ aktivnega oglja, medtem ko je pripravljeno aktivno oglje vsebovalo $2,76 \cdot 10^{-4} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ (teoretična vrednost). Poskus smo naredili tudi z obsevanjem enako pripravljenih ampul v centralnem kanalu reaktorja. Po obsevanju smo morali počakati 24 ur, da se je aktivnost oglja zmanjšala na varno raven, in še takrat je bil mrtvi čas detektorja ob merjenju vzorca 10 %; v primeru obsevanja v F obroču je zadostovalo 12-urno hlajenje in mrtvi čas detektorja je bil bistveno nižji, 4 %. Zaradi daljšega hlajenja vzorca po obsevanju v centralnem kanalu je v tem času razpadlo več inducirane ^{130}I , poleg tega pa je bil mrtvi čas zelo velik. Vse to je vplivalo na določitev ^{129}I , saj so neugodni pogoji obsevanja vplivali na mejo zaznavnosti metode in se je določena vrednost $1,16 \cdot 10^{-5} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ bistveno razlikovala od teoretične vrednosti $2,61 \cdot 10^{-4} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ aktivnega oglja.

Fluena termičnih nevtronov v F obroču je zadostovala za indukcijo ^{130}I z jedrsko reakcijo $^{129}\text{I}(n, \gamma)^{130}\text{I}$. Pomembna prednost F obroča v primerjavi s centralnim kanalom je tudi ta, da je fluena hitrih nevtronov v F obroču približno trikrat nižja od v fluence le-teh v centralnem kanalu. S tem je zmanjšana tudi indukcija ^{126}I z jedrsko reakcijo stabilnega ^{127}I s hitrimi nevtroni $^{127}\text{I}(n, 2n)^{126}\text{I}$, in tako se posledično zmanjša vpliv aktivnosti ^{126}I na dvig ozadja γ spektra. Zadostovalo je 12-urno obsevanje, čemur je sledilo 10–12-urno hlajenje vzorcev, da smo med ravnanjem z vzorcem izpostavitve obsevanju zmanjšali na varno raven.

4.1.3 Določanje kemijskega izkoristka

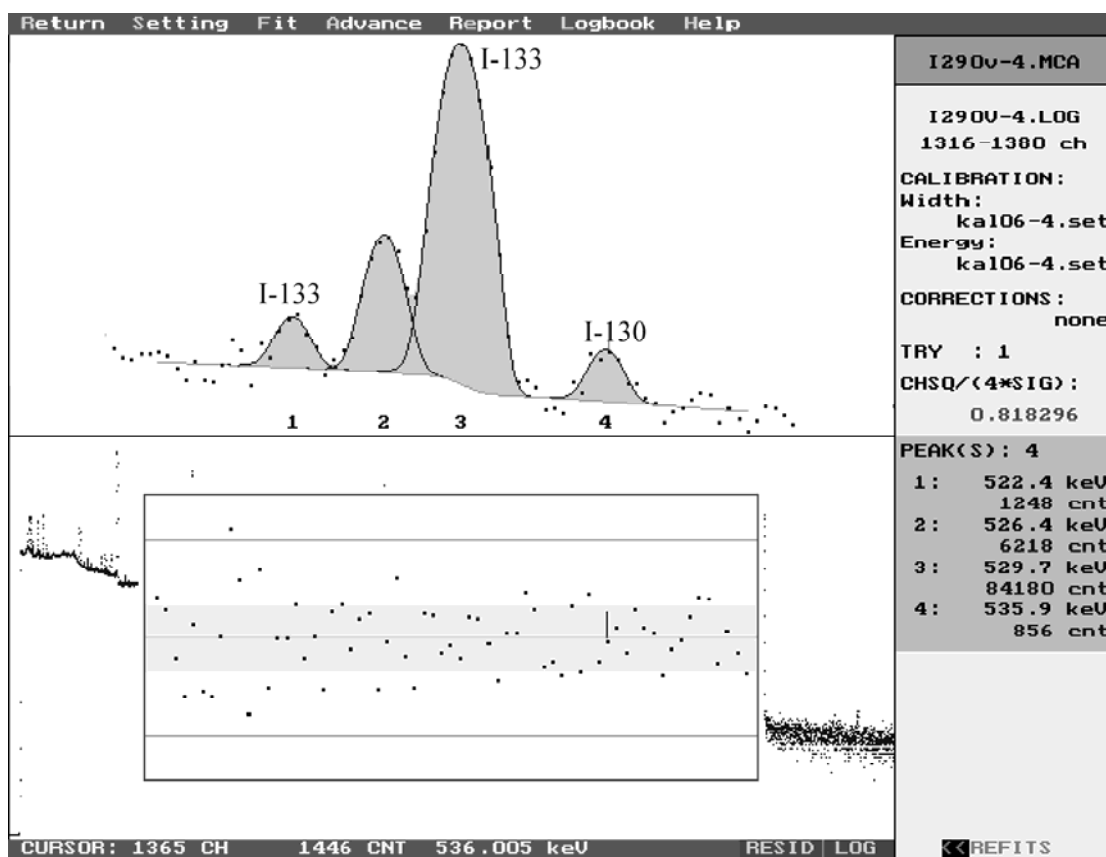
V literaturi je zaslediti uporabo ^{131}I in ^{125}I kot sledilcev za določitev kemijskega izkoristka separiranja joda. Hoteli smo uporabiti ^{131}I kot sledilec za določitev kemijskega izkoristka, zaradi dostopnosti, saj ga uporabljajo na Oddelku za nuklearno medicino Kliničnega centra Ljubljana. Pridobili smo dovoljenje za prenos in uporabo ampul, v katerih po uporabi ostanejo sledi ^{131}I , vendar njihova aktivnost ne sme preseči ravni izvzetja za ^{131}I (1 MBq). Prednost uporabe ^{131}I ($T_{1/2} = 8,02$ dni) je tudi v tem, da njegovo γ aktivnost merimo pri 364,5 keV, kar je pomaknjeno proti sredini γ spektra, kjer je vpliv comptonskega sipanja na meritev bistveno manjši kot pri ^{125}I ($T_{1/2} = 59,4$ dni), katerega γ aktivnost merimo pri 27,5 keV. Zaradi učinka comptonskega sipanja je treba počakati, da se le-to zmanjša, in šele takrat je mogoča meritev γ aktivnosti ^{125}I .

Pred uporabo ^{131}I kot sledilca smo izvedli poskus, v katerem smo ugotavljali, ali prihaja do indukcije ^{130}I iz moteče jedrske reakcije ^{131}I s hitrimi nevtroni, $^{131}\text{I}(n, 2n)^{130}\text{I}$ ($\sigma_f = 80$ b). Motnje zaradi sestave oglja, sledov urana in cezija smo že izključili. Njuna vsebnost v aktivnem oglju je bila prenizka, da bi prišlo do tvorbe ^{130}I iz teh dveh elementov (4.1.2.2) oz. je bila nastala koncentracija ^{130}I pod mejo zaznavnosti metode RNAA, $5 \cdot 10^{-14} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$.

Na aktivno oglje (~250 mg) smo adsorbirali 100 mg pripravljene delovne raztopine sledilca ^{131}I ($A \sim 100 \text{ Bq g}^{-1}$) ter oglje obsevali skupaj z delovno raztopino $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v centralnem kanalu

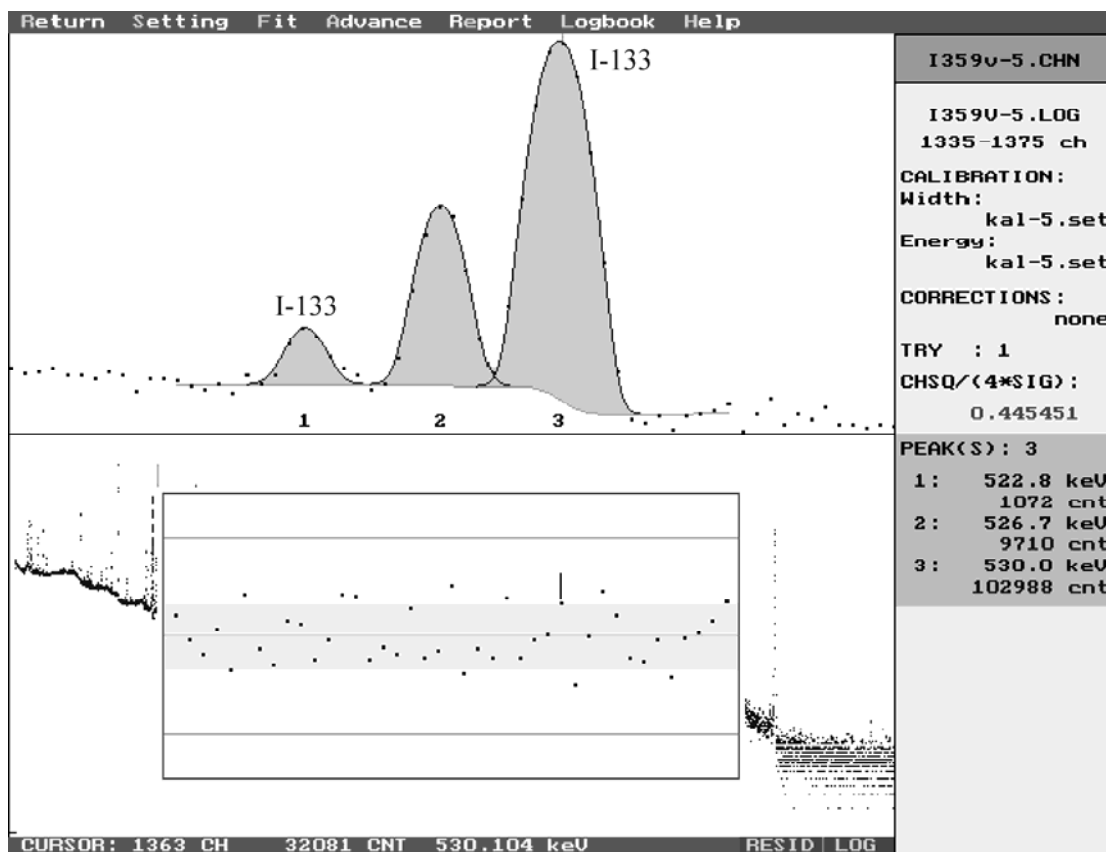
reaktorja TRIGA Mark II (15 ur). Po obsevanju smo oglje sežgali, izvedli ekstrakcijo induciranih jodovih izotopov (3.4.1.1.4) ter izmerili γ aktivnost na detektorju HPGe koaksialnega tipa ter jo primerjali z γ aktivnostjo delovne raztopine sledilca ^{131}I in delovne raztopine $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$. Poskus smo naredili tudi v F obroču reaktorja.

V centralnem kanalu smo opazili tvorbo ^{130}I , ki je nastal z jedrsko reakcijo $^{131}\text{I}(n, 2n)^{130}\text{I}$ in katerega aktivnost bi ustrezala $3,0 \cdot 10^{-4} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ (slika 20). V F obroču nismo opazili tvorbe ^{130}I iz sledilca ^{131}I , bila je pod mejo zaznavnosti razvite metode (slika 21).



Slika 20. γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim sledilcem ^{131}I v centralnem kanalu reaktorja TRIGA Mark II (čas obsevanja ~15 ur, oglje hladili ~12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~10 ur)

Figure 20. γ spectra of induced iodine isotopes after irradiation of the MERCK 9624 activated charcoal with the adsorbed ^{131}I tracer in the central channel of the TRIGA Mark II reactor (the irradiation took 15 h, the charcoal was cooled for ~12 h and the γ activity was measured for 10 h)



Slika 21. γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim sledilcem ^{131}I v F obroču reaktorja TRIGA Mark II (čas obsevanja ~ 15 ur, čas hlajenja ~ 12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~ 10 ur)

Figure 21. γ spectra of induced iodine isotopes after irradiation of the MERCK 9624 activated charcoal with the adsorbed ^{131}I tracer in the F ring of the TRIGA Mark II reactor (the irradiation took 15 h, the charcoal was cooled for ~ 12 h and the γ activity was measured for 10 h)

Kljub temu da fluenca hitrih nevtronov v F obroču ni zadostovala za tvorbo ^{130}I , je prišlo do tvorbe ^{131}I iz sledov urana, prisotnega v očiščenem oglju (4.1.2.2, preglednica 12), zato ni bila mogoča direktna določitev kemijskega izkoristka. Quintana in Thysen (2000) sta pri predsepariranju prav tako uporabljala aktivno oglje in določevala kemijski izkoristek z ^{131}I . Upoštevala sta njegovo tvorbo iz urana, prisotnega v oglju, ter kemijski izkoristek korigirala za 4–6 %. Ne omenjata pa kemijske sestave aktivnega oglja in moteče reakcije $^{131}\text{I}(n, 2n)^{130}\text{I}$ pri izbranih razmerah obsevanja.

Odločili smo se, da bomo kemijski izkoristek določevali spektrofotometrično in z merjenjem aktivnosti ^{126}I . V alikvotu vzorca smo določili vsebnost stabilnega joda ^{127}I ter jo upoštevali pri izračunu kemijskega izkoristka. Aktivno oglje je služilo kod adsorbent za jod, zato smo določili tudi vsebnost stabilnega ^{127}I v oglju. Oglje je vsebovalo $11,5 \pm 1,9 \text{ ng I g}^{-1}$, in ker smo za adsorpcijo joda praviloma uporabili 250 mg aktivnega oglja, je bil prispevek le-tega, $\sim 2,5 \text{ ng } ^{127}\text{I}$, zanemarljiv. Kemijski izkoristek celotne metode smo določali za vsak vzorec posebej. Določili smo tudi kemijski izkoristek radiokemijskega separiranja inducirane ^{130}I iz delovne raztopine ^{129}I , ki nam je služila kot primerjalni standard. Določitev kemijskega izkoristka separiranja joda iz standarda v literaturi nismo zasledili, čeprav so Hou in sod. (1999) na podoben način pripravili raztopino standarda za obsevanje.

Kemijski izkoristki za tla in morski sediment so bili v območju od 60 do 70 %, za morske alge v območju od 70 do 80 % in za smrekove iglice v območju od 55 do 65 %. Kemijski izkoristki so nekoliko nižji zaradi uporabe CHCl_3 za ekstrakcijo joda, saj je znano, da so izkoristki ekstrakcije s CHCl_3 v povprečju za 10 % nižji kot pri uporabi CCl_4 (Osterc in Stibilj, 2005). K znižanju kemijskih izkoristkov celotne metode prispeva tudi velikost vzorca, saj smo za eno določitev ekstrahirali jod tudi iz do 150 g vzorca. Hou in sod. (1999) navajajo za rastlinski material kemijske izkoristke v območju od 60 do 65 %, kar je primerljivo z našimi izkoristki za smrekove iglice. Dosegli so boljše izkoristke za morske alge, od 85 do 97,5 %, in za tla, od 70 do 79 %, vendar so jod separirali iz bistveno manj vzorca; razkrojili so 40 g rastlinskega materiala in 3–5 g tal. Quintana in Thyssen (2000) navajata, da so kemijski izkoristki za smrekove iglice pri celotni metodi v območju od 70 do 85 %.

4.1.4 Validacija metode RNAA za določitev izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$

V okoljskih vzorcih se vsebnost ^{129}I podaja kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$. Zato moramo ovrednotiti metodo za določitev obeh izotopov, in to v referenčnih materialih z matrico, s čim bolj podobno vzorcu, v katerem bomo določali izotopsko razmerje.

Zanesljivost in pravilnost metode smo preverili z določitvijo ^{129}I in ^{127}I v referenčnem materialu IAEA-375 Soil, ki je edini referenčni material za ^{129}I na tržišču. Rezultati določitve ^{129}I in ^{127}I z metodo RNAA v referenčnem materialu so podani v preglednici 13 in na sliki 22. Dobljene vrednosti smo primerjali s priporočenimi vrednostmi IAEA in in dobili zelo dobro ujemanje (preglednica 13).

Preglednica 13. Koncentracija ^{129}I in ^{127}I v referenčnem materialu IAEA-375 Soil

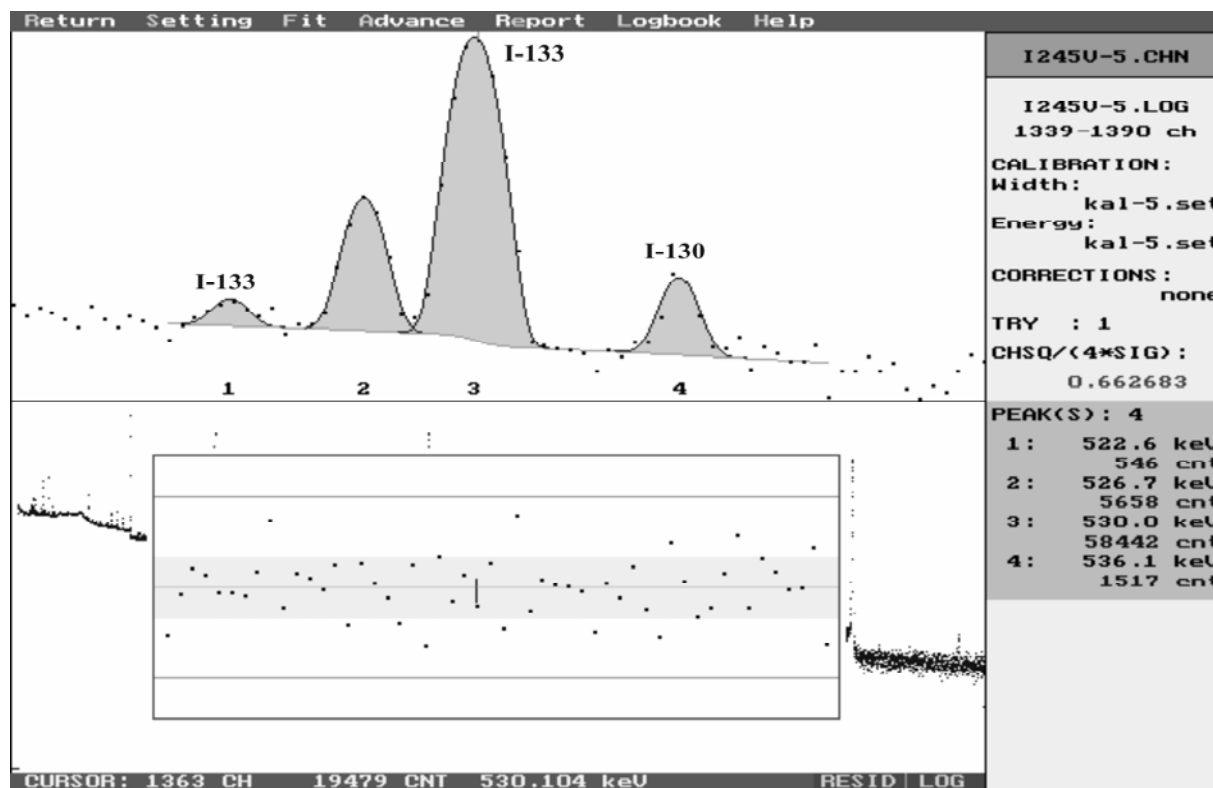
Table 13. Concentrations of ^{129}I and ^{127}I in the reference material IAEA-375 Soil

Vir	^{129}I ($10^{-7} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I ($10^{-3} \text{Bq kg}^{-1}$)	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-10})
Strachnov in sod., 1996	$2,62 \pm 0,81$ (1,3 – 4,1)	$1,71 \pm 0,53$ (0,8 – 2,6) ^a	$1,91 \pm 0,49$ (1,36 – 2,31)	~1370
Schmidt in sod., 1998	$2,50 \pm 0,70$	$1,6 \pm 0,5$	$1,68 \pm 0,09$	~1490
Naša določitev (n = 4)	$3,05 \pm 0,95$	$2,03 \pm 0,80$	$1,73 \pm 0,07$	1760
Priporočena vrednost (IAEA, 2004)		1,7 (1,3 – 2,1) ^b	-	

Rezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, k = 2).

^aobmočje sprejetih vrednosti posameznih laboratorijev (n = 11)

^b95 % interval zaupanja (n = 10)



Slika 22. γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim jodom, separiranim iz referenčnega materiala IAEA 375 Soil v F obroču reaktorja TRIGA Mark II, ter po radiokemijskem separiranju (čas obsevanje ~12 ur, čas hlajenja ~12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~10 ur)

Figure 22. γ spectra of induced iodine isotopes after irradiation of the MERCK 9624 activated charcoal with the adsorbed iodine separated from the IAEA 375 Soil reference material in the F ring of the TRIGA Mark II reactor after radiochemical separation (the irradiation took 15 h, the charcoal was cooled ~12 h and the γ activity was measured for 10 h)

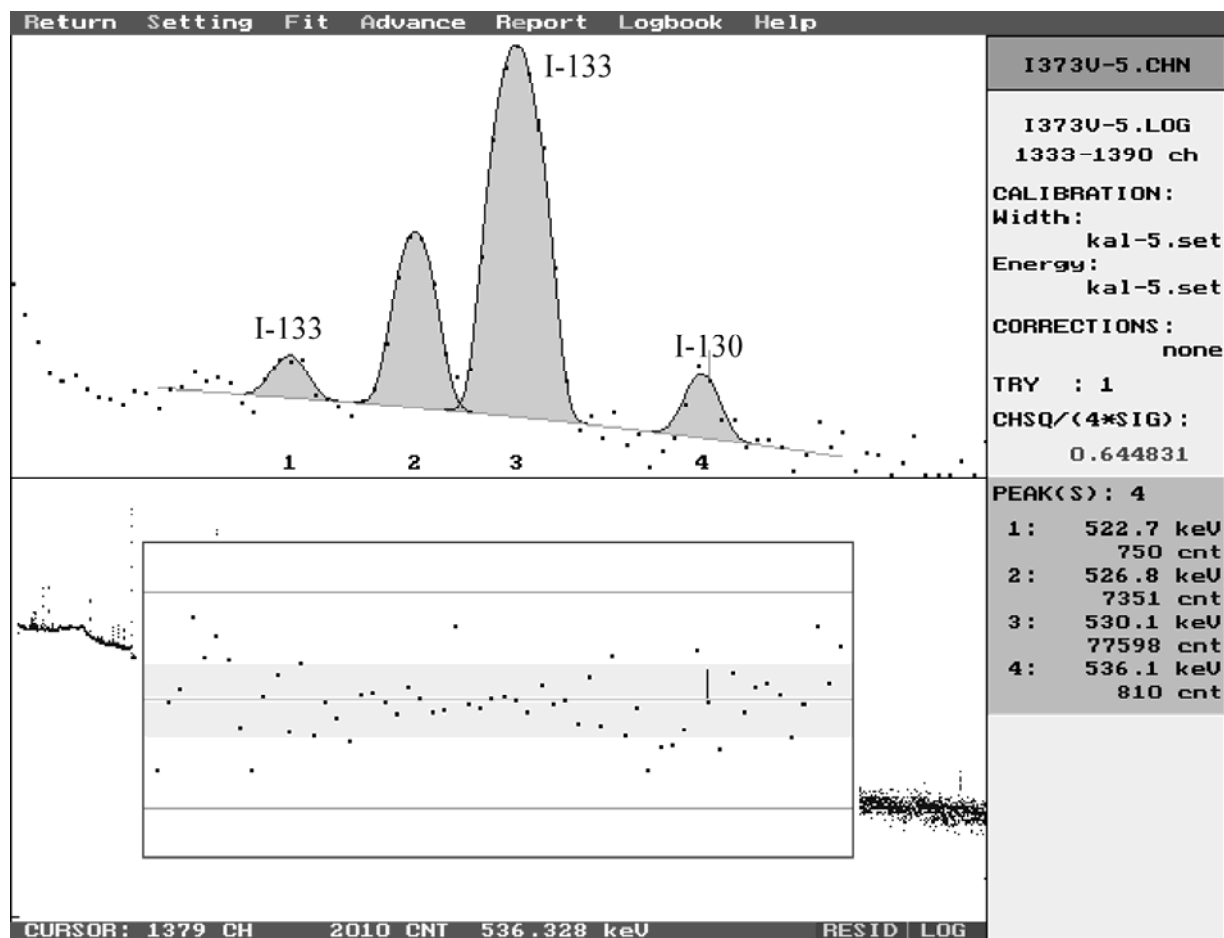
Za morski sediment smo uporabili referenčni material Ocean Sediment Environmental Radioactivity Standard (NIST 4357), ki pa nima certificirane vrednosti za ^{129}I in ^{127}I , ampak informativno vrednost, ki je bila določena zgolj v enem laboratoriju. Rezultati določitve ^{129}I in ^{127}I so prikazani v preglednici 14 in na sliki 23. Opaziti je odstopanje med dobljeno in informativno vrednostjo, vendar sta obe v istem velikostnem razredu (preglednica 14).

Preglednica 14. Koncentracija ^{129}I in ^{127}I v referenčnem materialu NIST 4357

Table 14. Concentrations of ^{129}I and ^{127}I in the reference material NIST 4357

Vir	^{129}I ($10^{-7} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I ($10^{-3} \text{Bq kg}^{-1}$)	^{127}I (n = 4) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-8})
Naša določitev (n = 3)	$2,2 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,4$	$3,8 \pm 0,1$	$5,8 \pm 0,6$
Informativna vrednost	-	9 (6,0 – 12,0)	3,1	-

Rezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, $k = 2$).



Slika 23. γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim jodom, separiranim iz referenčnega materiala NIST 4357 v F obroču reaktorja TRIGA Mark II, ter po radiokemijskem separiranju (čas obsevanje ~12 ur, čas hlajenja ~12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~10 ur)

Figure 23. γ spectra of induced iodine isotopes after irradiation of the MERCK 9624 activated charcoal with the adsorbed iodine separated from the NIST 4357 reference material in the F ring of the TRIGA Mark II reactor after radiochemical separation (the irradiation took 15 h, the charcoal was cooled for ~12 h and the γ activity was measured for 10 h)

Na tržišču še ni na voljo referenčnega materiala s certificirano vrednostjo za ^{129}I v algah. Zato smo uporabili vzorec FC-98 Seaweed (*Fucus serratus*), ki so ga pripravili Fréchou in sod. (2001) kot interni standard in za medlaboratorijsko primerjavo. Z metodo RNAA smo določili vsebnost ^{129}I in ^{127}I . Vsebnost ^{129}I je bila dovolj visoka, da smo jo določili tudi z direktno γ -X spektrometrijo (3.4.1.2). Rezultati določitve so prikazani v preglednici 15 ter na slikah 24 in 25, iz katerih je razvidno zelo dobro ujemanje med dobljeno vrednostjo in vrednostmi drugih laboratorijev (preglednica 15).

Preglednica 15. Koncentracija ^{129}I in ^{127}I v referenčnem vzorcu FC-98 Seaweed (*Fucus serratus*)

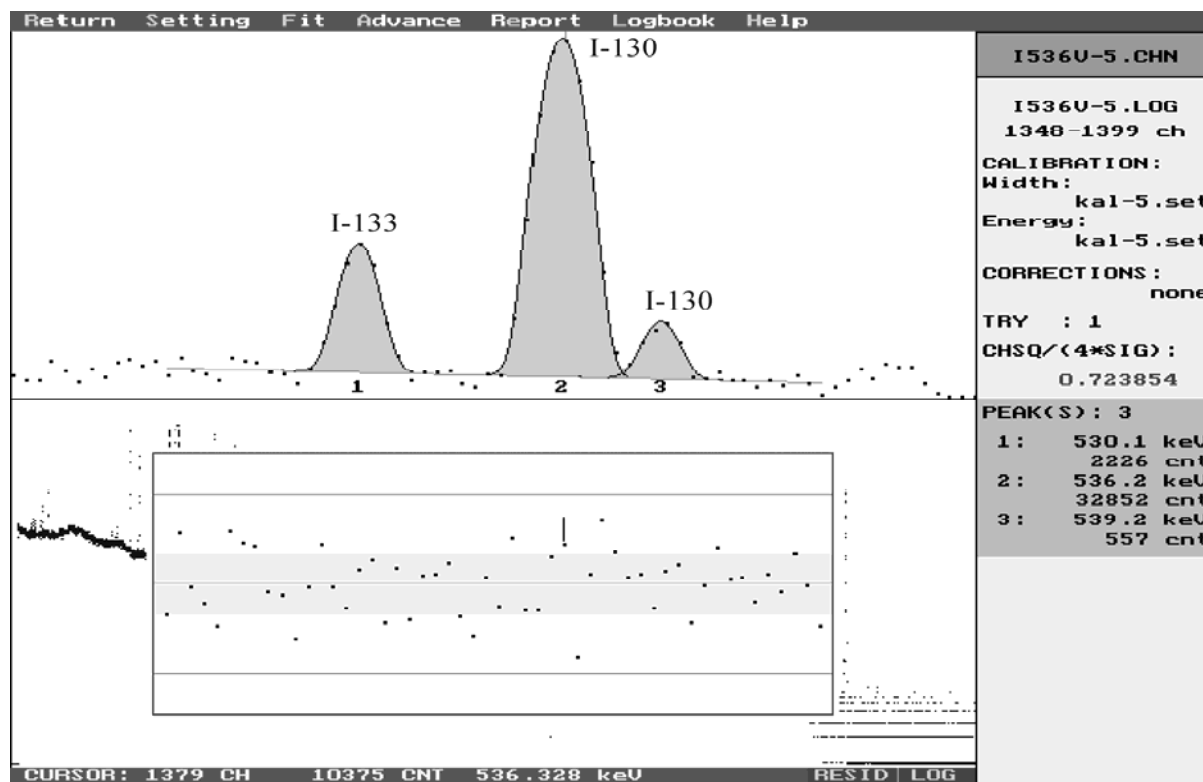
Table 15. Concentrations of ^{129}I and ^{127}I in the reference sample FC-98 Seaweed

Vir	^{129}I ($10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I (Bq kg^{-1})		^{127}I (n = 4) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-05})
		RNAA	γ (39,6 keV)		
Fréchou in sod., 2001 ^a	-	$61,3 \pm 9,7$ (53,3 – 68,3)	$71,1 \pm 8,7$ (67,6 – 78,1)	$882,0 \pm 52,9$	$1,22 \pm 0,14$
Kučera ^b	-	$66,8 \pm 4,4$	-	-	$1,23 \pm 0,08$
Naša določitev ^c (n = 3)	$9,08 \pm 0,82$	$60,3 \pm 5,4$	$65,2 \pm 1,5$	$787,2 \pm 10,2$	$1,16 \pm 0,13$

^aRezultati so podani kot povprečje z 2σ RSD.

^bneobjavljeni rezultati (Kučera, 2006; osebna komunikacija)

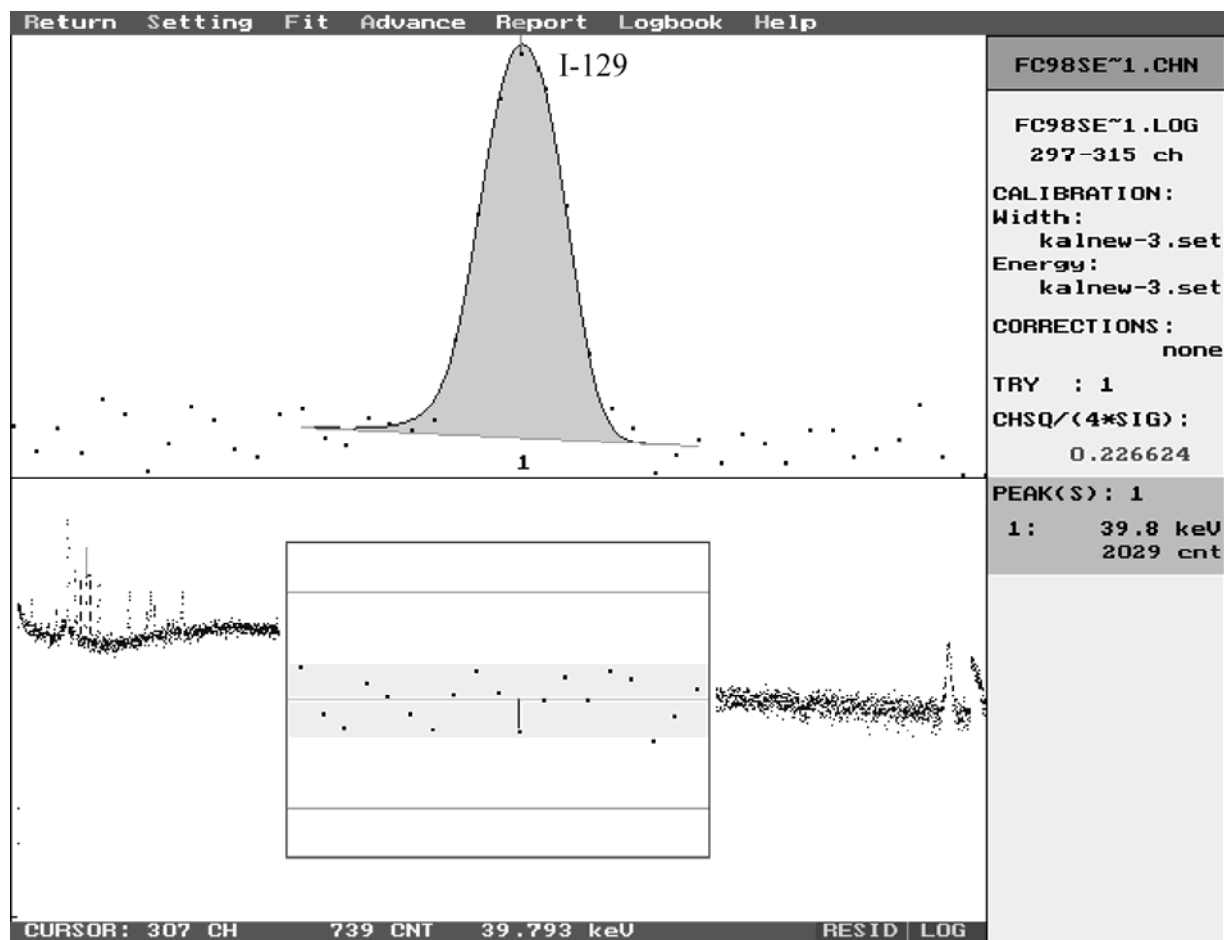
^cRezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, $k = 2$).



Slika 24. γ spekter induciranih jodovih izotopov po obsevanju aktivnega oglja MERCK 9624 z adsorbiranim jodom, separiranim iz FC-98 Seaweed v F obroču reaktorja TRIGA Mark II, ter po radiokemijskem separiranju (čas obsevanje ~ 12 ur, čas hlajenja ~ 12 ur in čas meritve γ aktivnosti ~ 1000 s)

Figure 24. γ spectra of induced iodine isotopes after irradiation of the MERCK 9624 activated charcoal with the adsorbed iodine separated from the FC-98 Seaweed in the F ring of the TRIGA Mark II reactor after radiochemical separation (the irradiation took 15 h, the charcoal was cooled for ~ 12 h and the γ activity was measured for 1000 s)

Vzorec alg FC-98 Seaweed (Fréchou in sod., 2001) je vseboval tako visoko koncentracijo ^{129}I , da smo na γ spektru (slika 24) opazili tudi vrh inducirane ^{130}I pri 539,1 keV. Tega vrha praviloma ne opazimo, saj je njegova intenziteta le 1,4 %, medtem ko je intenziteta γ črte za inducirani ^{130}I pri 536,1 keV 99,0 %.

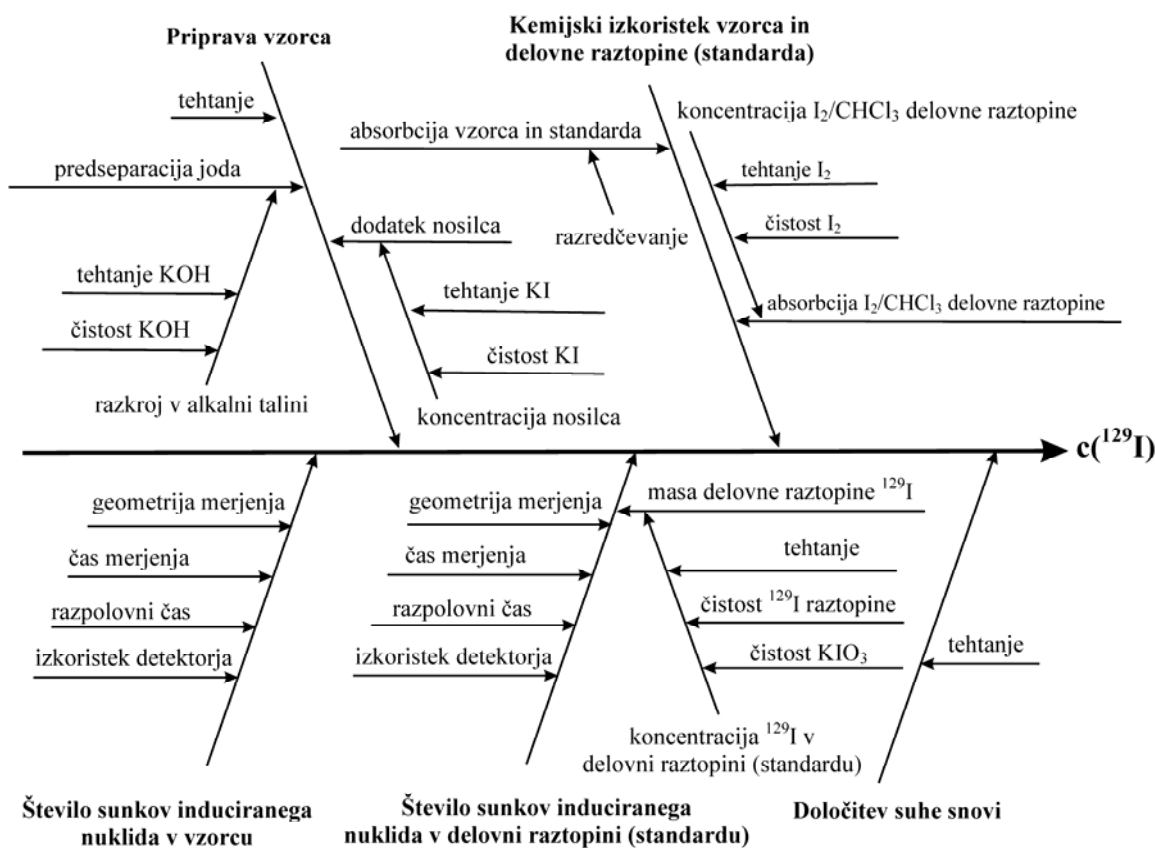


Slika 25. γ spekter ^{129}I , dobljen z direktno γ -X spektrometrijo referenčnega vzorca FC-98 Seaweed (čas merjenja, 100 ur)

Figure 25. γ spectra of ^{129}I obtained by direct γ -X spectrometry of the reference sample FC-98 Seaweed (measuring time, 100 h)

4.1.5 Ovrednotenje merilne negotovosti metode RNAA za določitev ^{129}I

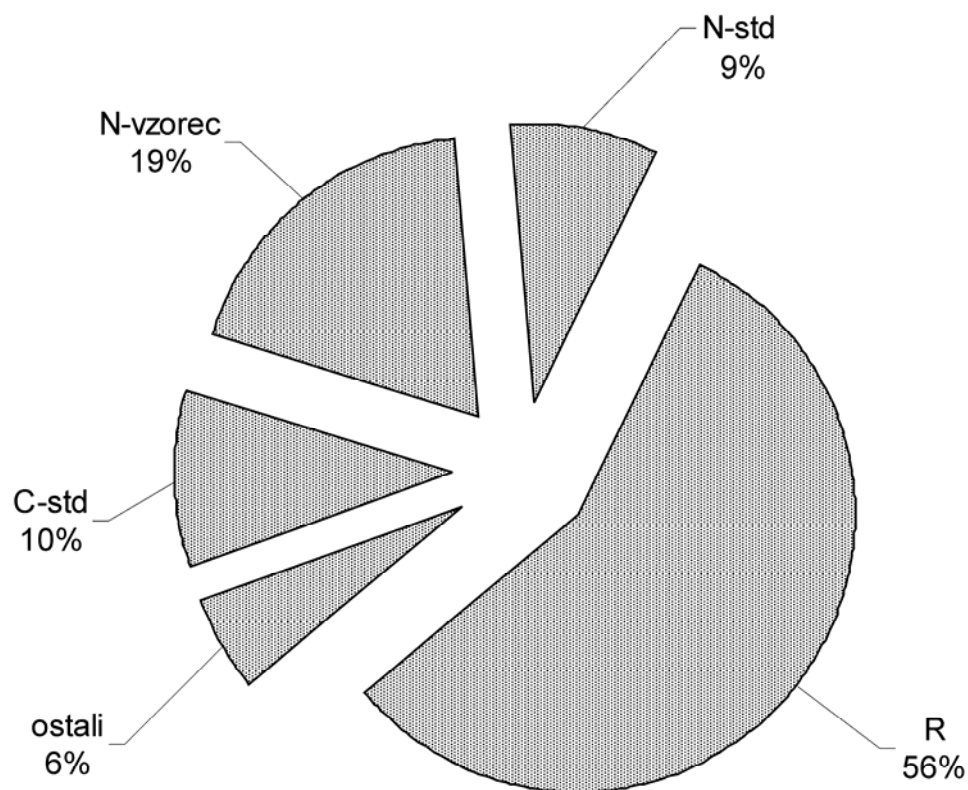
Merilno negotovost razvite metode RNAA za določitev ^{129}I smo razvili z uporabo referenčnega materiala IAEA-375 Soil. Kot merilno količino smo določili koncentracijo ^{129}I v referenčnem materialu, $c(^{129}\text{I})$ [$\mu\text{g g}^{-1}$]. Viri merilne negotovosti so prikazani na sliki 26.



Slika 26. Viri negotovosti pri določitvi ^{129}I z RNAA v referenčnem materialu IAEA-375 Soil

Figure 26. Sources of uncertainty for ^{129}I determination by RNAA in the reference material IAEA-375 Soil

Za vsak vir merilne negotovosti smo ovrednotili standardne negotovosti in vrednosti vstavili v program GUM Workbench (Metrodata, 2005) ter izračunali prispevke posameznih virov k merilni negotovosti (slika 27) in kombinirano merilno negotovost.



R...ponovljivost določitve kemijskega izkoristka

N-vzorec...število sunkov inducirane nuklide v vzorcu

N-std...število sunkov inducirane nuklide v delovni raztopini

c-std...certificirana negotovost aktivnosti standardne raztopine ^{129}I (kalibracijski certifikat)

ostalo...preostali viri negotovosti

Slika 27. Prispevki posameznih virov negotovosti k skupni - kombinirani merilni negotovosti pri določevanju ^{129}I z razvito metodo RNAA v referenčnem materialu IAEA-375 Soil

Figure 27. Contributions of main sources of uncertainty to the uncertainty budget for ^{129}I determination by the developed RNAA method in reference material IAEA-375 Soil

S slike 27 je razvidno, da so glavni viri negotovosti zelo podobni virom negotovosti pri metodi RNAA za določitev stabilnega joda. Največ so k skupni kombinirani negotovosti prispevali ponovljivost določitve kemijskega izkoristka, število sunkov inducirane nuklide v vzorcu in

delovni raztopini $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ter certificirana negotovost aktivnosti ^{129}I standardne raztopine (Lea Cerca), kar je zelo podobno prispevkom, ki smo jih ugotovili pri ovrednotenju merilne negotovosti za metodo RNAA za določitev stabilnega ^{127}I (Osterc in Stibilj, 2005). V tem delu smo ugotovili, da k skupni merilni negotovosti prav tako največ prisevata ponovljivost določitve kemijskega izkoristka ter število sunkov inducirane radionuklida v vzorcu in delovni raztopini.

4.1.6 Prednosti in pomanjkljivosti razvite metode RNAA za določitev ^{129}I

Reaktor TRIGA Mark II ima v primerjavi z reaktorji, navedenimi v literaturi, ki so jih uporabili za določitev ^{129}I , izredno majhno moč, 250 kW, in s tem manjšo fluenco nevtronov. V F obroču, kjer smo obsevali vzorce, je fluenca termičnih nevtronov $3,5 \cdot 10^{12} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Jačimović in sod., 2003a). Hou in sod. (1999) so za obsevanje vzorcev uporabili reaktor s fluenco termičnih nevtronov $4 \cdot 10^{13} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, Krupp in Aumann (1999) $2 \cdot 10^{14} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, Muramatsu in sod. (1988) $5,5 \cdot 10^{13} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, Parry (2001) $2,3 \cdot 10^{14} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, Quintana in Thyssen (2000) $2 \cdot 10^{13} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, Schmidt in sod. (1998) $4,4 \cdot 10^{13} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ter Simpson in sod. (2001) $1 \cdot 10^{14} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

Nizko fluenco nevtronov reaktorja TRIGA Mark II smo nadomestili tako, da smo pred obsevanjem jod s separiranjem izolirali iz velikih mas vzorca (do 150 g tal in morskega sedimenta ter do 100 g rastlinskega materiala – alge in smrekove iglice). Tako smo zagotovili dovolj ^{129}I , s čimer smo povečali občutljivost in uporabnost metode. Hou in sod. (1999) so za določitev ^{129}I uporabili 3–5 g tal in 40 g morskih alg oz. trave, medtem ko sta Quintana in Thyssen (2000) za določitev ^{129}I uporabila 10–100 g smrekovih iglic. Szidat in sod. (2000b) so jod v predsepariranju izolirali iz 70 g tal in 7 g rastlinskega materiala.

Druga pomembna prednost je tudi v hitrosti separiranja joda po obsevanju (25 minut) v primerjavi z metodami iz literature, kjer je separiranja po obsevanju lahko trajajo tudi nekaj ur. Hou in sod. (1999) ter Muramatsu in Yoshida (1995b) so po obsevanju jod separirali s solventno ekstrakcijo s CCl_4 , ki ji je sledilo še obarjanje joda s PdCl_2 . Nastalo oborino PdI_2 so izolirali s filtracijo. Krupp in Aumann (1999) ter Quintana in Thyssen (2000) so po obsevanju jod separirali z destilacijo, ki ji je sledila solventna ekstrakcija. Parry (2001) je v predsepariranju jod iz mleka izoliral z ionsko izmenjavo ter obseval ionski izmenjevalec z adsorbiranim jodom. Po obsevanju je jod eluiral z NaNO_3 ter ga iz frakcije precipitiral kot AgI z AgNO_3 .

S preprostim čiščenjem aktivnega oglja z uporabo HCl (1 mol L^{-1}), ki smo ga uporabili za adsorpcijo joda v predsepariranju, smo občutno izboljšali mejo zaznavnosti metode. Tudi Quintana in Thyssen (2000) sta za adsorpcijo joda v predsepariranju uporabila aktivno oglje ter navedla, da vsebuje uran, vendar oglja nista čistila.

S povečevanjem množine vzorcev, se je seveda povečevala tudi potrebna masa KOH za razgradnjo vzorca, kar je pomanjkljivost te metode, saj je poraba kemikalij velika (do 300 g KOH , v obliki peletov tehnične čistoče, in 300 mL CHCl_3 pri eni določitvi). Hou in sod. (1999) so za razgradnjo vzorca v alkalni talini za 40 g rastlinskega materiala uporabili 160 mL raztopine KOH s koncentracijo 1 mol L^{-1} . Zaradi predsepariranja joda smo preverili tudi prispevek uporabljenih kemikalij k tvorbi ^{130}I med indukcijo v reaktorju, vendar je bila nastala koncentracija ^{130}I pod mejo zaznavnosti metode, $1,5 \cdot 10^{-14} \text{ g }^{129}\text{I g}^{-1}$.

4.2 UGOTAVLJANJE ^{129}I V OKOLJSKIH VZORCIH

Razvito metodo RNAA za določitev ^{129}I smo uporabili za določitev njegove vsebnosti v okoljskih vzorcih. Analizirali smo vzorce iz kopenskega in morskega okolja. Vsi rezultati so izraženi na suho snov.

4.2.1 Kopensko okolje

4.2.1.1 Tla

Rezultati za določitev vsebnosti ^{129}I in ^{127}I v vzorcih tal z območja Slovenije so prikazani v preglednici 16.

Preglednica 16. Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v tleh iz Slovenije

Table 16. Determination of ^{129}I and ^{127}I concentration in soil from Slovenia

Lokacija	Datum vzorčenja	^{129}I ($10^{-08} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I ($10^{-04} \text{Bq kg}^{-1}$)	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-10})
Boršt (vrh)	junij, 2006	< 5,0	< 3,3	$0,73 \pm 0,03$	< 685
Boršt (vznožje)	junij, 2006	$149,0 \pm 23,1$	$99,0 \pm 15,3$	$27,6 \pm 1,4$	~540
Podgorica (Rektorski center)	oktober, 2006	$253,1 \pm 36,0$	$168,2 \pm 23,9$	$130,0 \pm 5,1$	~195
Naravna anomalija (masiv Žirovski vrh)	junij, 2006	$61,4 \pm 10,8$	$40,8 \pm 7,2$	$61,8 \pm 2,8$	~100
Murska Sobota	oktober, 2006	< 5,0	< 3,3	$43,2 \pm 2,0$	< 10

Rezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, $k = 2$).

Iz preglednice 16 je razvidno, da je največ ^{129}I ($253,1 \cdot 10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$) vseboval vzorec iz Podgorice, vzorčen na območju rektorskega centra, Institut Jožef Stefan. Hkrati je ta vzorec vseboval tudi največ stabilnega ^{127}I ($130,0 \mu\text{g g}^{-1}$), zato izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ tega vzorca ni največje. Največje je bilo pri vzorcu Boršt, vzorčenem ob vznožju jalovišča ($540 \cdot 10^{-10}$),

kar je za štiri velikostne razrede več kot v prednuklearnem obdobju $1,5 \cdot 10^{-12}$ (Szidat in sod., 2000a).

Vsebnost ^{129}I smo določili tudi v vzorcih tal z območja Ukrajine, ki so bili vzorčeni v obdobju od 1989 do 2006 (preglednica 17).

Preglednica 17. Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v tleh iz Ukrajine

Table 17. Determination of ^{129}I and ^{127}I concentration in soil from Ukraine

Lokacija	Datum vzorčenja	^{129}I ($10^{-08} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I ($10^{-04} \text{Bq kg}^{-1}$)	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-10})
Odesa	junij, 2006	< 5,0	< 3,3	$9,3 \pm 0,4$	< 54
Kijev	junij, 2006	< 5,0	< 3,3	$2,5 \pm 0,1$	< 200
Kijev	april, 1996	$95,2 \pm 16,7$	$63,2 \pm 11,1$	$12,4 \pm$	~770
Zhovten	junij, 2006	< 5,0	< 3,3	$10,6 \pm 0,7$	< 47
Umanj	junij, 2006	< 5,0	< 3,3	$2,3 \pm 0,1$	< 220
Bela Cerква	junij, 2006	< 5,0	< 3,3	$4,5 \pm 0,3$	< 110
Černobil	april, 1996	$245,7 \pm 46,6$	$163,2 \pm 31,0$	$23,1 \pm 3,4$	~1065
Buriakivka	maj, 1993	$155,6 \pm 22,7$	$103,4 \pm 15,1$	$6,5 \pm 0,7$	~2395
Buriakivka	maj, 1989	$203,3 \pm 29,6$	$135,0 \pm 19,7$	$7,4 \pm 0,9$	~2750
Yaniv	julij, 1993	146800 ± 19800	97540 ± 13150	$10,8 \pm 1,6$	~1360000

Rezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, $k = 2$).

Leta 1986 se je v Černobilu zgodila nesreča, zaradi katere se je v ozračje sprostil 1–2 kg ^{129}I (Hou in sod., 2002). Iz naših rezultatov je razvidno (preglednica 17), da se vsebnost ^{129}I v vzorcih tal z območja Kijeva (vzorčenje leta 1996 in 2006) in Buriakivke (vzorčenje leta 1989 in 1993) z leti zmanjšuje. V današnjih vzorcih je pod mejo zaznavnosti naše metode ($5 \cdot 10^{-14} \text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$), medtem ko je vsebnost ^{129}I v vzorcih tal iz obdobja od 1989 do 1996, izražena kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$, v primerjavi z razmerjem iz prednuklearne dobe, $1,5 \cdot 10^{-12}$ (Szidat in sod., 2000a), povišana za štiri (Kijev, 1996) do osem (Yaniv, 1993) velikostnih razredov.

Michel in sod. (2005) so določili vsebnost ^{127}I in ^{129}I v 51 vzorcih tal (vrhnjih 10 cm) z različnih območjih Ukrajine, Belorusije in Rusije, vzorčenih med septembrom 1991 in oktobrom 1992. Za ^{129}I so dobili povprečno vrednost $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ Bq kg}^{-1}$ (območje od $0,05$ do $111 \cdot 10^{-3} \text{ Bq kg}^{-1}$), za ^{127}I pa $1,9 \mu\text{g g}^{-1}$ (območje od $0,29$ do $8,6 \mu\text{g g}^{-1}$). Za izotopski delež $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ navajajo povprečno vrednost $2700 \cdot 10^{-10}$ v območju med 45 in $74000 \cdot 10^{-10}$.

Naši rezultati za območje Ukrajine so primerljivi z rezultati, ki so jih dobili Michel in sod. (2005) za to obdobje, z izjemo vzorca iz Yaniva (preglednica 17), kjer je vsebnost ^{129}I močno povečana in je za dva velikostna razreda večja od najvišje vsebnosti, ki so jo določili Michel in sod. (2005).

Schmitz in Aumann (1995) sta določila masne deleže ^{127}I in ^{129}I v tleh v bližini predelovalnega obrata za izrabljeno reaktorsko gorivo (Karlsruhe, Nemčija). Določila sta izotopske deleže $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v območju od $2,2$ do $6,1 \cdot 10^{-7}$. Proučevala sta tudi, v kakšni kemijski obliki ^{127}I in ^{129}I prevladujeta v tleh. V homogeniziranih vzorcih tal sta z uporabo različnih topil pri različnem pH-ju s sekvenčno ekstrakcijo ekstrahirala v vodi topni jod; jod, ki se izmenjuje in je reverzibilno vezan na komponente tal; jod, ki je vezan na kovinske okside, in jod, vezan na organske komponente tal. Ugotovila sta, da je ^{129}I v tleh mnogo bolj topen v vodi oz. da je v primerjavi z ^{127}I prevladoval v vodni frakciji. Tako je ^{129}I mnogo bolj mobilen in lažje dostopen rastlinam. Za ^{127}I sta ugotovila, da je močnejše vezan na komponente tal kot ^{129}I . Na podlagi svojih rezultatov sta zaključila, da je glavni vir ^{127}I v tleh prepravljanje kamnin, bogatih z jodom, in ne, kot navaja večina študij, da prevladuje jod morskega izvora, ki se na tla odlaga z atmosferskimi depozicijami. Razlagata tudi, da je to razlog za manjši delež ^{127}I v vodni frakciji in večji delež ^{129}I , saj ta izvira iz atmosferskih depozicij, ki imajo izvor v predelovalnih obratih za izrabljeno reaktorsko gorivo.

Hou in sod. (2003b) so določili vsebnost ^{129}I v vzorcih tal z območij Belorusije in Rusije ter dobljene vrednosti primerjali z vrednostmi za tla z območja Švedske. V vzorcih tal iz Švedske

so določili vsebnost ^{129}I v območju od $0,45$ do $3,86 \cdot 10^{-7} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$. Za vzorce tal z območja Rusije so v primerjavi s Švedsko, določili do desetkrat višje vrednosti in sicer v območju od $14,32$ do $30,20 \cdot 10^{-7} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$, za Belorusijo pa v območju od $0,61$ do $1100 \cdot 10^{-7} \mu\text{g } ^{129}\text{I g}^{-1}$. V vzorcu tal z območja Černobila so podobno kot Schmitz in Aumann (1995) določili tudi posamezne frakcije joda ter prišli do sklepa, da je 70% ^{129}I vezanega na organske komponente in okside. Njihovi rezultati za vsebnost ^{129}I v vzorcih tal z območja Švedske so višji kot tisti za tla z območja Slovenije (preglednica 16, Murska Sobota), kar potrjuje vpliv predelovalnih obratov za izrabljeno reaktorsko gorivo v Sellafieldu in La Hagueu na baltsko območje.

4.2.1.2 Smrekove iglice

Vsebnost ^{129}I v smrekovih iglicah, naključno vzorčenih 2 m nad tlemi na območju Slovenije, je bila v vseh primerih pod mejo zaznavnosti razvite metode, $5 \cdot 10^{-14} \text{ g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ (preglednica 18). Tudi na področju Podgorice (reaktorski center, Institut Jožef Stefan), kjer je reaktor TRIGA Mark II, je bila vsebnost pod mejo zaznavnosti. Vsebnost stabilnega ^{127}I je prav tako zelo nizka, s povprečno vrednostjo 200 ng g^{-1} . Starosti smrekovih iglic nismo ugotavljali.

Preglednica 18. Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v smrekovih iglicah iz Slovenije

Table 18. Determination of ^{129}I and ^{127}I concentration in pine needles from Slovenia

Lokacija	Datum vzorčenja	^{129}I ($10^{-08} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I ($10^{-04} \text{Bq kg}^{-1}$)	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-10})
Podgorica	marec, 2006	$< 5,0$	$< 3,3$	$0,27 \pm 0,02$	< 1850
Bohinj	marec, 2006	$< 5,0$	$< 3,3$	$0,09 \pm 0,01$	< 5560
Pokljuka	marec, 2006	$< 5,0$	$< 3,3$	$0,10 \pm 0,01$	< 5000
Vogrsko	marec, 2006	$< 5,0$	$< 3,3$	$0,21 \pm 0,02$	< 2380

Rezultati so podani z merilno negotovostjo (95% interval zaupanja, $k = 2$).

Smrekove iglice so delni pokazatelj atmosferskih depozicij ^{129}I . Quintana in Thyssen (2000) sta prav tako določevala vsebnost ^{129}I v iglicah pinij in ceder v okolici jedrskih elektrarn

Atucha in Embalse ter blizu atomskega centra Ezeiza v Argentini. Določila sta dokaj visoke vsebnosti ^{129}I , in sicer za elektrarno Atucha 4000 in $4700 \cdot 10^{-3} \text{ Bq kg}^{-1}$, za Embalse 2000 in $35500 \cdot 10^{-3} \text{ Bq kg}^{-1}$ ter za Ezeiza $730 \cdot 10^{-3} \text{ Bq kg}^{-1}$. Vsebnosti stabilnega ^{127}I ne navajata.

4.2.2 Morsko okolje

Morsko okolje predstavlja glavni vir joda, saj obsegajo oceani skoraj 70 % površine Zemlje. Nekateri morski organizmi akumulirajo jod v visokih koncentracijah – hiperakumulatorji. Tako imajo lahko nekatere morske alge (*Laminaria digita*) tudi do $3000 \mu\text{g g}^{-1}$ joda na suho snov, medtem ko je joda v morski vodi 58 ng g^{-1} (Frechou in sod., 2003b).

4.2.2.1 Morski sediment

Morske sedimente smo homogenizirali ter jih pred analizo nismo sušili. Delež suhe snovi smo določili v alikvotu vzorca ter jo upoštevali pri izračunu vsebnosti ^{129}I in ^{127}I . Morebitne izgube joda med hranjenjem morskih sedimentov smo preverili z eksperimentom, pri katerem smo v tri plastične posodice odtehtali $\sim 10 \text{ g}$ morskega sedimenta in dodali delovno raztopino sledilca ^{131}I , katerega aktivnost smo v določenih časovnih intervalih merili na detektorju HPGe koaksialnega tipa. Eno plastično posodico smo hranili v hladilniku pri temperaturi 4°C (preglednica 19), drugo v zamrzovalniku pri temperaturi -20°C (preglednica 20), tretjo pa prav tako v zamrzovalniku (-20°C), vendar smo jo pred merjenjem aktivnosti sledilca ^{131}I 24 ur hranili v hladilniku pri 4°C (preglednica 21). Kot je razvidno iz preglednic 19–21, nismo opazili nobenih izgub joda zaradi odtajevanja med hranjenjem vzorcev sedimenta v hladilniku in zamrzovalniku.

Preglednica 19. Ugotavljanje aktivnosti raztopine sledilca ^{131}I , dodanega morskemu sedimentu, hranjenemu v hladilniku pri 4 °C

Table 19. Determination of the ^{131}I tracer solution activity added to the marine sediment stored in the refrigerator at 4 °C

Δt (d)	t_m (s)	P	A (^{131}I)	A ₀ (^{131}I)
0	3000	3110	45,5	45,5
0,831	3000	2850	41,7	44,8
4,091	3000	2100	30,7	43,7
6,051	3000	1830	26,8	45,1
8,031	3600	1740	21,2	42,4
13,035	7200	2320	14,1	43,6
18,030	7200	1580	9,6	45,7
28,043	30000	2570	3,8	42,4

Δt ...čas, ki je pretekel med dvema meritvama aktivnosti sledilca ^{131}I ($t_n - t_0$)

t_m ...čas merjenj aktivnosti sledilca ^{131}I pri 365 keV [s]

P...površina vrha, skupno število sunkov

A (^{131}I)...specifična aktivnost sledilca ^{131}I [sunki s⁻¹ g⁻¹]

A₀ (^{131}I)...preračunana specifična aktivnost ^{131}I ($T_{1/2} = 8,02$ dni) ob časo t_0

Preglednica 20. Ugotavljanje aktivnosti raztopine sledilca ^{131}I , dodanega morskemu sedimentu, hranjenemu v zamrzovalniku pri -20 °C

Table 20. Determination of the ^{131}I tracer solution activity added to the marine sediment stored in the deep freezer at -20 °C

Δt (d)	t_m (s)	P	A (^{131}I)	A ₀ (^{131}I)
0	3000	2950	43,7	43,7
6,052	3000	1750	25,9	43,7
14,864	7200	1980	12,2	44,2
32,076	30000	1750	2,6	41,4

Δt ...čas, ki je pretekel med dvema meritvama aktivnosti sledilca ^{131}I ($t_n - t_0$)

t_m ...čas merjenj aktivnosti sledilca ^{131}I pri 365 keV [s]

P...površina vrha, skupno število sunkov

A (^{131}I)...specifična aktivnost sledilca ^{131}I [sunki s⁻¹ g⁻¹]

A₀ (^{131}I)...preračunana specifična aktivnost ^{131}I ($T_{1/2} = 8,02$ dni) ob časo t_0

Preglednica 21. Ugotavljanje aktivnosti raztopine sledilca ^{131}I , dodanega morskemu sedimentu, hranjenemu v zamrzovalniku pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, z vmesnim odtajanjem v hladilniku pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$

Table 21. Determination of the ^{131}I tracer solution activity added to the marine sediment stored in the deep freezer at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ with intermediate thawing in refrigerator at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$

Δt	t_m	P	A (^{131}I)	A ₀ (^{131}I)
0	3000	3050	43,6	43,6
6,919	3000	1710	24,5	44,5
14,929	7200	1940	11,6	42,0
32,822	30000	1800	2,6	43,9

Δt ...čas, ki je pretekel med dvema meritvama aktivnosti sledilca ^{131}I ($t_n - t_0$)

t_m ...čas merjenj aktivnosti sledilca ^{131}I pri 365 keV [s]

P...površina vrha, skupno število sunkov

A (^{131}I)...specifična aktivnost sledilca ^{131}I [sunki $\text{s}^{-1} \text{g}^{-1}$]

A₀ (^{131}I)...preračunana specifična aktivnost ^{131}I ($T_{1/2} = 8,02$ dni) ob časo t_0

Vsebnost ^{129}I in ^{127}I smo določili v sedimentih z območja Sredozemskega in Jadranskega morja (slika 11). Vsebnost ^{129}I je bila v vseh morskih sedimentih, z izjemo sedimenta, vzročenega na zunanjem robu Koprskega zaliva, pod mejo zaznavnosti metode RNAA, $5 \cdot 10^{-14} \text{ g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ (preglednica 22).

Preglednica 22. Določitev izotopskega deleža ^{129}I in ^{127}I v morskih sedimentih iz Sredozemskega in Jadranskega morja

Table 22. Determination of the ^{129}I and ^{127}I isotopic ratio in marine sediments from the Mediterranean and Adriatic Sea

Lokacija	Datum vzorčenja	^{129}I ($10^{-08} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I ($10^{-04} \text{Bq kg}^{-1}$)	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-10})
Benetke	november, 2004	< 5,0	< 3,3	$13,5 \pm 0,9$	< 37
Jonsko morje, Grčija	november, 2004	< 5,0	< 3,3	$26,5 \pm 1,5$	< 19
Trst	junij, 2005	< 5,0	< 3,3	$46,4 \pm 2,0$	< 11
Delta reke Pad	junij, 2005	< 5,0	< 3,3	$70,6 \pm 2,9$	< 7
Benetke	junij, 2005	< 5,0	< 3,3	$16,9 \pm 1,1$	< 30
Pulj	junij, 2005	< 5,0	< 3,3	$18,1 \pm 1,3$	< 28
Kornati	junij, 2005	< 5,0	< 3,3	$36,9 \pm 1,9$	< 14
sredina Tržaškega zaliva	september, 2005	< 5,0	< 3,3	$76,8 \pm 3,5$	< 7
sredina Piranskega zaliva	september, 2005	< 5,0	< 3,3	$71,5 \pm 2,9$	< 7
2 milji od piranske Punte	september, 2005	< 5,0	< 3,3	$59,3 \pm 3,2$	< 8
zunanj rob Koprškega zaliva	september, 2005	$25,6 \pm 6,1$	17 ± 4	$73,2 \pm 4,8$	~35

Rezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, $k = 2$).

Moran in sod. (1998) so določili izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v morskih sedimentih, vzorčenih na zahodni in vzhodni obali Severne ter zahodni obali Južne Amerike (Hatteras, Peru, Oregon, Ekvador in Baja). Kot prednuklearno vrednost izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ so določili vrednost $1,5 \cdot 10^{-12}$. Ugotovili so, da so vrhnje plasti sedimenta (0–25 cm) obogatene z ^{129}I antropogenega izvora. Kot najvišje izotopsko razmerje so določili vrednost $8,5 \cdot 10^{-11}$, kar nakazuje, da so morski sedimenti severne poloble v območju severozahodne Evrope, predvsem Baltskega morja, pod močnim vplivom izpustov Sellafielda in La Haguea, kot navajajo Aldahan in sod. (2007). Le-ti so v vrhnjih plasteh sedimentov (do 10 cm) določili vrednost $1 \cdot 10^{-7}$ za izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$, kar je za tri velikostne razrede več v primerjavi z vrednostjo, ki so jo določili Moran in sod. (1998), in dva velikostna razreda več v

primerjavi z našo najvišjo vrednostjo, določeno za zunanji rob Koprskega zaliva, $3,5 \cdot 10^{-9}$ (preglednica 22).

Hou in sod. (2003b) so določili ^{129}I v posameznih frakcijah joda v vzorcu sedimenta iz Irskega morja. Podobno kot za tla so ugotovili, da je 85 % ^{129}I vezanega na organske komponente in okside sedimenta.

4.2.2.2 Rjave morske alge

Vsebnost ^{129}I in ^{127}I smo določili v rjavi morski algi, jadranski bračič (*Fucus virsoides*), ki je endemit v Jadranskem morju in hkrati edini predstavnik rodu *Fucus* (slika 12, Munda, 1990 in 1993). V morskih algah je večina joda vezanega na proteine (Hou in sod., 1997 in 2000a)

V vseh analiziranih vzorcih je bila vsebnost ^{129}I nad mejo zaznavnosti metode RNAA, kar je bilo tudi pričakovati, saj so rjave alge hiperakumulatorji joda.

Masni delež stabilnega ^{127}I v analiziranih vzorcih jadranskega bračiča (*Fucus virsoides*) je bil v območju med 279,9 in 505,9 $\mu\text{g g}^{-1}$. Vrednosti za ^{129}I in izotopski delež $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ so bile v območju od 25,8 do $109,4 \cdot 10^{-7} \mu\text{g g}^{-1}$ ($17,1\text{--}72,7 \cdot 10^{-4} \text{ Bq kg}^{-1}$) in od 5,3 do $31,4 \cdot 10^{-10}$ (preglednica 23).

Preglednica 23. Določitev koncentracije ^{129}I in ^{127}I v rjavih morskih algah *Fucus virsoides* (jadranski bračič) iz severnega Jadranskega morja, vzorčenih vzdolž italijanske, slovenske in hrvaške obale

Table 23. Determination of ^{129}I and ^{127}I concentration in brown marine alga *Fucus virsoides* (Donati) J. Agardh, from the North Adriatic Sea, collected along the Italian, Slovenian and Croatian coasts

Lokacija	Datum vzorčenja	^{129}I ($10^{-08} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I ($10^{-04} \text{Bq kg}^{-1}$)	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-10})
Piran	september, 2005	42 ± 11	27 ± 7	411 ± 27	$10,1 \pm 1,1$
Portorož	september, 2005	47 ± 13	31 ± 9	420 ± 31	$11,2 \pm 1,2$
Ankaran	september, 2005	40 ± 10	27 ± 7	448 ± 34	$8,9 \pm 0,8$
Debeli rtič	september, 2005	43 ± 12	29 ± 8	506 ± 35	$8,6 \pm 0,8$
Žusterna	september, 2005	36 ± 10	24 ± 6	371 ± 26	$9,8 \pm 0,9$
Ribiška vas	junij, 2006	34 ± 9	23 ± 6	234 ± 18	$14,6 \pm 1,5$
Nabrežina	junij, 2006	26 ± 6	17 ± 4	491 ± 28	$5,3 \pm 0,4$
Sesljan	junij, 2006	28 ± 6	19 ± 4	410 ± 35	$6,8 \pm 0,6$
grad Miramar	junij, 2006	33 ± 7	22 ± 5	441 ± 20	$7,6 \pm 0,8$
Trst	junij, 2006	38 ± 12	25 ± 7	484 ± 22	$7,9 \pm 0,9$
Poreč	oktober, 2006	56 ± 14	37 ± 10	380 ± 21	$14,7 \pm 1,6$
Umag	oktober, 2006	51 ± 15	34 ± 10	280 ± 18	$18,2 \pm 2,0$
Rovinj	oktober, 2006	109 ± 25	73 ± 16	348 ± 26	$31,4 \pm 3,6$

Rezultati so podani z merilno negotovostjo (95 % interval zaupanja, $k = 2$).

Koncentracije ^{127}I in ^{129}I ter izotopski deleži $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ se med posameznimi analiziranimi vzorci alg bistveno ne razlikujejo. To je verjetno zaradi tega, ker smo analizirali samo eno vrsto alg, jadranski bračič (*Fucus virsoides*), vzorčenih v obdobju enega leta. Fiziološke variacije znotraj iste vrste so občutno manjše kot variacije med različnimi vrstami alg.

Povprečna koncentracija stabilnega joda za jadranski bračič, vzorčen vzdolž slovenske obale, je $431 \pm 35 \mu\text{g g}^{-1}$, kar je zelo podobno povprečni vrednosti, dobljeni za italijansko obalo, $412 \pm 28 \mu\text{g g}^{-1}$ in nekoliko višje kot vzdolž zahodne obale Istre (Hrvaška), $336 \pm 27 \mu\text{g g}^{-1}$ (preglednica 23). Povprečna vrednost za izotopski delež $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ je prav tako zelo podobna za slovensko ($9,8 \pm 1,0 \cdot 10^{-10}$) in italijansko obalo ($8,4 \pm 1,0 \cdot 10^{-10}$), za zahodno obalo hrvaške

Istre pa je ta vrednost dvakrat višja, $21,5 \pm 3,0 \cdot 10^{-10}$. Naši rezultati potrjujejo, da je ^{129}I v algah navzoč, kar je v soglasju s podatki iz literature (Fréchou in sod., 2003a; Hou in sod., 1999 in 2000c).

Hou in sod. (1997) so ugotovili, da se kemijske zvrsti in vsebnost joda v različnih algah občutno razlikujejo. Raziskovali so sedem različnih morskih alg in najvišjo vsebnost joda določili v algi *Laminaria japonica* ($3040 \mu\text{g g}^{-1} \text{ }^{127}\text{I}$, na suho snov, od katerega ga je bilo 99,2 % topnega v vodi). Preostalih šest alg je imelo nižje vsebnosti joda, od katerega ga je bilo 16–41 % vodotopnega. Zato menijo, da se mehanizmi za privzem joda in njegova biorazpoložljivost pri različnih vrstah alg razlikujejo.

Fréchou in sod. (2003a in 2003b) so izmerili aktivnost ^{129}I v šestnajstih različnih vrstah morskih alg, vzorčenih v Gouryju (Francija) oktobra 1998 in marca 1999. Ta predel je pod vplivom neposrednih izpustov tekočih efluentov iz predelovalne tovarne za izrabljeno reaktorsko gorivo v La Hagueu. Iskali so primeren bioindikator za sledenje vpliva izpustov ^{129}I na okolje. Dobili so vrednosti v območju od $\sim 1 \text{ Bq kg}^{-1}$ suhe snovi za *Porphyra purpurea* in do $\sim 320 \text{ Bq kg}^{-1}$ suhe snovi za *Laminaria digita*. Stabilen jod je bil v koncentracijskem območju od $\sim 40 \mu\text{g g}^{-1}$ suhe snovi do $5500 \mu\text{g g}^{-1}$ suhe snovi. Rjave alge so imele najvišje faktorje obogatenja za stabilni jod. Izračunali so jih tako, da so vsebnost stabilnega joda v svežih algah delili z vsebnostjo stabilnega joda v morski vodi, ki je približno $60 \mu\text{g L}^{-1}$. *Fucus serratus* je imel faktor obogatenja 2500, medtem ko je imela *Laminaria digita* faktorje obogatenja vse do 20000. Faktorji obogatenja za ostale vrste morskih alg (zelene in rdeče) so bili nižji. Avtorji so te razlike povezali z različnimi nivoji rasti vsake vrste (rjava alga *Laminaria digita* raste v najplitvejšem predelu obale in ima zato najvišje koncentracijske faktorje za stabilen jod, saj ga je v tem predelu največ). Vendar, aktivnosti ^{129}I in izotopska razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ niso nakazovala gradienta naraščanja ali padanja glede na vertikalno porazdelitev posameznih vrst alg. Sklepali so, da ima kontaktni čas morskih alg s kontaminirano morsko vodo manjši vpliv na vsebnost ^{129}I kot njihova fiziološka sposobnost privzema joda (Fréchou in sod., 2003b).

Muramatsu in sod. (1988, 1995b in 2004) so opazili padanje izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ od najvišjih do najnižjih vrednosti; to je sledilo vertikalni porazdelitvi morskih alg (*Gloiopeltis furcata*, *Hizikia fusiforme* in *Undaria pinnatifidia*), ki so jih vzorčili okoli Tokai-mura (Japonska), kjer so številni jedrski objekti, tudi obrat za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva. To je v skladu s trditvijo, da koncentracije ^{129}I v morski vodi padajo z naraščanjem globine (Raisbeck in Yiou, 1999). Glavni viri ^{129}I na tem območju so verjetno atmosferske depozicije ^{129}I (s padavinami in suhe – aerosol), za razliko od območja Goury (Francija), ki so ga raziskovali Fréchou in sod. (2003a in 2003b). Na tem območju prevladujejo tekoči izpusti v primerjavi z atmosferskimi izpusti v obliki plinov, zato niso opazili padanja izotopskega razmerja $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ z globino, saj je ^{129}I enakomerno porazdeljen skozi celoten vodni steber.

Preglednica 24 prikazuje primerjavo vsebnosti ^{129}I v morskih algah z različnih lokacij po svetu. Izotopsko razmerje za Jadransko morje dosega vrednosti vse do 10^{-9} , kar je za en velikostni razred več kot vzdolž kitajske obale (Hou in sod., 2000b), do dva velikostna razreda manj kot v Baltskem morju (Hou in sod., 1999), ki je pod vplivom neposrednih tekočih izpustov iz La Haguea in Sellafielda, in do štirih velikostnih razredov manj kot na območju predelovalnega obrata La Haguea (Fréchou in sod., 2003b). Iz preglednice 24 je razvidno, da se je izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ na *Fucus vesiculosus* v območju Baltskega morja od leta 1989 do 1998 povečalo s ~ 400 na $\sim 3400 \cdot 10^{-10}$, kar je skoraj za faktor deset (Hou in sod., 1999 in 2000c).

Preglednica 24. Primerjava vsebnosti ^{129}I v morskih algah (preračunano na suho snov) z različnih lokacij**Table 24.** Comparison of ^{129}I levels in marine algae (on dry weight basis) from different locations

Vrsta alge	Datum vzročenja	Lokacije	^{129}I ($10^{-3} \text{ Bq kg}^{-1}$)	^{127}I ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ($10^{-10} \text{ g g}^{-1}$)	Vir
<i>F. vesiculosus</i>	dec. 1988	Islandija(1)	$0,9 \pm 0,05$	$330,0 \pm 0,7$	$3,95 \pm 0,24$	Hou in sod., 1999
<i>F. vesiculosus</i>	dec. 1988	Islandija(2)	$1,4 \pm 0,06$	$364,0 \pm 1,5$	$5,97 \pm 0,26$	
<i>F. vesiculosus</i>	nov. 1989	Klint, Danska	$87,0 \pm 6,5$	$328,0 \pm 4,2$	$399,0 \pm 5,9$	
<i>F. vesiculosus</i>	april 1992	Klint, Danska	$161,4 \pm 14,5$	$375,0 \pm 5,3$	$648,0 \pm 10,4$	
<i>F. vesiculosus</i>	mar. 1994	Klint, Danska	$350,8 \pm 1,3$	$382,0 \pm 3,0$	1380 ± 10	Hou in sod., 2000c
<i>F. vesiculosus</i>	mar. 1996	Klint, Danska	$547,4 \pm 2,7$	$504,0 \pm 12,0$	1630 ± 40	
<i>F. vesiculosus</i>	jan. 1998	Klint, Danska	$579,3 \pm 3,3$	$256,0 \pm 10,0$	3410 ± 130	
<i>F. vesiculosus</i>	okt. 1998	Goury, Francija	~ 19600	$\sim 297,4$	~ 101000	Fréchou in sod., 2003b
<i>F. vesiculosus</i>	mar. 1999	Goury, Francija	~ 44800	$\sim 354,0$	~ 194000	
<i>L. japonica</i>	julij 1996	Xiamen, Kitajska	$3,5 \pm 0,2$	2980 ± 10	$1,73 \pm 0,12$	Hou in sod., 2000b
<i>L. japonica</i>	april 1997	Weihai, Kitajska	$2,2 \pm 0,1$	2850 ± 10	$1,09 \pm 0,06$	
<i>F. virsoides</i>	sept. 2005	Koprski in Piranski zaliv, Slovenija	$2,77 \pm 0,84$	$431,2 \pm 34,5$	$9,72 \pm 1,09$	Ta študija
<i>F. virsoides</i>	junij 2006	Tržaški zaliv, Italija	$2,12 \pm 0,60$	$411,7 \pm 28,3$	$8,43 \pm 1,04$	
<i>F. virsoides</i>	okt. 2006	Zahodna obala Istre, Hrvaška	$4,79 \pm 1,51$	$335,9 \pm 27,2$	$21,46 \pm 3,08$	

4.2.3 Izvor ^{129}I na območju Slovenije

Biogeokemično kroženje joda omogoča njegovo izhlapevanje v atmosfero v obliki hlapnih organskih jodovih zvrsti, VHOC – kot je na primer jodo metan in tudi molekularni jod. Na območju Slovenije smo z razvito metodo RNAA uspeli določiti vsebnost ^{129}I zgolj v rjavi morski algi jadranski bračič (*Fucus virsoides*). V ostalih okoljskih vzorcih (tla, smrekove iglice in morski sediment) je bila vsebnost ^{129}I pod mejo zaznavnosti razvite metode RNAA ($5 \cdot 10^{-14} \text{ g g}^{-1}$).

Jadranski bračič raste v priobalnem pasu, pritrjen na skalah, v bibavičnem pasu morju. Izpostavitve te alge zraku (atmosferi) in dežju je precejšnja. Jadransko morje je izolirano pred vplivi neposrednih izpustov iz La Haguea in Sellafielda (Gómez, 2003), ki preko morskih tokov vplivajo na severovzhodni Atlantik, Severno morje in Arktiko (Hou in sod., 2000c in 2002). Obrat za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva se nahaja tudi v Marcoulu na jugozahodu Francije v bližini reke Rhone, ki se izliva v Sredozemsko morje. Kljub temu, da so obrat zaprli leta 1997 spiranje ^{129}I akumuliranega v tleh na brižini reke Rhone še vedno lahko predstavlja morebitni neposredni vir ^{129}I za Sredozemsko in tako tudi Jadransko morje. Duffa in Fréchou (2003) sta določila vsebnost ^{127}I in ^{129}I v desetih rastlinskih vzorcih z bližnjega območja Marcoula. Koncentracije stabilnega joda so bile v območju od $1,3 \pm 0,1$ do $13,6 \pm 0,8 \mu\text{g g}^{-1}$ ter ^{129}I v območju od 1,3 do $6,9 \text{ Bq kg}^{-1}$, kar je za približno tri velikostne razrede več kot v vzorcih rjavih alg analiziranih v tej študiji (preglednica 23). Ne navajata pa podatek, koliko ^{129}I je bilo sporščenega v okolje iz tega obrata.

Najverjetnejše depozicije ^{129}I v Sloveniji (kopenske in morske) so atmosferskega izvora. Lahko so neposredne in prihajajo od atmosferskih depozicij La Haguea in Sellafielda ali posredne, saj se s padavinami na območju Slovenije sprosti ^{129}I , ki predhodno s tekočimi efluenti iz La Haguea in Sellafielda prihaja v morje, od koder ^{129}I prehaja v atmosfero in se s padavinami (tudi s suho depozicijo) spira v morsko in kopensko okolje.

^{129}I , sproščen v atmosfero iz predelovalnih obratov za jedrsko gorivo, je lahko v obliki jodo metana (CH_3I), ki je dovolj inerten, da se lahko z vetrovi prenese ne samo v merilu Evrope, ampak tudi globalno (Muramatsu in sod., 2004). Atmosferski tok ^{129}I v Evropi (neposredni izpusti v atmosfero), ki prihajajo iz La Haguea in Sellafielda, znašajo 3–10 kg na leto (Moran in sod., 1999; Hou in sod., 2002; Santschi in sod., 2004). Jodo metan se pretvori v vodotopne molekule (kot so HI) in/ali ione, adsorbirane na aerosol (kot IO_3^-). Le-ti se s suhimi in mokrimi depozicijami vračajo na Zemljo (Buraglio in sod., 2001).

Glavni vir ^{129}I na ozemlju Slovenije predstavljajo torej padavine oz. mokre depozicije. Padavine (dež) vsebujejo nizke koncentracije stabilnega joda, okrog $1\ \mu\text{g L}^{-1}$ (Schmidt, 1998). Reithmeier in sod. (2005) so proučevali ^{129}I v vzorcih deževnice (Bavarska, Nemčija) v obdobju enega leta (med julijem 2003 in oktobrom 2004). Na podlagi meritev so določili, da je povprečna depozicija ^{129}I s padavinami $1,2 \cdot 10^{12}$ atomov $\text{m}^{-2}\ \text{leto}^{-1}$ ($2,5 \cdot 10^{-10}\ \text{g m}^{-2}\ \text{leto}^{-1}$). Če to vrednost ekstrapoliramo na površino celotne Evrope (okrog $10,150,000\ \text{km}^2$), dobimo povprečno letno depozicijo ^{129}I , $\sim 2600\ \text{g leto}^{-1}$ za leto 2004.

Krupp in Aumann (1999) sta naredila podobno raziskavo v obdobju med avgustom 1994 in skozi celotno leto 1995. Deževnico sta zbirala na petih vzorčevalnih mestih v Nemčiji (eno je bilo na obali Severnega morja, Westerland, preostala štiri pa so bila v notranjosti Nemčije, oddaljena od morja). Skupne letne depozicije so variirale od $7,8 \cdot 10^{-10}$ do $16,3 \cdot 10^{-10}\ \text{g m}^{-2}$, s povprečjem $11,4 \cdot 10^{-10}\ \text{g m}^{-2}$ za leto 1995, kar je približno petkrat več kot leta 2004 (Reithmeier in sod., 2005). Podatki, ki sta jih dobila Krupp in Aumann (1999), nakazujejo, da je Severno morje velik rezervoar ^{129}I , ki prihaja na to območje z izpusti iz La Haguea in Sellafielda. Iz Severnega morja vstopa jod v atmosfero z volatilizacijo, predvsem v obliki jodo metana in molekularnega joda.

Buraglio in sod. (2001) so analizirali 24 vzorcev deževnice in devet vzorcev snega, ki so jih med letoma 1998 in 1999, vzorčili v Uppsali (Švedska) ter štiri vzorce deževnice s severne Italije. Kot povprečno letno depozicijo ^{129}I so določili vrednost $3,3 \cdot 10^{12}$ atomov $\text{m}^{-2} \text{ leto}^{-1}$ ($6,9 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-2} \text{ leto}^{-1}$), kar je manj kot leta 1995 (Krupp in Aumann, 1999), vendar več kot leta 2004 (Reithmeier in sod., 2005). To pomeni, da se depozicije ^{129}I s padavinami v obdobju zadnjih dveh desetletij v Evropi zmanjšujejo. Na drugi strani pa se skupni izpusti ^{129}I v Evropi od leta 1992 povečujejo (Hou in sod., 2000c in 2002). Negativni trend depozicije ^{129}I s padavinami lahko razložimo z razlikami v stopnji precipitacije (padavin), z vplivom vetrov na širjenje ^{129}I in z različnimi letnimi temperaturami za vsako leto v določenih geografskih območjih.

4.3 PRIVZEM JODOVIH IZOTOPOV PRI KVASOVKI *S. cerevisiae*

Mikroorganizmi se vključujejo v kroženje elementov v okolju, saj s svojim delovanjem, to je metabolizmom, pretvarjajo in razgrajujejo spojine ter tako vplivajo na njihovo mobilnost. Jod je v okolju predvsem v obliki jodida (I^-) in jodata (IO_3^-), samo majhen delež joda je v organski obliki, to so jodo alkani, in v obliki elementarnega joda (I_2) (Hou in sod., 2001).

Do danes so raziskali biokemijski mehanizem privzema joda samo pri dveh organizmih, to je pri sesalcih (epitelne celice ščitnice) in rjavih morskih algah. Eskandari in sod. (1997) so za sesalce (študija na podganah), Küpper in sod. (1998) pa za morski algi *Laminaria saccharina* in *L. digita* ugotovili, da je biorazpoložljiva oblika joda jodid (I^-). Prenos jodida v epitelne celice ščitnice pri sesalcih poteka z aktivnim transportom, ki ga omogoča integralni membranski protein, t. i. Na^+/I^- simporter (Eskandari in sod., 1997). Za rjave morske alge vrste *Laminaria* so ugotovili, da so najbolj učinkovit organizem za akumulacijo joda, saj so t. i. hiperakumulatorji. Že Dangeard (1928) in Kylin (1929) sta vpeljala povezavo med oksidacijo in privzemom joda, to je oksidacijo jodida z »jodid oksidazo« v elementarni jod (I_2). Küpper in sod. (1998) so eksperimentalno dokazali, da privzem jodida pri algah omogoča mehanizem, ki je odvisen od posebne vrste peroksidaze, to je jodo-peroksidaza, katere delovanje je odvisno od vanadija in je vezana na celični steni. Peroksidaze naj bi sodelovale tudi pri halogenaciji, to je pri tvorbi jodo (bromo in kloro) alkanov.

Amachi in sod. (2005b) so izolirali morske bakterije, ki so *in vitro* akumulirale jodid v oksičnih pogojih. Faktor koncentriranja, to je razmerje med koncentracijo privzetega jodida in koncentracijo jodida v okolju (gojišču), je bil do 6000. Za primerjavo: faktorji koncentriranja pri ščitnici sesalcev so v območju od 20 do 40 (Smyth in Dwyer, 2002), pri rjavi morski algi *Laminaria digita* pa do 150000 (Küpper in sod., 1998).

Privzem sledilca ^{125}I , dodanega v obliki jodida, so Ban-nai in sod. (2006) raziskovali pri nitastih glivah. Ugotovili so, da nekatere vrste akumulirajo v gojišče dodani jodid s faktorji

koncentriranja vse do 20, spet druge pa ga pretvarjajo v hlapno obliko, ki so jo identificirali kot jodo metan (CH_3I).

V literaturi nismo našli podatkov o mehanizmu za prenos joda, o njegovi esencialnosti ter biorazpoložljivosti pri kvasovkah. Zato smo hoteli proučiti privzem jodovih izotopov pri kvasovkah, saj te veljajo kot modelni evkariontski (mikro)organizem s podobnimi metabolnimi potmi kot celice drugih evkariontov, tudi človeka. Zato kvasovke, predvsem *Saccharomyces cerevisiae*, velikokrat uporabimo kot osnovni model za proučevanje toksičnosti koncentracijskih območij določenih elementov. Proučevali smo privzem stabilnega izotopa joda v različnih spojinah, jodid, jodat in perjodat, ter njihov vpliv na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*. Ugotavljali smo tudi časovno odvisnost privzema ^{129}I in ^{127}I ter določili privzeto izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$.

4.3.1 Vpliv virov jodida, jodata in perjodata na njihov privzem in rast kvasovke

Kot vir stabilnega joda smo uporabili kalijev jodid (preglednica 25, sliki 28 in 29), kalijev jodat (preglednica 26, sliki 30 in 31) in kalijev perjodat (preglednica 27, sliki 32 in 33). Izvedba poskusa je opisana v točki 3.4.3.2.

Privzem joda pri kvasovovki *S. cerevisiae* smo določili tudi v kontroli, to je pri kultivaciji kvasovke brez prisotnosti vira joda. V kontrolnem poskusu so kvasovke privzele $0,30 \pm 0,02$ $\mu\text{g I g}^{-1}$ suhe biomase.

- Privzem jodida $\text{I}^{(-)}$:

Iz preglednice 25 je razvidno, da je privzem jodida pri kvasovkah majhen. Kvasovke so pri vseh začetnih koncentracijah jodida v gojišču privzele manj kot 1 % jodida. S slike 28 je razvidno, da se je koncentracija privzetega jodida pri kvasovkah z naraščanjem koncentracije jodida v gojišču povečevala. Pri najvišji začetni koncentraciji jodida v gojišču so kvasovke privzele $\sim 800 \mu\text{g jodida g}^{-1}$ SS biomase.

V koncentracijskem območju od 5 do $100 \mu\text{g jodida g}^{-1}$ gojišča so kvasovke v povprečju privzele 0,04 % gojišču dodanega jodida. Ta privzem se je pri začetni koncentraciji $200 \mu\text{g jodida g}^{-1}$ gojišča povečal na 0,34 % in nato postopoma upadal, verjetno zaradi inhibitornih učinkov jodida na rast kvasovk pri višjih začetnih koncentracijah v gojišču. Pri najvišji začetni koncentraciji jodida v gojišču ($3000 \mu\text{g g}^{-1}$) so kvasovke privzele 0,10 % v gojišču prisotnega jodida (preglednica 25).

Rahlo inhibitorni učinek jodida na rast kvasovk v območju od 1000 do $3000 \mu\text{g jodida g}^{-1}$ je razviden tudi iz rastne krivulje, vendar se pokaže šele v stacionarni fazi rasti (slika 29). Pri začetnih koncentracijah jodida v območju od 5 do $500 \mu\text{g g}^{-1}$ gojišča ni bilo opaziti inhibitornega učinka na rast kvasovk v stacionarni fazi (slika 29). Pri vseh začetnih koncentracijah jodida v gojišču smo opazili pozitiven vpliv na rast kvasovk v eksponentni fazi rasti.

Preglednica 25. Privzem joda, dodanega kot KI v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹

Table 25. Accumulation of iodine added as KI to the growth medium YNB after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm⁻¹

$C_0(\text{I})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{I})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{kvasovke})$ ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ SS}$)	$C(\text{gojišče})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	F	Privzem (%)
5	$4,8 \pm 0,3$	$0,52 \pm 0,06$	$4,9 \pm 0,3$	0,11	0,05
10	-	$0,60 \pm 0,05$	$9,9 \pm 0,1$	0,06	0,03
20	-	$1,18 \pm 0,13$	$21,1 \pm 0,7$	0,06	0,03
50	$51,0 \pm 3,1$	$3,11 \pm 0,50$	$48,8 \pm 7,3$	0,06	0,03
100	-	$12,4 \pm 0,4$	$95,7 \pm 2,5$	0,13	0,05
200	-	$183,8 \pm 6,2$	$195,4 \pm 8,3$	0,94	0,34
500	$510,4 \pm 37,1$	$454,1 \pm 37,2$	$508,2 \pm 11,5$	0,89	0,31
1000	$1130,9 \pm 74,0$	$548,9 \pm 27,6$	$959,5 \pm 117,9$	0,57	0,20
2000	-	$669,1 \pm 2,6$	$2193,2 \pm 81,9$	0,31	0,11
3000	$2993,7 \pm 170,3$	$799,8 \pm 14,2$	$2965,4 \pm 153,3$	0,27	0,10

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev.

$C_0(\text{I})$...teoretična začetna koncentracija jodida v gojišču

$C(\text{I})$...dejanska začetna koncentracija jodida v gojišču

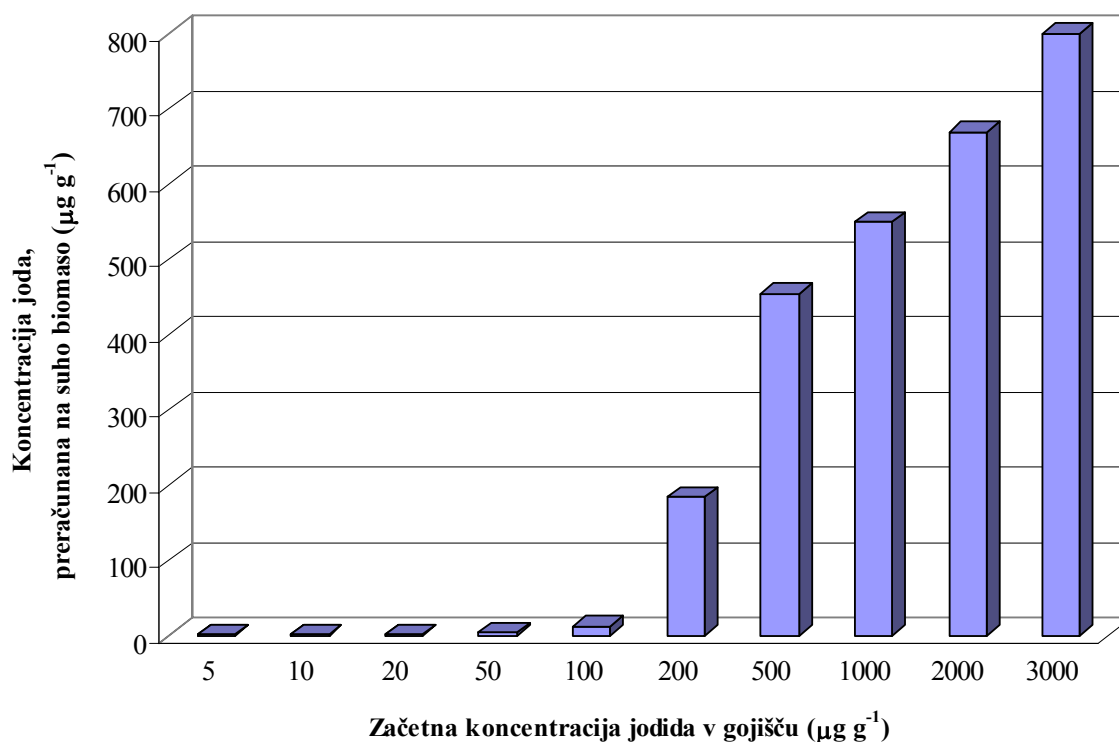
$C(\text{kvasovke})$...privzem jodida pri kvasovkah, preračunan na suho biomaso

$C(\text{gojišče})$...koncentracija jodida v gojišču, določena po 24 urah kulture

F...razmerje med koncentracijo jodida pri kvasovkah ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ SS}$) in koncentracijo jodida v gojišču, $F =$

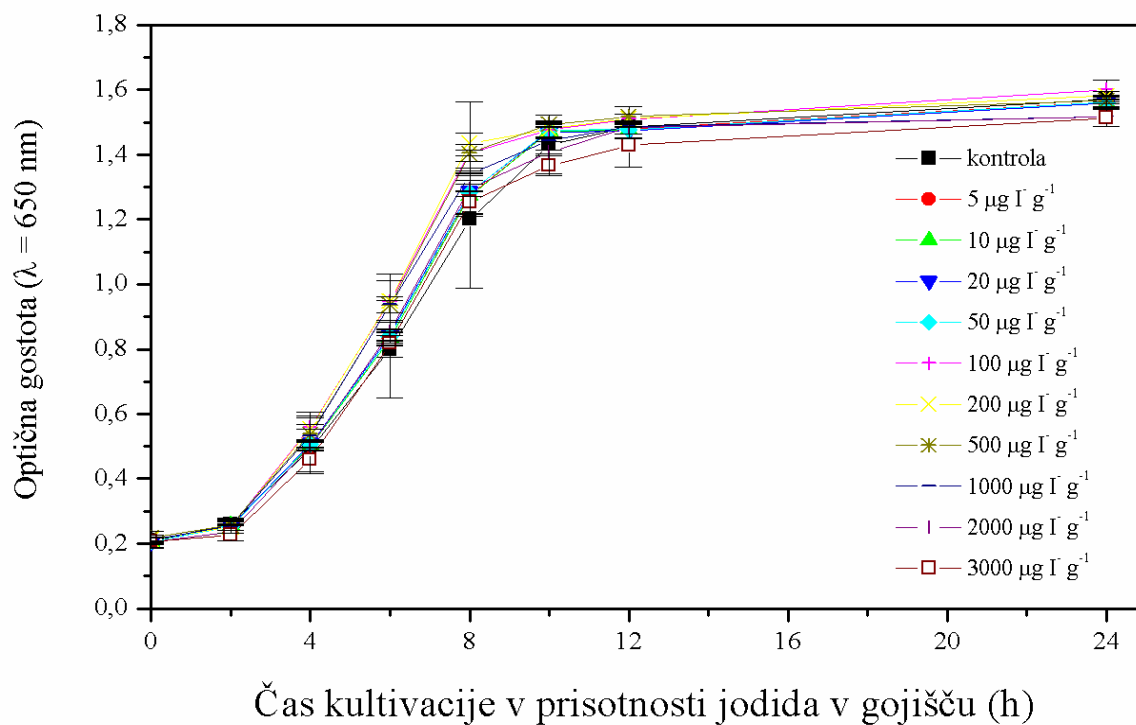
$C(\text{kvasovke}) / C(\text{gojišče})$

-...koncentracija ni bila izmerjena



Slika 28. Koncentracija privzetega joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KI v tekoče gojišče YNB po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹

Figure 28. Concentration of iodine accumulated by yeast *Saccharomyces cerevisiae*, added as KI to the growth medium YNB after 24 h of aerobic submerse cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm⁻¹



Slika 29. Vpliv desetih različnih začetnih koncentracij joda, dodanega na začetku kultivacije v gojišče YNB v obliki KI, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}); rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 29. Influence of 10 different initial concentrations of iodine, added as KI to the culture medium YNB, on growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerge cultivation on a shaker ($T = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$, 250 rpm^{-1})

- Privzem jodata $\text{I}^{(\text{V})}$:

Zaradi slabše topnosti jodata (9,22 g KIO_3 na 100 g vode) nismo mogli pripraviti začetne koncentracije $\text{I}^{(\text{V})}$ v gojišču v celotnem koncentracijskem območju kot $\text{I}^{(\text{I-})}$ (KI) (od 5 do 3000 $\mu\text{g g}^{-1}$), katerega topnost je 148 g KI na 100 g vode, ampak v območju od 5 do 750 $\mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ (preglednica 26). Dodali smo največji možni volumen raztopine $\text{I}^{(\text{V})}$ na zalogi (1 mL), saj bi drugače spremenili sestavo gojišča – koncentracijo vitaminov, mikro- in makroelementov.

Privzem jodata je bil največji pri najnižji začetni koncentraciji jodata v gojišču, 0,62 % (preglednica 26), nato pa se je z naraščanjem koncentracije jodata v gojišču postopoma zmanjševal, kar kaže na njegov inhibitorni vpliv na kvasovke. Privzem jodata je bil pri nizkih začetnih koncentracijah bistveno večji kot privzem jodida v vsem koncentracijskem območju (primerjaj privzem jodida v preglednici 25 s privzemom jodata v preglednici 26). Možna razlaga je ta, da se kvasovke zaščitijo pred vplivi jodata tako, da ga reducirajo do jodida, in posledično se privzem joda poveča. Ob tem smo privzeli, da je biorazpoložljiva oblika joda za kvasovke jodid.

Iz slike 30 in preglednice 26 je razvidno, da je koncentracija privzetega jodata, izražena na g SS biomase, do začetne koncentracije jodata 500 $\mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ gojišča zvezno naraščala z naraščanjem koncentracije jodata v gojišču. Kvasovke so pri 500 $\mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ gojišča privzele $\sim 180 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ SS biomase. Pri 750 $\mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ gojišča pa je privzem občutno padel, na $\sim 70 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ SS biomase (za 61 %), kar je mogoče razložiti z izrazito inhibicijo kvasovk pri tej začetni koncentraciji $\text{I}^{(\text{V})}$ v gojišču in s posledičnim zmanjšanjem števila kvasovk (slika 31).

Za razliko od jodida pa jodat vpliva na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, saj je rast inhibirana v eksponentni fazi rasti že pri 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije jodata, dodanega v gojišče YNB (slika 31). Z naraščanjem začetne koncentracije jodata v gojišču narašča tudi inhibitorni učinek le-tega na rast kvasovk.

Preglednica 26. Privzem joda, dodanega kot KIO_3 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min^{-1}

Table 26. Accumulation of iodine added as KIO_3 to the growth medium YNB after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm $^{-1}$

$C_0(\text{I})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{I})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{kvasovke})$ ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ SS}$)	$C(\text{gojišče})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	F	Privzem (%)
5	$6,5 \pm 0,5$	$9,4 \pm 1,2$	$5,3 \pm 0,7$	1,78	0,62
10	-	$12,1 \pm 1,9$	$10,0 \pm 0,2$	1,21	0,42
20	-	$12,8 \pm 1,1$	$20,4 \pm 1,2$	0,63	0,22
50	$54,4 \pm 3,6$	$13,5 \pm 2,3$	$45,7 \pm 2,2$	0,30	0,10
100	-	$23,9 \pm 3,1$	$99,2 \pm 8,8$	0,24	0,08
200	-	$37,1 \pm 4,8$	$189,5 \pm 18,7$	0,20	0,06
500	$498,8 \pm 39,0$	$178,8 \pm 18,7$	$432,5 \pm 26,8$	0,41	0,13
750	$592,3 \pm 107,4$	$71,0 \pm 12,4$	$562,8 \pm 55,9$	0,13	0,03

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev.

$C_0(\text{I})$...teoretična začetna koncentracija jodata v gojišču

$C(\text{I})$...dejanska začetna koncentracija jodata v gojišču

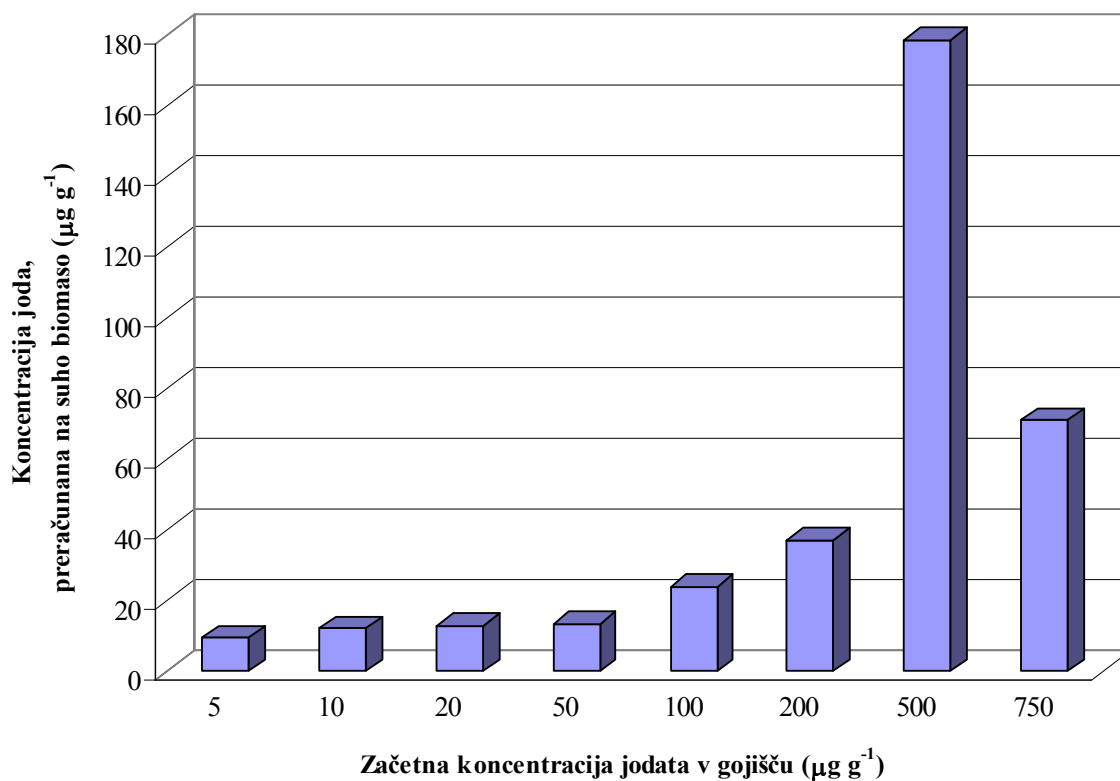
$C(\text{kvasovke})$...privzem jodata pri kvasovkah, preračunan na suho biomaso

$C(\text{gojišče})$...koncentracija jodata v gojišču, določena po 24 urah kulture

F...razmerje med koncentracijo jodata pri kvasovkah ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ SS}$) in koncentracijo jodata v gojišču, $F =$

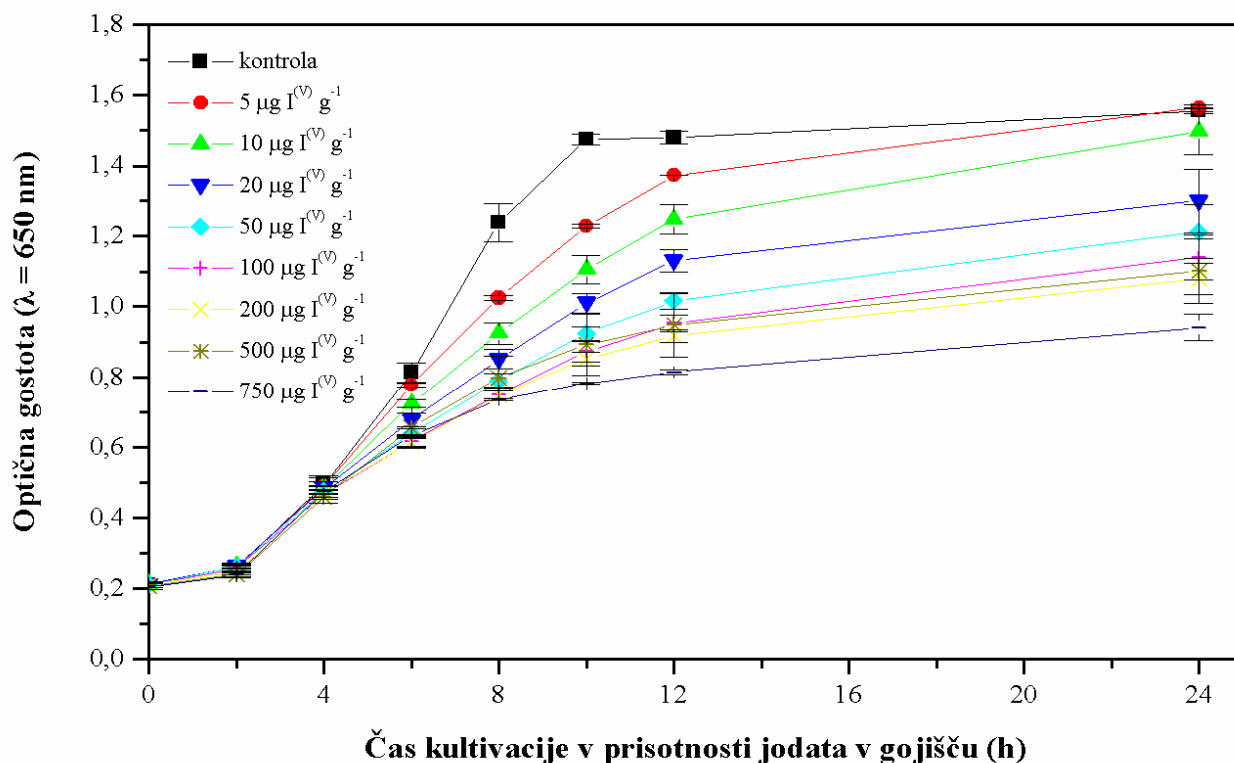
$C(\text{kvasovke})/C(\text{gojišče})$

-...koncentracija ni bila izmerjena



Slika 30. Koncentracija privzetega joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KIO_3 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹

Figure 30. Concentration of iodine accumulated by yeast *Saccharomyces cerevisiae*, added as KIO_3 to the growth medium YNB after 24 h of aerobic submersive cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm⁻¹



Slika 31. Vpliv osmih različnih začetnih koncentracij joda, dodanega na začetku kultivacije v gojišče YNB v obliki KIO_3 , na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}); rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 31. Influence of 10 different initial concentrations of iodine, added as KIO_3 to the culture medium YNB, on growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerse cultivation on a shaker ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 rpm^{-1})

- Privzem perjodata $\text{I}^{(\text{VII})}$:

Zaradi slabe topnosti perjodata (0,51 g KIO_4 na 100 g vode) nismo mogli pripraviti začetne koncentracije $\text{I}^{(\text{VII})}$ v gojišču v celotnem koncentracijskem območju kot $\text{I}^{(\text{I-})}$ (KI) (od 5 do 3000 $\mu\text{g g}^{-1}$) in $\text{I}^{(\text{V})}$ (KIO_3) (od 5 do 750 $\mu\text{g g}^{-1}$), ampak v območju od 0,5 do 50 $\mu\text{g I}^{(\text{VII})} \text{g}^{-1}$ (preglednica 27). Dodali smo največji možni volumen raztopine $\text{I}^{(\text{VII})}$ na zalogi (1 mL), saj bi drugače spremenili sestavo gojišča – koncentracijo vitaminov, mikro- in makroelementov.

Največji privzem perjodata je bil, podobno kot pri jodatu (preglednica 26), znova pri najnižji začetni koncentraciji perjodata v gojišču, 0,5 $\mu\text{g I}^{(\text{VII})} \text{g}^{-1}$, in je dosegel 0,51 % (preglednica 27). Z naraščanjem začetne koncentracije perjodata v gojišču se je privzem perjodata pri kvasovkah le nekoliko zmanjšal in se glede na njegovo koncentracijo v gojišču ni bistveno spreminjal (preglednica 27).

S slike 32 je razvidno, da je koncentracija privzetega perjodata pri kvasovkah, preračunana na suho snov biomase, zvezno naraščala z naraščanjem začetne koncentracije perjodata v gojišču. Zaradi inhibitornega delovanja perjodata na rast kvasovk (slika 33) pa se privzem perjodata glede na razpoložljivo množino perjodata v gojišču (preglednica 27) ni bistveno spreminjal oz. se je z naraščanjem začetne koncentracije perjodata v gojišču nekoliko zmanjšal.

Iz rastne krivulje, ki prikazuje vpliv dodatka različnih začetnih koncentracij perjodata v gojišče med kultivacijo kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, je razviden toksičen oz. inhibitoren učinek perjodata na rast kvasovke v vsem proučevanem koncentracijskem območju (slika 33).

Preglednica 27. Privzem joda, dodanega kot KIO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹

Table 27. Accumulation of iodine added as KIO_4 to the growth medium YNB after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm⁻¹

C₀(I) (μg g⁻¹)	C(I) (μg g⁻¹)	C(kvasovke) (μg g⁻¹ SS)	C(gojišče) (μg g⁻¹)	F (%)	Privzem (%)
0,5	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,5 ± 0,1	1,40	0,51
1,0	-	1,1 ± 0,3	0,9 ± 0,1	1,32	0,46
2,0	-	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,4	0,89	0,30
5,0	4,0 ± 0,3	3,1 ± 0,6	3,8 ± 0,9	0,82	0,26
10,0	-	5,5 ± 1,1	5,7 ± 1,1	0,98	0,34
20,0	-	10,5 ± 2,1	12,5 ± 0,5	0,84	0,30
50,0	33,6 ± 1,6	21,9 ± 2,4	32,9 ± 1,5	0,66	0,27

Rezultati so podani kot povprečna vrednost ± SD dveh neodvisnih gojitev.

C₀(I)...teoretična začetna koncentracija perjodata v gojišču

C(I)...dejanska začetna koncentracija perjodata v gojišču

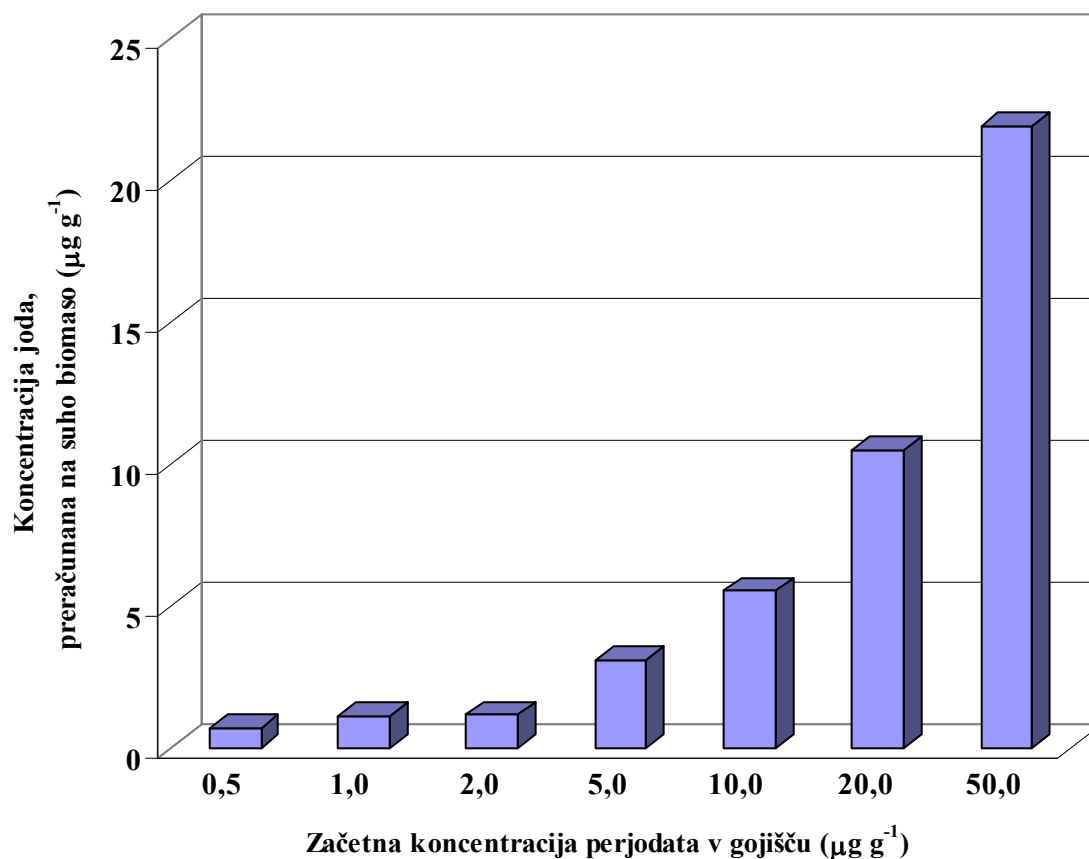
C(kvasovke)...privzem perjodata pri kvasovkah, preračunan na suho biomaso

C(gojišče)...koncentracija perjodata v gojišču, določena po 24 urah kulture

F...razmerje med koncentracijo perjodata pri kvasovkah (μg g⁻¹ SS) in koncentracijo perjodata v gojišču, $F =$

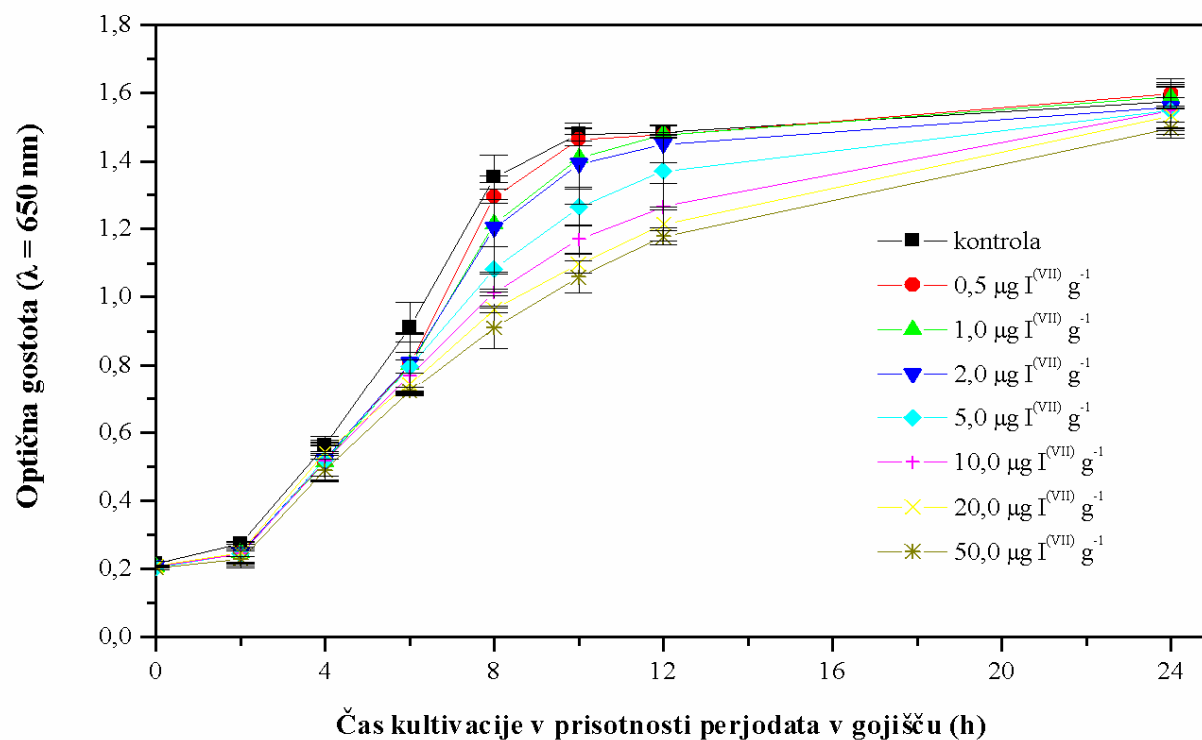
$C(\text{kvasovke})/C(\text{gojišče})$

...koncentracija ni bila izmerjena)



Slika 32. Koncentracija privzetega joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KIO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in 250 vrt. min^{-1}

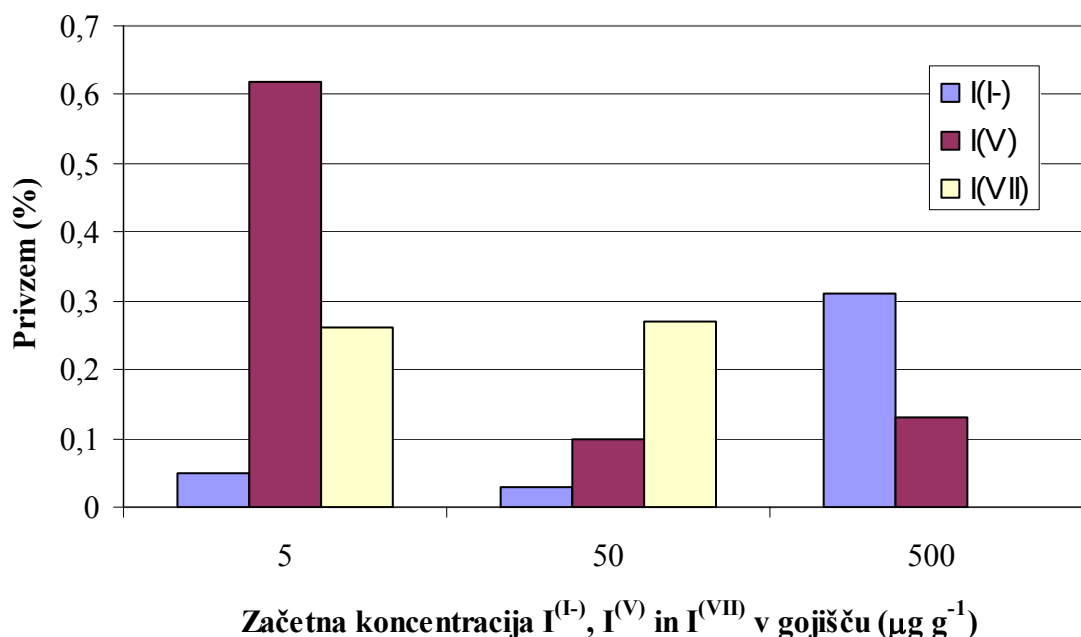
Figure 32. Concentration of iodine accumulated by yeast *Saccharomyces cerevisiae*, added as KIO_4 to the growth medium YNB after 24 h of aerobic submerse cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}



Slika 33. Vpliv sedmih različnih začetnih koncentracij joda, dodanega na začetku kultivacije v gojišče YNB v obliki KIO_4 , na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, $250 \text{ vrt. min}^{-1}$); rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 33. Influence of 7 different initial concentrations of iodine, added as KIO_4 to the culture medium YNB, on growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerse cultivation on a shaker ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 rpm^{-1})

Slika 34 prikazuje učinkovitost privzema jodida (preglednica 25), jodata (preglednica 26) in perjodata (preglednica 27) pri treh različnih začetnih koncentracijah le-teh v gojišču. Pri nižjih začetnih koncentracijah (5 in $50 \mu\text{g g}^{-1}$) je bil privzem najmanjši pri jodidu, ki je glede na podatke iz literature (Küpper in sod., 1998) pri večini organizmov biorazpoložljiva oblika joda. Predpostavimo lahko, da jod ni esencialen element za kvasovke in da je prišlo do povečanja privzema jodata in perjodata predvsem zaradi adsorpcije le-teh na membrano oz. da so kvasovke tako skušale zmanjšati negativen vpliv jodata in perjodata, saj sta inhibirala njuno rast (slika 31 in 33). S slike 34 je razvidno, da se privzem perjodata razlikuje pri različnih začetnih koncentracijah le-tega v gojišču ne razlikuje in da se je privzem jodata z naraščanjem začetne koncentracije le-tega v gojišču zmanjšal.



Slika 34. Primerjava privzema joda pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KI, KIO_3 in KIO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$

Figure 34. Comparison of iodine accumulation by yeast *Saccharomyces cerevisiae* added as KI, KIO_3 and KIO_4 to the growth medium YNB after 24 h of aerobic submerge cultivation in 250 mL erlenmayer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}

4.3.2 Specifičnost vezave za jod ob prisotnosti Se ali Zn ali Cr

Ker smo opazili, da KIO_3 v gojišču zmanjša rast kvasovk, smo hoteli proučiti njegov vpliv tudi ob prisotnosti nekaterih elementov v gojišču. Proučevali smo vpliv v gojišče dodanega $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ali $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ na privzem jodata pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae* med aerobno submerzno kultivacijo, saj je njihov metabolizem pri kvasovkah v literaturi dobro predstavljen (León in sod., 2002; Raspor in sod., 2003; Encinar in sod., 2003; Gharieb in Gadd, 2004; Ferraz in sod., 2004; Jianlong in sod., 2004; Devirgiliis in sod., 2004; Paš in sod., 2004; Fujs in sod., 2005; Dumont in sod., 2005; Jamnik in Raspor, 2005).

Na začetku aerobne submerzne kultivacije smo v gojišče ločeno dodali vir $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ali $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ do različnih začetnih koncentracij, nato smo poleg le-teh dodali vir jodata do začetne koncentracije $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$. Rezultati poskusov so prikazani v preglednicah 28–30 in na slikah 35–40.

- Privzem selenata, $\text{Se}^{(\text{VI})}$:

V kontrolnem poskusu, to je pri kultivaciji kvasovk brez dodanega selenata in jodida, kvasovke niso privzele $\text{Se}^{(\text{VI})}$ oz. je bila njegova koncentracija pod mejo zaznavnosti metode.

Privzem selenata pri kvasovkah z naraščanjem začetne koncentracije selenata v gojišču pada (preglednica 28) zaradi inhibitornega učinka selenata na kvasovke, kar je razvidno iz rastne krivulje (slika 36). Zaradi dodanega jodata v gojišče, do začetne koncentracije $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$, se je privzem selenata zmanjšal za 65 % pri vseh začetnih koncentracijah $\text{Se}^{(\text{VI})}$ v gojišču. (preglednica 28, slika 35); privzem jodata pa se zaradi prisotnosti selenata le nekoliko zmanjša. Samo ob dodanemu jodatu v gojišču do začetne koncentracije $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ (preglednica 26) so kvasovke privzele $13,5 \pm 2,3 \mu\text{g jodata g}^{-1}$ SS bimase, kar je 0,10 % razpoložljivega jodata v gojišču. Ob dodanem $\text{Se}^{(\text{VI})}$ do začetne koncentracije $50 \mu\text{g g}^{-1}$ se je privzem zmanjšal na $10,3 \pm 2,1 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ (0,08 % razpoložljivega jodata), ob začetni

koncentraciji $\text{Se}^{(\text{VI})}$ $500 \mu\text{g g}^{-1}$ pa se je privzem jodata zmanjšal na $10,0 \pm 1,2 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ (0,07 % razpoložljivega jodata). Ob dodatku $\text{Se}^{(\text{VI})}$ do začetne koncentracije $1000 \mu\text{g g}^{-1}$ se je privzem jodata zmanjšal na $6,7 \pm 1,2 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ (0,05 % razpoložljivega jodata). V zmanjšanem privzemu jodata ob naraščanju začetne koncentracije selenata v gojišču se kaže tudi toksičnost selenata pri višjih začetnih koncentracijah (slika 36). S slike 36 je tudi razvidno, da se inhibicija rasti kvasovke zaradi dodatka vira jodata še poveča. Privzem selenata pri kvasovkah (preglednica 28) je primerljiv s privzemom jodida, jodata in perjodata.

Preglednica 28. Privzem selenata, dodanega kot Na_2SeO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50 \mu\text{g g}^{-1}$ gojišča

Table 28. Accumulation of selenium added as Na_2SeO_4 to the YNB growth medium after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1} , without (control experiment) and with added iodine source as KIO_3 to $50 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium

$C_0(\text{Se})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{Se})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{kvasovke})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{gojišče})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	F	Privzem (%)
50	$48,6 \pm 1,8$	$37,0 \pm 3,6$	$41,8 \pm 3,3$	0,89	0,37
500	$566,6 \pm 6,6$	$375,4 \pm 25,2$	$444,1 \pm 25,9$	0,85	0,35
1000	$1179,2 \pm 7,3$	$616,0 \pm 68,6$	$1006,2 \pm 78,6$	0,64	0,25
Dodatek vira joda kot KIO_3 do začetne koncentracije $50 \mu\text{g g}^{-1}$					
50	$48,6 \pm 1,8$	$14,0 \pm 1,5$	$42,2 \pm 3,3$	0,33	0,13
500	$566,6 \pm 6,6$	$180,4 \pm 11,2$	$445,8 \pm 12,3$	0,40	0,15
1000	$1179,2 \pm 7,3$	$270,4 \pm 4,4$	$1050,0 \pm 0,8$	0,26	0,09

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev.

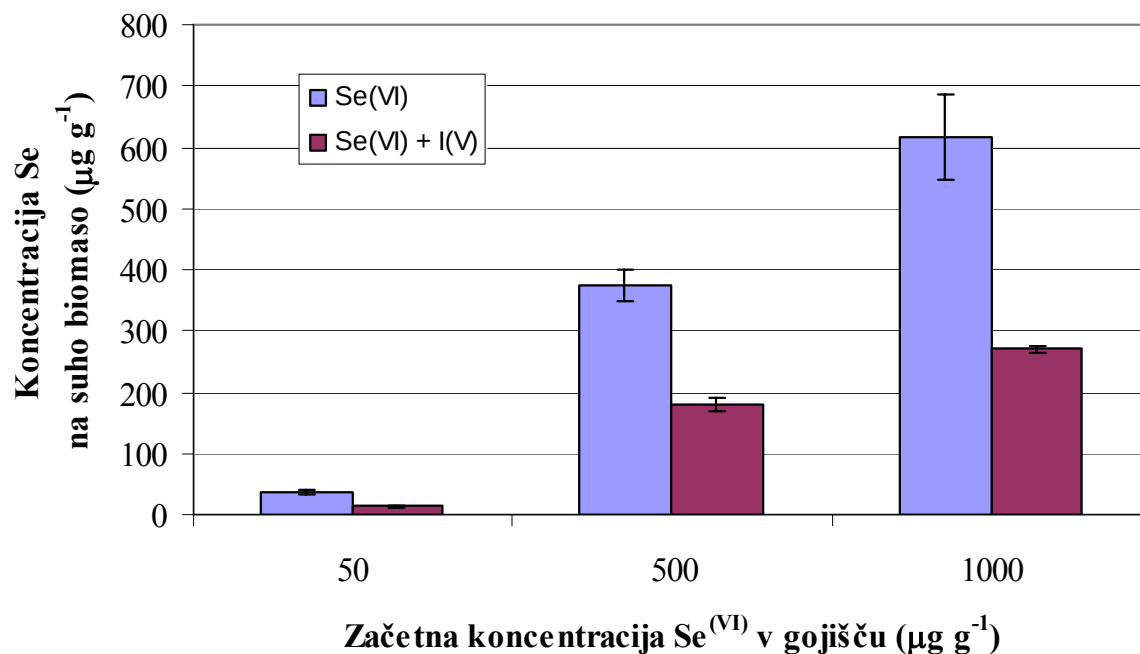
$C_0(\text{Se})$...teoretična začetna koncentracija selenata v gojišču

$C(\text{Se})$...dejanska začetna koncentracija selenata v gojišču

$C(\text{kvasovke})$...privzem selenata pri kvasovkah, preračunan na suho biomaso

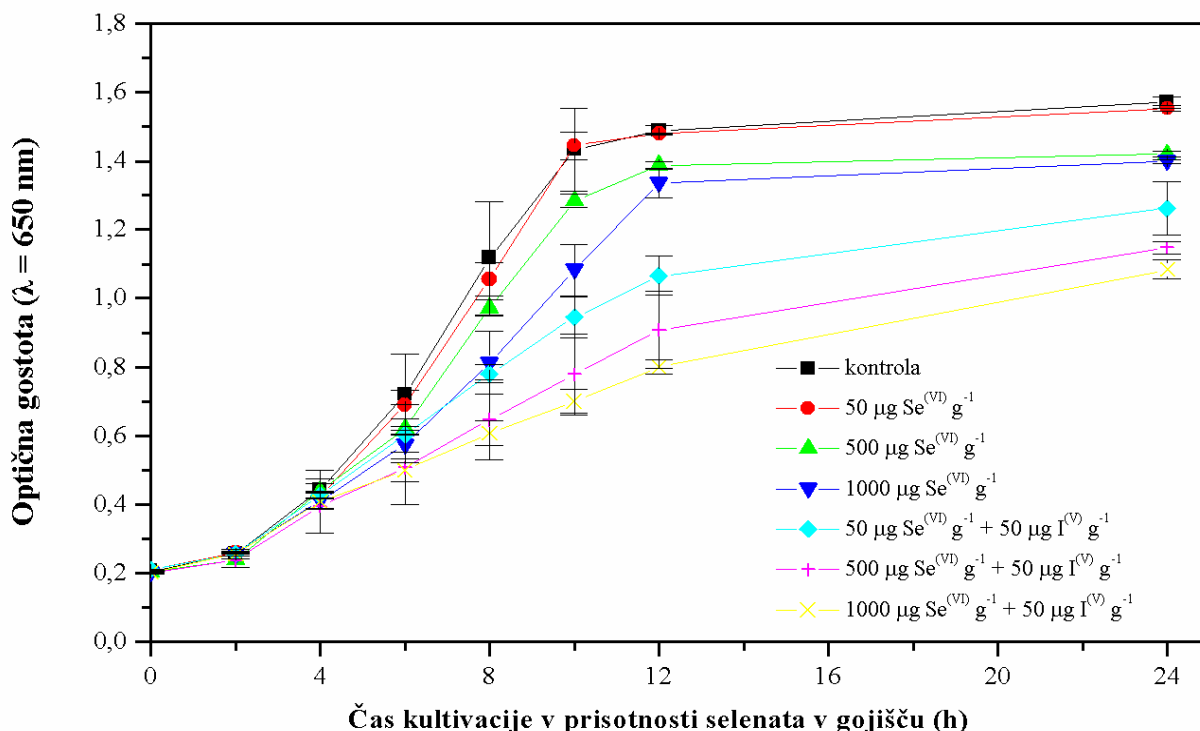
$C(\text{gojišče})$...koncentracija selenata v gojišču, določena po 24 urah kulture

F...razmerje med koncentracijo selenata pri kvasovkah ($\mu\text{g g}^{-1}$ SS) in koncentracijo selenata v gojišču, $F = C(\text{kvasovke})/C(\text{gojišče})$



Slika 35. Koncentracija privzetega selena pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot Na_2SeO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča; rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 35. Concentration of selenium accumulated by yeast *Saccharomyces cerevisiae*, added as Na_2SeO_4 to the YNB growth medium, after 24 h of aerobic submerse cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm⁻¹, without and with added iodine source as KIO_3 to 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium



Slika 36. Vpliv različnih začetnih koncentracij selena, dodanega na začetku kultivacije v gojišče YNB v obliki Na_2SeO_4 , na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}), brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča; rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 36. Influence of different initial concentrations of selenium, added as Na_2SeO_4 to the culture medium YNB, on growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerse cultivation on a shaker ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 rpm^{-1}), without and with added iodine source as KIO_3 to $50\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium

León in sod. (2002) so proučevali privzem natrijevega selenita (Na_2SeO_3) pri kvasovki *S. cerevisiae*. Kultivacija je trajala 24 ur v gojišču YEPD in pri začetni koncentraciji $50\text{ }\mu\text{g Se}^{(\text{IV})}$ na g gojišča so kvasovke privzele $2354\text{ }\mu\text{g Se}^{(\text{IV})}\text{ g}^{-1}$ SS biomase. V primerjavi z našo kultivacijo, pri kateri smo kvasovko *S. cerevisiae* izpostavili selenatu - $\text{Se}^{(\text{VI})}$, so kvasovke pri enaki začetni koncentraciji selena v gojišču po 24 urah kultivacije privzele bistveno manj $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $37,0 \pm 3,6\text{ }\mu\text{g Se}^{(\text{VI})}\text{ g}^{-1}$ (preglednica 27).

Raspor in sod. (2003) so kvasovko *Schizosaccharomyces pombe* kultivirali v gojišču YEPD v prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$ v koncentracijskem območju od 0,04 do 4 mM (od ~ 3 do $\sim 300 \mu\text{g Se}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$). Pri najnižji začetni koncentraciji $\text{Se}^{(\text{VI})}$ v gojišču je sev kvasovke, občutljiv na selenat, privzel $134,1 \pm 7,4 \mu\text{g Se}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$ SS biomase, pri najvišji pa $307,1 \pm 37,3 \mu\text{g Se}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$ SS biomase. Sev kvasovke, rezistenten na selenat, je pri najvišji začetni koncentraciji $\text{Se}^{(\text{VI})}$ v gojišču privzel kar $3162,7 \pm 30,1 \mu\text{g Se}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$ SS biomase. Povečan privzem selenata pri rezistentnem sevu so razložili kot obrambni odgovor kvasovke, ki je povečala privzem selenata in ga nato reducirala v selenit. Ta proces je odvisen od aktivnosti encima ATP sulfurilaze.

Fujs in sod. (2005) so kvasovko *Candida intermedia* kultivirali v kemijsko definiranem gojišču in po 24 urah kultivacije so kvasovke pri začetni koncentraciji $50 \mu\text{g Se}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$ gojišča privzele $42,9 \pm 8,3 \mu\text{g Se}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$ SS biomase. Privzem *C. intermedia* je primerljiv s privzemom $\text{Se}^{(\text{VI})}$ pri naši kultivaciji kvasovke *S. cerevisiae*, saj je le-ta pri enaki začetni koncentraciji selenata v gojišču privzela $37,0 \pm 3,6 \mu\text{g Se}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$ SS biomase.

Po privzemu selenata v določeni kemijski obliki kvasovke le-tega pretvarjajo naprej in ga vgrajujejo v druge spojine, npr. proteine, v katerih je selen prisoten pretežno v obliki selenometionina, Se-Met (Encinar in sod., 2003; Dumont in sod., 2005).

- Privzem cinka, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$:

Privzem v gojišču razpoložljivega $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ pri kvasovkah je občutno večji kot pri $\text{Se}^{(\text{VI})}$ (primerjaj preglednici 29 in 28). Preračunano na % SS biomase so kvasovke privzele do osemkratno koncentracijo v gojišču razpoložljivega $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ (preglednica 29). Z naraščanjem začetne koncentracije $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ v gojišču privzem le-tega pada (preglednica 29), in to zaradi inhibitornih učinkov $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ pri višjih začetnih koncentracijah v gojišču na rast kvasovke (slika 38). Kljub temu koncentracija privzetega $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$, preračunana na % SS biomase, narašča (slika 37).

V kontrolnem poskusu, to je pri kultivaciji kvasovk brez dodanega $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ in $\text{I}^{(\text{V})}$, so kvasovke privzele $63,4 \pm 6,7 \mu\text{g Zn}^{(\text{II}+)} \text{ g}^{-1}$ SS biomase. V gojišču brez dodanega $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ in $\text{I}^{(\text{V})}$ (kontrola) smo določili $0,40 \pm 0,05 \mu\text{g Zn}^{(\text{II}+)} \text{ g}^{-1}$ gojišča. Kvasovke so tako privzele 57,4 % v gojišču razpoložljivega cinka, kar je bistveno več kot pri proučevanih koncentracijah (preglednica 29). Povišan privzem cinka je najverjetneje posledica nizke koncentracije cinka v gojišču pri kontroli, ki ne inhibira rasti kvasovk (slika 38). Mogoče je tudi, da klorid, saj smo $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ dodajali v obliki ZnCl_2 , vpliva na privzem $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ pri kvasovkah.

Dodatek vira jodata (KIO_3) zmanjša privzem $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ vse do 35 % (preglednica 29), saj se inhibitorni učinek na rast kvasovk poveča (slika 38).

Zaradi prisotnosti vira $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ se je privzem $\text{I}^{(\text{V})}$ v primerjavi s kultivacijo, ko smo dodali samo vir jodata (preglednica 26), nekoliko zmanjšal. Samo ob dodanem $\text{I}^{(\text{V})}$ v gojišču do začetne koncentracije $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ (preglednica 26) so kvasovke privzele $13,5 \pm 2,3 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ SS biomase, kar je 0,10 % razpoložljivega $\text{I}^{(\text{V})}$ v gojišču. Ob dodatku $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ do začetne koncentracije $50 \mu\text{g g}^{-1}$ se je privzem zmanjšal na $9,6 \pm 1,3 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ (0,07 % razpoložljivega jodata), ob začetni koncentraciji $\text{Zn}^{(\text{II}+)} 100 \mu\text{g g}^{-1}$ se je privzem jodata zmanjšal na $8,0 \pm 0,7 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ (0,06 % razpoložljivega jodata), ob dodatku $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ do začetne koncentracije $500 \mu\text{g g}^{-1}$ pa se je privzem jodata zmanjšal na $7,9 \pm 0,5 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ (0,06 % razpoložljivega jodata).

Inhibitorni učinek $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ je pri višjih začetnih koncentracijah v gojišču (slika 38) manj izrazit kot pri $\text{Se}^{(\text{VI})}$ (slika 36). Kvasovke so privzele skoraj desetkratno koncentracijo $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ v primerjavi s privzemom $\text{Se}^{(\text{VI})}$.

Preglednica 29. Privzem cinka, dodanega kot ZnCl_2 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča

Table 29. Accumulation of zinc added as ZnCl_2 to the YNB growth medium after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm⁻¹, without and with added iodine source as KIO_3 to 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium

$C_0(\text{Zn})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{Zn})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{kvasovke})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{gojišče})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	F	Privzem (%)
50	56,2 ± 0,8	426,8 ± 25,9	55,0 ± 2,3	7,8	3,2
100	103,4 ± 3,6	672,8 ± 16,2	96,3 ± 4,2	7,0	2,9
500	492,1 ± 1,3	2464,2 ± 211,8	492,1 ± 8,3	5,0	2,1
Dodatek vira joda kot KIO_3 do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$					
50	56,2 ± 0,8	288,5 ± 52,4	56,6 ± 4,2	5,1	2,0
100	103,4 ± 3,6	456,0 ± 85,4	106,7 ± 13,4	4,3	1,6
500	492,1 ± 1,3	1871,8 ± 304,1	480,1 ± 66,5	3,9	1,5

Rezultati so podani kot povprečna vrednost ± SD dveh neodvisnih gojitev.

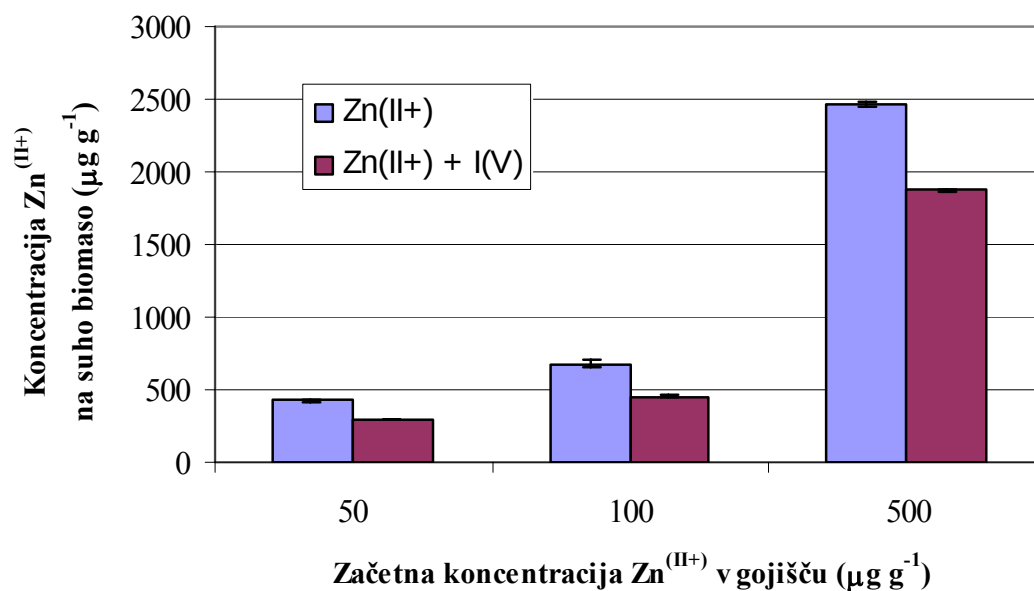
$C_0(\text{Zn})$...teoretična začetna koncentracija cinka v gojišču

$C(\text{Zn})$...dejanska začetna koncentracija cinka v gojišču

$C(\text{kvasovke})$...privzem cinka pri kvasovkah, preračunan na suho biomaso

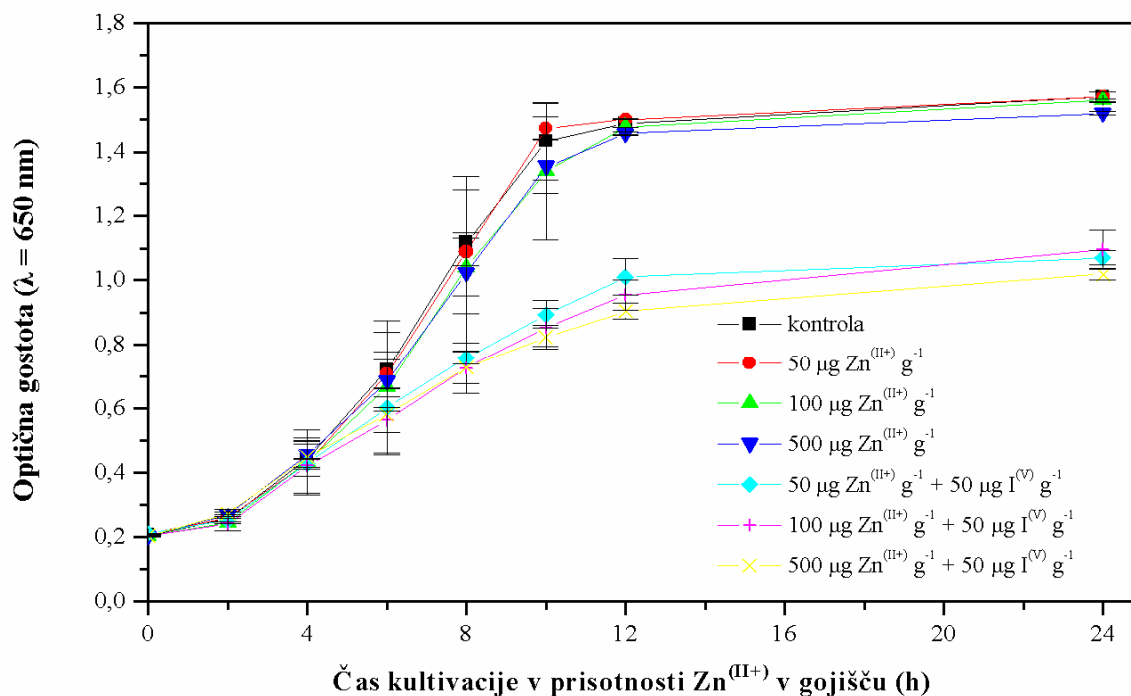
$C(\text{gojišče})$...koncentracija cinka v gojišču, določena po 24 urah kulture

F...razmerje med koncentracijo cinka pri kvasovkah ($\mu\text{g g}^{-1}$ SS) in koncentracijo cinka v gojišču, $F = C(\text{kvasovke})/C(\text{gojišče})$



Slika 37. Koncentracija privzetega cinka pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot ZnCl_2 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča; rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 37. Concentration of zinc accumulated by yeast *Saccharomyces cerevisiae*, added as ZnCl_2 to the YNB growth medium, after 24 h of aerobic submerse cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm^{-1} , without and with added iodine source as KIO_3 to 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium



Slika 38. Vpliv različnih začetnih koncentracij cinka, dodanega na začetku kultivacije v gojišče YNB v obliki ZnCl_2 , na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}), brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50 \mu\text{g g}^{-1}$ gojišča; rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 38. Influence of different initial concentrations of zinc, added as ZnCl_2 to the culture medium YNB, on growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerse cultivation on a shaker ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 rpm $^{-1}$), without and with added iodine source as KIO_3 to $50 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium

Pri privzemu cinka in vzdrževanju njegove homeostaze v evkariontskih celicah sodelujejo številni prenešalni proteini. Devirgiliis in sod. (2004) so pri divjem in pri mutiranih sevih kvasovke *S. cerevisiae* ugotovili prisotnost izrazitih, s cinkom obogatenih veziklov, v katerih je bil cink v obliki prostih ionov, Zn^{+2} .

Gharieb in Gadd (2004) sta določila minimalne inhibitorne koncentracije $\text{Zn}^{(II+)}$ in drugih kovin pri kvasovki *S. cerevisiae*. Uporabila sta dva seva kvasovk, divji sev in mutiran sev, ki nima glutathiona. Znano je namreč, da glutathion sodeluje pri zaščiti celice pred toksičnimi

učinki kovin. Kot minimalno inhibitorno koncentracijo cinka pri divjem sevu sta določila ~ 126 in pri mutiranem sevu $\sim 145 \mu\text{g Zn}^{(\text{II})} \text{ g}^{-1}$ gojišča, torej odsotnost glutaciona pri *S. cerevisiae* ne vpliva odločilno na njeno toleranco na cink.

Fujs in sod. (2005) so kvasovko *Candida intermedia* kultivirali v kemijsko definiranem gojišču in po 24 urah kulture so kvasovke pri začetni koncentraciji $50 \mu\text{g Zn}^{(\text{II}+)} \text{ g}^{-1}$ gojišča privzele $3207 \pm 588 \mu\text{g Zn}^{(\text{II}+)} \text{ g}^{-1}$ SS biomase, kar je približno osemkrat več kot pri naši kultivaciji kvasovke *S. cerevisiae* pri enaki začetni koncentraciji $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ v gojišču.

- Privzem kromata $\text{Cr}^{(\text{VI})}$:

Kljub močni inhibiciji rasti kvasovk zaradi prisotnosti $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču (slika 40) so kvasovke privzele tudi do 27-kratno koncentracijo v gojišču razpoložljivega $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ (preglednica 30). Privzem v gojišču razpoložljivega $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ pri kvasovkah, preračunan na SS biomase, je naraščal z naraščanjem začetne koncentracije $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču (preglednica 30, slika 39), kljub temu da se je inhibicija rasti kvasovk močno povečala. Kvasovke so privzele do trikrat več $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ kot $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$, do 24-krat več $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ kot $\text{Se}^{(\text{VI})}$ in do 30-krat več $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ kot $\text{I}^{(\text{I-})}$ pri enaki koncentraciji želenega elementa v gojišču.

V kontrolnem poskusu, to je kultivaciji kvasovk brez dodanega $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ in $\text{I}^{(\text{V})}$, kvasovke niso privzele $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ oz. je bila njegova koncentracija pod mejo zaznavnosti metode.

Dodatek vira $\text{I}^{(\text{V})}$ je le nekoliko zmanjšal privzem $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ (preglednica 30). Precej se je zmanjšal privzem $\text{I}^{(\text{V})}$ pri najvišji začetni koncentraciji $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču. Zaradi prisotnosti $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ se je privzem $\text{I}^{(\text{V})}$ v primerjavi s kontrolo (preglednica 26) zmanjšal. Samo ob jodatu v gojišču (preglednica 26) do začetne koncentracije $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ so kvasovke privzele $13,5 \pm 2,3 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$, kar je predstavljalo 0,10 % razpoložljivega jodata v gojišču. Ob dodatku kromata do začetne koncentracije $2,6 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{ g}^{-1}$ se je privzem jodata zmanjšal na $7,4 \pm 0,9 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ (0,05 % razpoložljivega jodata), ob začetni koncentraciji kromata $5,2 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{ g}^{-1}$ pa se je

privzem jodata zmanjšal na $6,9 \pm 1,0 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ (0,05 % razpoložljivega jodata). Opaziti je občutno zmanjšanje privzema jodata pri najvišji začetni koncentraciji kromata v gojišču, saj se je ob dodatku kromata do začetne koncentracije $26,0 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{ g}^{-1}$ privzem jodata zmanjšal na $2,5 \pm 0,4 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{ g}^{-1}$ (0,02 % razpoložljivega jodata).

Inhibitorni učinek je pri višjih začetnih koncentracijah kromata v gojišču (slika 40) bistveno večji kot v primeru selenata (slika 36) in cinka (slika 38). S slike 40 je razvidno, da so kvasovke pri najvišji začetni koncentraciji kromata v gojišču zelo inhibirane v rasti tudi v primeru, ko ni bilo vira jodata, katerega prisotnost tudi pri ostalih dveh začetnih koncentracijah kromata v gojišču bistveno ne poveča inhibitornega učinka na rast kvasovk (slika 40).

Preglednica 30. Privzem kroma, dodanega kot K_2CrO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča

Table 30. Accumulation of chromium added as K_2CrO_4 to the YNB growth medium after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm^{-1} , without and with added iodine source as KIO_3 to 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium

$C_0(\text{Cr})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{Cr})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{kvasovke})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C(\text{gojišče})$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	F	Privzem (%)
2,6	$2,7 \pm 0,1$	$57,0 \pm 5,2$	$2,6 \pm 0,1$	17,6	8,9
5,2	$5,5 \pm 0,1$	$112,9 \pm 10,6$	$5,1 \pm 0,3$	18,7	8,2
26,0	$27,2 \pm 1,4$	$640,0 \pm 23,8$	$23,4 \pm 0,9$	27,3	8,0
Dodatek vira joda kot KIO_3 do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$					
2,6	$2,7 \pm 0,1$	$41,3 \pm 5,2$	$2,6 \pm 0,3$	12,5	6,2
5,2	$5,5 \pm 0,1$	$110,7 \pm 17,7$	$5,4 \pm 1,2$	20,5	5,7
26,0	$27,2 \pm 1,4$	$612,5 \pm 103,3$	$27,2 \pm 2,7$	22,5	5,5

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev.

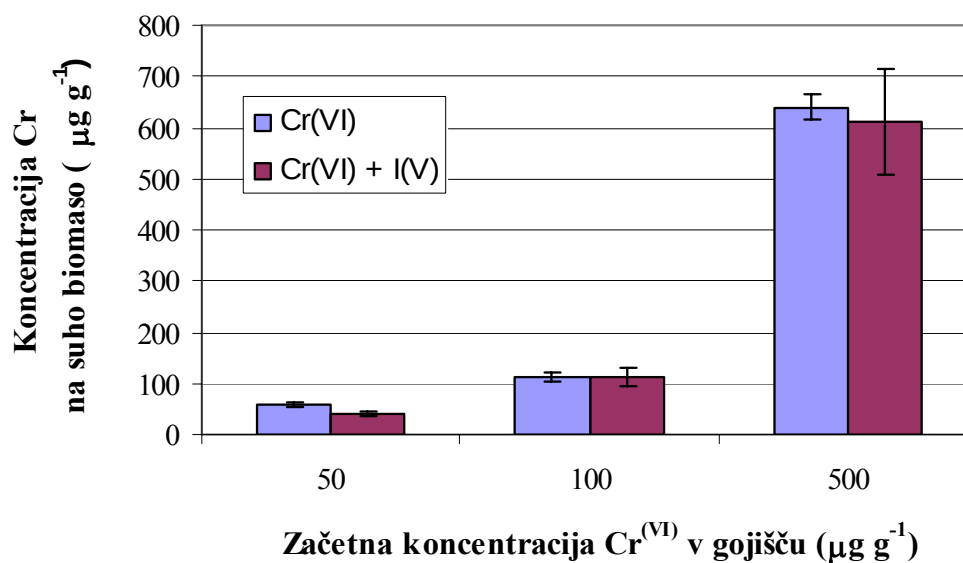
$C_0(\text{Cr})$...teoretična začetna koncentracija kromata v gojišču

$C(\text{Cr})$...dejanska začetna koncentracija kromata v gojišču

$C(\text{kvasovke})$...privzem kromata pri kvasovkah, preračunan na suho biomaso

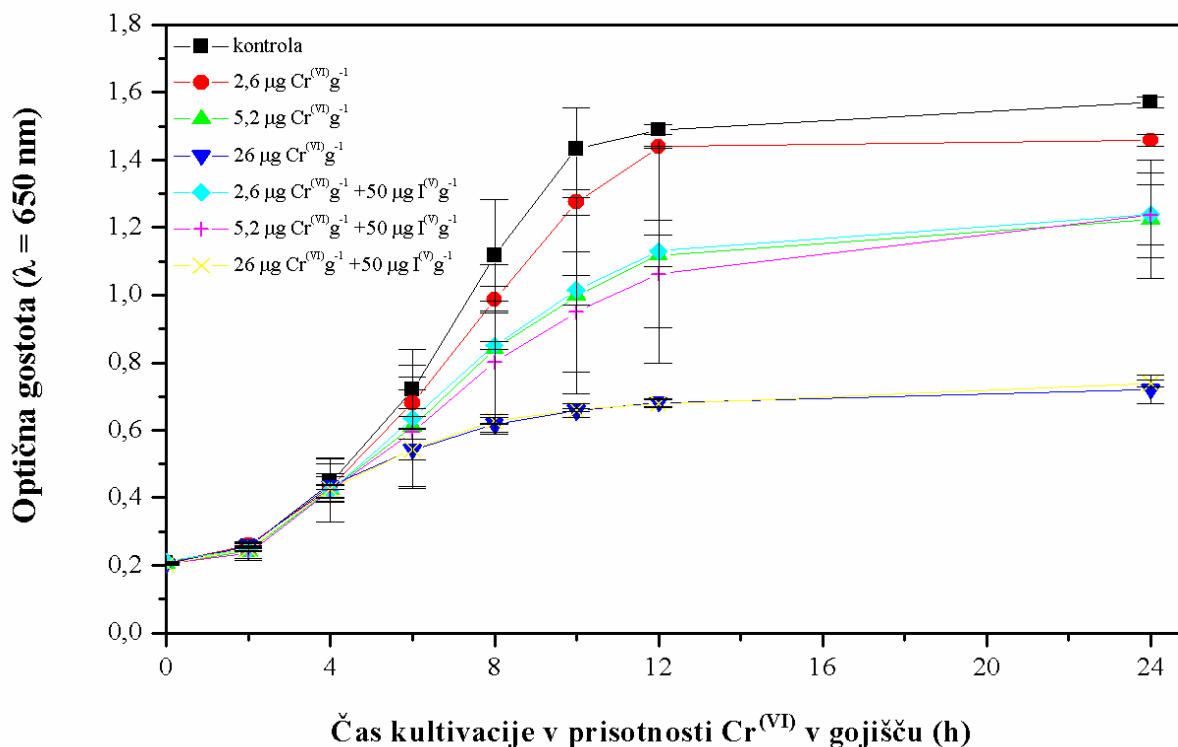
$C(\text{gojišče})$...koncentracija kromata v gojišču, določena po 24 urah kultivacije

F...razmerje med koncentracijo kromata pri kvasovkah ($\mu\text{g g}^{-1}$ SS) in koncentracijo kromata v gojišču, $F = C(\text{kvasovke})/C(\text{gojišče})$



Slika 39. Koncentracija privzetega kroma pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot K_2CrO_4 v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča; rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 39. Concentration of chromium accumulated by yeast *Saccharomyces cerevisiae*, added as K_2CrO_4 to the YNB growth medium, after 24 h of aerobic submerge cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm^{-1} , without and with added iodine source as KIO_3 to 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium



Slika 40. Vpliv različnih začetnih koncentracij kroma, dodanega na začetku kultivacije v gojišče YNB v obliki K_2CrO_4 , na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 vrt. min^{-1}), brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije $50 \mu\text{g g}^{-1}$ gojišča; rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

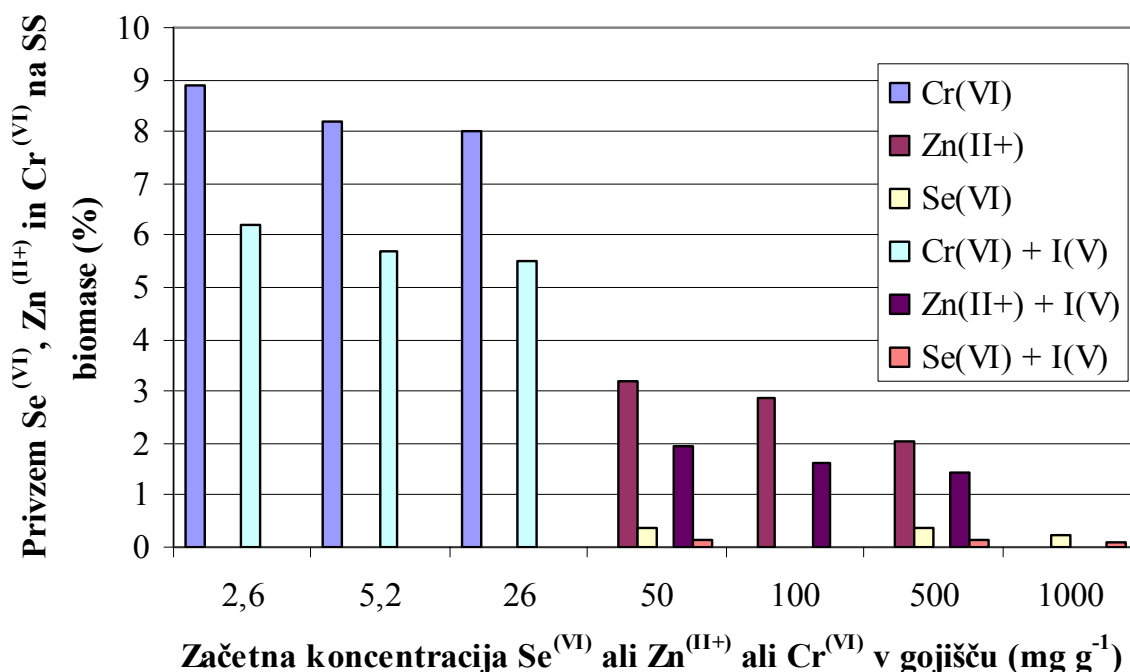
Figure 40. Influence of different initial concentrations of chromium, added as K_2CrO_4 to the culture medium YNB, on growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerse cultivation on a shaker ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 rpm^{-1}), without and with added iodine source as KIO_3 to $50 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium

Raspor in sod. (2003) so kvasovko *Schizosaccharomyces pombe* kultivirali v gojišču YEPD v prisotnosti $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, dodanega kot $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, v koncentracijskem območju od 0,04 do 4 mM (od ~ 2 do $\sim 200 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$). Uporabili so dva seva kvasovke *S. pombe*, občutljivega in rezistentnega na selenat. Pri najnižji začetni koncentraciji $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču je sev, občutljiv na

selenat, privzel $67,6 \pm 1,6 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{ g}^{-1}$ SS biomase, pri najvišji pa $2650,0 \pm 188,6 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{ g}^{-1}$ SS biomase. Sev kvasovke, rezistenten na selenat, je pri najnižji začetni koncentraciji $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču privzel $21,9 \pm 0,3$, pri najvišji pa $2071,9 \pm 207,7 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{ g}^{-1}$ SS biomase. Sev, razistenten na selenat, je privzel manj kromata in izkazal večjo toleranco na prisotnost kromata v gojišču. Zmanjšan privzem kroma je glavni mehanizem rezistence na krom pri kvasovkah *Candida* sp., *Rhodospirium* sp in *S. pombe* (Raspor in sod., 2003).

Jamnik in Raspor (2005) sta ugotovila, da imajo pri odgovoru kvasovke *Candida intermedia* na povišano prisotnost $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v okolju lahko pomembno vlogo proteini toplotnega šoka ali stresni proteini. Med njimi je najpomembnejši Hsp104, ki omogoča preživetje celic v ekstremnih stresnih razmerah.

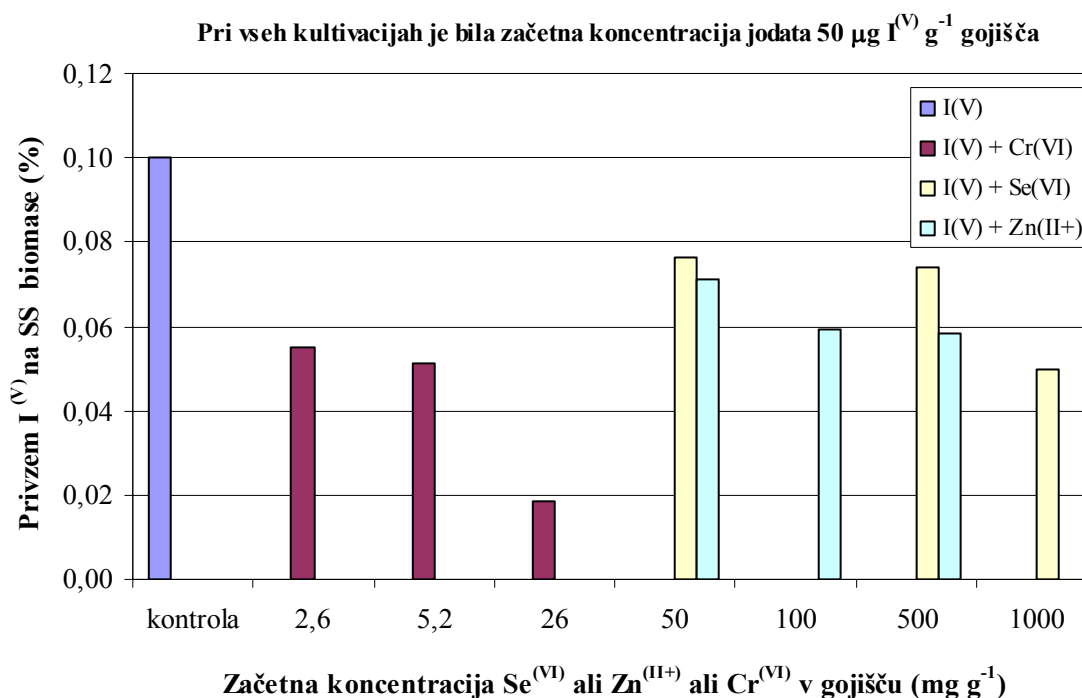
Slika 41 prikazuje primerjavo privzema $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ in $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ ob koncu kultivacije kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* z dodanim $\text{I}^{(\text{V})}$ in brez njega. Opaziti je, da so kvasovke privzele največ $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, nato sledi $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$, najmanj pa $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ter da je dodatek $\text{I}^{(\text{V})}$ zmanjšal privzem proučevanih elementov v primerjavi s kultivacijami, ko le-tega nismo dodali.



Slika 41. Privzem $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ in $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanih kot Na_2SeO_4 , ZnCl_2 in K_2CrO_4 do različnih začetnih koncentracij v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min^{-1} , brez dodanega vira joda in s KIO_3 kot dodanim virom joda do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ gojišča

Figure 41. Accumulation of $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ and $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ by yeast *Saccharomyces cerevisiae* added as Na_2SeO_4 , ZnCl_2 and K_2CrO_4 in different initial concentrations to the YNB growth medium, after 24 h of aerobic submerse cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm^{-1} , without and with added iodine source as KIO_3 to 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium

Slika 42 prikazuje vpliv dodanih $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ in $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ na privzem $\text{I}^{(\text{V})}$ pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*. Pri vseh kultivacijah je bila začetna koncentracija jodata $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ gojišča, spreminjali smo začetno koncentracijo $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ oz. $\text{Cr}^{(\text{VI})}$. S slike 42 je razvidno, da je $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ najbolj vplival na zmanjšanje privzema $\text{I}^{(\text{V})}$.



Slika 42. Privzem $\text{I}^{(\text{V})}$ pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, dodanega kot KIO_3 do začetne koncentracije $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ tekočega gojišča YNB, ob prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ in $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, dodanih kot Na_2SeO_4 , ZnCl_2 in K_2CrO_4 do različnih začetnih koncentracij v gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$

Figure 42. Accumulation of $\text{I}^{(\text{V})}$ by yeast *Saccharomyces cerevisiae* added as KIO_3 to $50 \mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ initial concentration in the YNB growth medium in the presence of $\text{Se}^{(\text{VI})}$, $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ and $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ added as Na_2SeO_4 , ZnCl_2 and K_2CrO_4 in different initial concentrations to the YNB growth medium, after 24 h of aerobic submerge cultivation in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}

4.3.3 Določitev privzema ^{131}I in privzetega $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ izotopskega deleža

Privzem ^{131}I pri kvasovkah se pri višjih začetnih aktivnostih ^{131}I v gojišču ne razlikuje bistveno in je v povprečju $0,18 \pm 0,01$ %, kar nakazuje na dobro ponovljivost poskusov (preglednica 31). Opazili smo, da so kvasovke pri nižji začetni aktivnosti ^{131}I v gojišču privzele več ^{131}I (0,28 %) kot pri višjih začetnih aktivnostih ^{131}I v gojišču (preglednica 31). Dodatek ^{131}I le malo vpliva na rast kvasovke *S. cerevisiae* med 24-urno kultivacijo na stresalniku, rahlo inhibicijo je opaziti le v stacionarni fazi rasti (slika 43).

Preglednica 31. Privzem ^{131}I , dodanega na začetku kultivacije v tekoče gojišče YNB, pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28 °C in 250 vrt. min⁻¹, z dodatkom vira stabilnega joda (KI) do začetne koncentracije 100 µg g⁻¹ v gojišču

Table 31. Accumulation of ^{131}I added to the culture medium YNB after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28 °C and 250 rpm⁻¹, with the addition of stable iodine added as KI to 100 µg g⁻¹ initial concentration in the culture medium

Datum kultivacije	$^{131}\text{I}_0$ (gojišče) (kBq g ⁻¹)	^{131}I (gojišče) (kBq g ⁻¹)	^{131}I (kvasovke) (kBq g ⁻¹)	F	Privzem ^{131}I (%)
3. 8. 2006	0,49 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,46	0,28
8. 8. 2006	288,2 ± 15,7	284,7 ± 18,6	143,5 ± 9,8	0,50	0,18
10. 8. 2006	319,9 ± 16,1	284,3 ± 16,7	135,0 ± 8,4	0,47	0,17
22. 8. 2006	359,7 ± 17,4	260,2 ± 15,6	129,9 ± 7,1	0,50	0,18

Rezultati so podani kot povprečna vrednost ± SD treh gojitev.

$^{131}\text{I}_0$ (gojišče)...aktivnost ^{131}I v gojišču ob začetku kultivacije

^{131}I (gojišče)...aktivnost ^{131}I v gojišču po 24 urah kultivacije, preračunana na t_0

^{131}I (kvasovke)...aktivnost (privzem) ^{131}I kvasovk po 24 urah kultivacije, preračunana na t_0

F...razmerje med aktivnostjo ^{131}I pri kvasovkah (µg g⁻¹ SS) in aktivnostjo ^{131}I v gojišču, $F = A(\text{kvas.})/A(\text{gojišče})$

Med kultivacijo kvasovke z dodanim sledilcem ^{131}I v obliki jodida smo proučevali, ali kvasovke *S. cerevisiae* pretvarjajo jodid v hlapno obliko. Na vrh erlenmajerice smo namestili past z aktivnim ogljem ter po 24 urah kultivacije izmerili aktivnosti ^{131}I , vendar je bila

koncentracija le-tega pod mejo zaznavnosti. Trdimo, da kvasovke *S. cerevisiae* najverjetneje ne pretvarjajo jodida v hlapno obliko.

Ob prisotnosti ^{131}I v gojišču so kvasovke privzele več jodida, dodanega kot KI do $100 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v gojišču (preglednica 32), kot v primeru, ko je bil gojišču dodan samo vir stabilnega joda v obliki jodida in so kvasovke privzele 0,05 % jodida (preglednica 25).

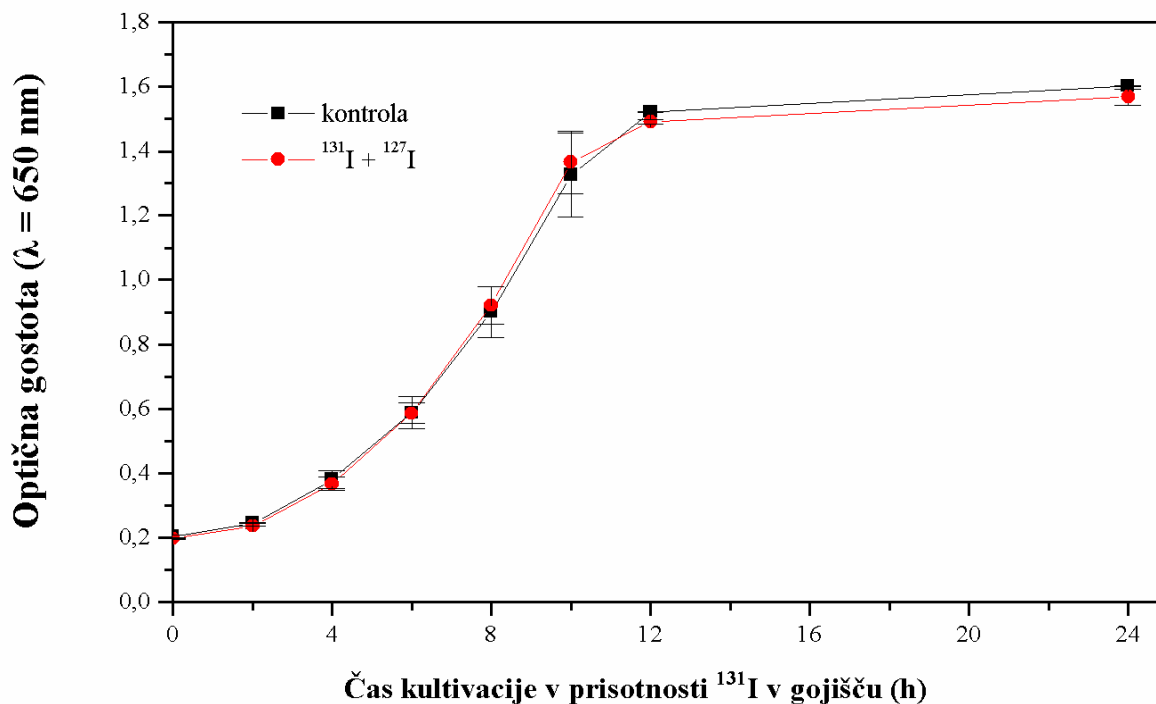
Opazili smo tudi razlike v privzeti masi ^{131}I in ^{127}I , saj izotopsko razmerje ni konstantno, kot smo pričakovali. Ob višji začetni aktivnosti ^{131}I v gojišču je izotopsko razmerje $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ pomaknjeno v korist ^{131}I , in trdimo lahko, da se stabilni izotop joda ^{127}I in radioaktivni izotop joda ^{131}I v bioloških sistemih obnašata različno (preglednica 32).

Preglednica 32. Privzem ^{131}I , dodanega na začetku kultivacije v tekoče gojišče YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišče, izražen kot izotopsko razmerje $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in 250 vrt. min^{-1}

Table 32. Accumulation of ^{131}I , added to the culture medium YNB, and ^{127}I , added as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium, expressed as $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ isotopic ration during aerobic submerse cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm $^{-1}$

Datum kultivacije	^{131}I (kvasovke) ($10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{127}I (kvasovke) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Privzem ^{127}I (%)	$^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-9})
3. 8. 2006	$4,6 \pm 0,1$	$14,0 \pm 0,1$	0,09	$3,30 \pm 0,03$
8. 8. 2006	$3025 \pm 32,5$	$25,0 \pm 0,3$	0,09	1210 ± 13
10. 8. 2006	$2845 \pm 30,2$	$30,2 \pm 1,0$	0,11	945 ± 11
22. 8. 2006	$2740 \pm 26,5$	$16,8 \pm 0,9$	0,06	1635 ± 27

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD treh gojitev.



Slika 43. Vpliv ^{131}I , dodanega na začetku kultivacije v tekoče YNB gojišče, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišče, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $250 \text{ vrt. min}^{-1}$); rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 43. Influence of ^{131}I , added to the YNB growth medium, and ^{127}I , added as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the growth medium, on the growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerse cultivation on a shaker ($T = 28 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 250 rpm^{-1})

Soudek in sod. (2006) so proučevali privzem ^{90}Sr in ^{137}Cs med hidroponskim gojenjem sončnice (*Helianthus annuus* L.). Akumulirano dozo sevanja v rastlinah so določili po 2, 4, 8, 16 in 32 dneh kultivacije ter navajajo, da niso opazili nobenih večjih razlik med privzemom radioaktivnih in stabilnih izotopov stroncija oz. cezija.

4.3.4 Določitev časovne odvisnosti privzema ^{127}I in ^{129}I ter privzetega izotopskega deleža $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$

Privzem ^{129}I se je pri kvasovkah prvič povečal po 12 urah rasti, ko se prešle v stacionarno fazo rasti, in dosegel najvišjo vrednost po 24 urah kultivacije (primerjaj preglednico 33, sliko 44 in sliko 47). Na začetku rasti, v eksponentni fazi, se kvasovke intenzivno razmnožujejo in rastejo ter vzpostavljajo svoj encimski sistem, metabolizem. Intenziven privzem jodida, tako ^{129}I (preglednica 33 in slika 44) kot ^{127}I (preglednica 34 in slika 45), se je pričel šele ob prehodu iz eksponentne v stacionarno fazo rasti, to je po 12 urah rasti.

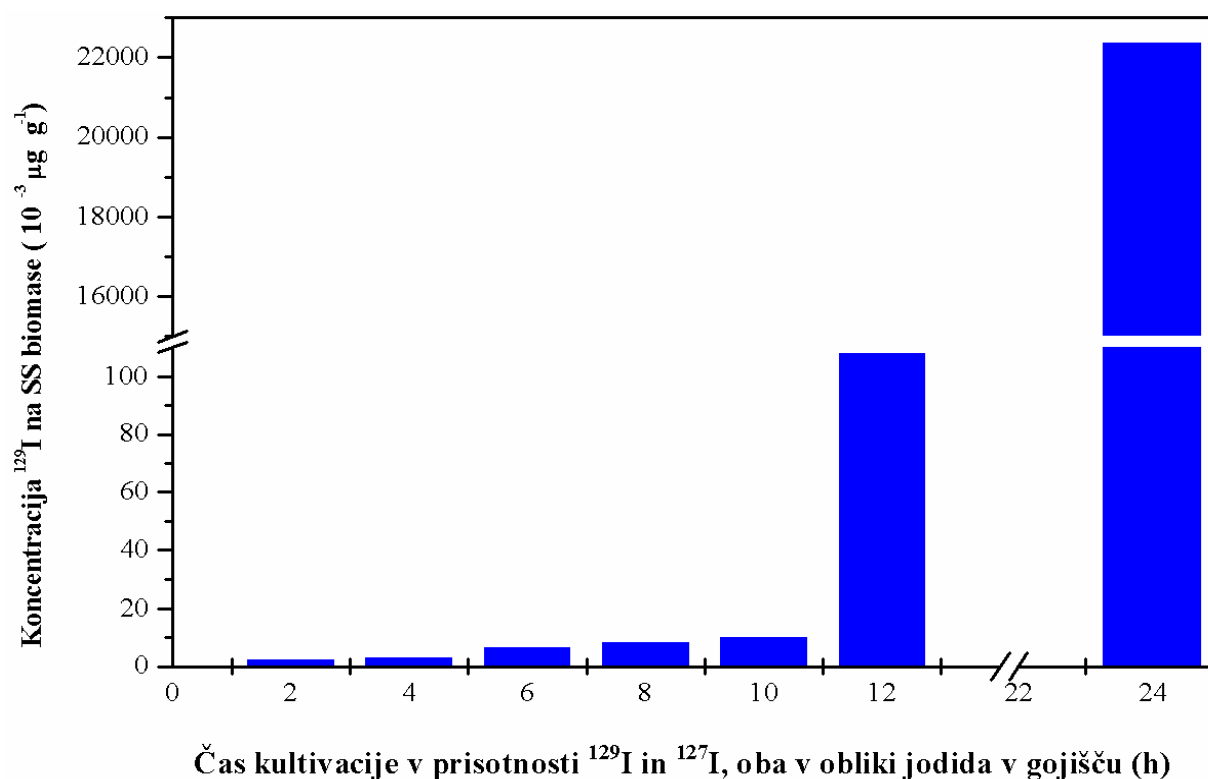
Preglednica 33. Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$, z dodatkom vira stabilnega joda (KI) do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču

Table 33. Kinetic of ^{129}I accumulation added to $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium YNB during aerobic submerse cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1} , with the addition of stable iodine as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium

Trajanje kultivacije (h)	^{129}I (kvasovke) ($10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I (kvasovke) (Bq kg^{-1})	^{129}I (gojišče) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	^{129}I (gojišče) (Bq kg^{-1})	F (%)	Privzem ^{129}I (%)
2	$2,07 \pm 0,31$	$13,76 \pm 2,03$	$2,62 \pm 0,08$	17427 ± 497	0,001	0,0002
4	$2,89 \pm 0,25$	$19,23 \pm 1,64$	$2,59 \pm 0,02$	17229 ± 109	0,001	0,0004
6	$6,48 \pm 1,35$	$38,35 \pm 2,31$	$2,58 \pm 0,02$	17170 ± 106	0,002	0,0008
8	$8,25 \pm 1,42$	$54,77 \pm 9,43$	$2,53 \pm 0,06$	16779 ± 418	0,003	0,0013
10	$9,78 \pm 1,55$	$64,95 \pm 1,03$	$2,54 \pm 0,10$	16872 ± 634	0,004	0,0016
12	$107,95 \pm 12,58$	$717,1 \pm 83,6$	$2,49 \pm 0,03$	16549 ± 221	0,040	0,18
24	22350 ± 3875	148466 ± 25740	$2,54 \pm 0,06$	16887 ± 395	8,8	3,6

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD treh gojitev.

F...razmerje med koncentracijo ^{129}I pri kvasovkah in koncentracijo ^{129}I v gojišču
(Privzem = $C(\text{kvasovke})/C(\text{gojišče})$)



Slika 44. Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$, z dodatkom vira stabilnega joda (KI) do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču

Figure 44. The kinetics for ^{129}I accumulation added to $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium YNB during aerobic submerse cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1} , with the addition of stable iodine as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium

Vpliv ^{129}I na rast kvasovke *S. cerevisiae* ni izrazit oz. se ne kaže v rastni krivulji (slika 47), saj je le-ta podobna kot pri ^{131}I (slika 43), s to razliko, da je pri ^{129}I opaziti rahel inhibitorni učinek že v eksponentni fazi rasti, ki ga pri ^{131}I nismo zasledili (primerjaj sliko 43 in 47).

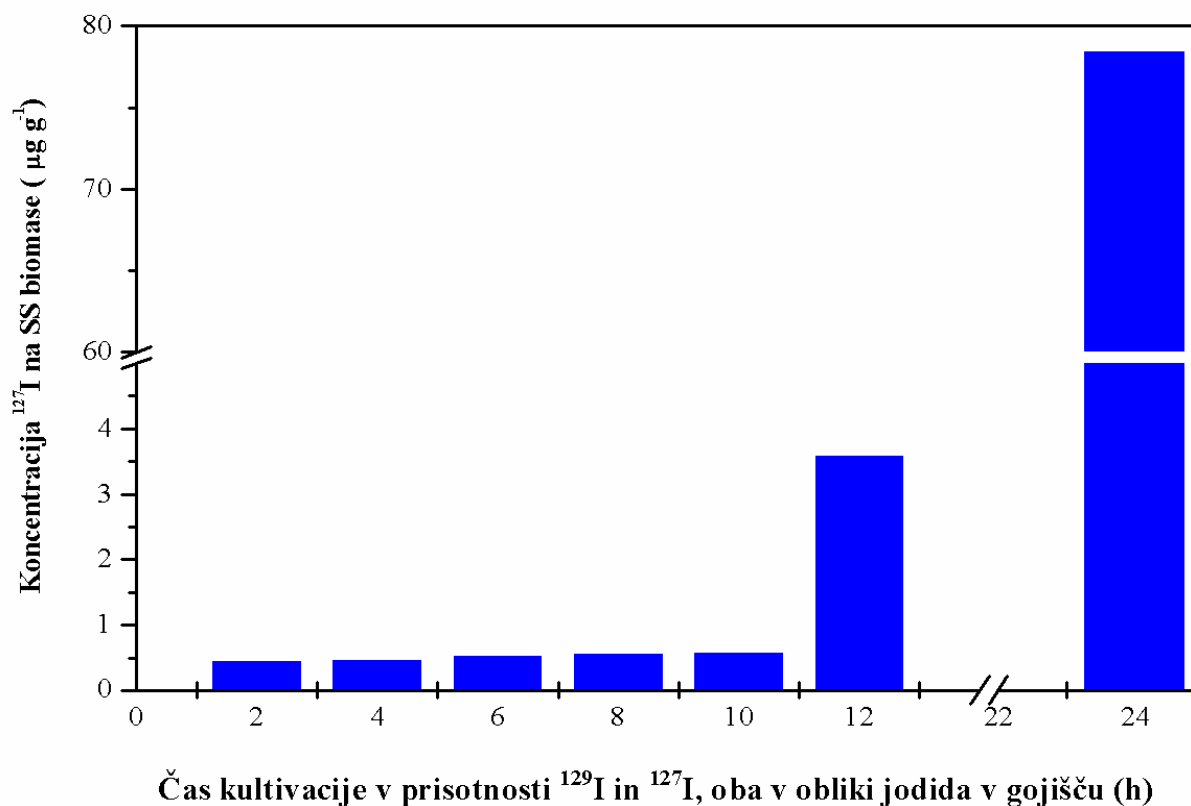
Preglednica 34. Časovna odvisnost privzema ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, ob dodatku ^{129}I do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem YNB gojišču pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$

Table 34. The kinetics of ^{127}I accumulation, added as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium with the addition of ^{129}I to $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium YNB during the aerobic submerse cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}

Trajanje kultivacije (h)	^{127}I (kvasovke) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	^{127}I (gojišče) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	F	Privzem (%)
2	$0,43 \pm 0,10$	$101,9 \pm 2,7$	0,004	0,0013
4	$0,46 \pm 0,12$	$103,8 \pm 4,9$	0,004	0,0015
6	$0,52 \pm 0,08$	$102,7 \pm 3,8$	0,005	0,0017
8	$0,54 \pm 0,08$	$98,7 \pm 0,9$	0,006	0,0022
10	$0,56 \pm 0,09$	$95,2 \pm 5,6$	0,006	0,0025
12	$3,58 \pm 1,06$	$101,3 \pm 1,2$	0,03	0,015
24	$78,4 \pm 9,2$	$103,1 \pm 6,4$	0,76	0,31

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD treh gojitev.

F...razmerje med koncentracijo ^{127}I pri kvasovkah in koncentracijo ^{127}I v gojišču, $F = C(\text{kvasovke})/C(\text{gojišče})$



Slika 45. Časovna odvisnost privzema ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, ob dodatku ^{129}I do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem YNB gojišču pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$

Figure 45. The kinetics for ^{127}I accumulation, added as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium, with the addition of ^{129}I added to $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium YNB during aerobic submerse cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}

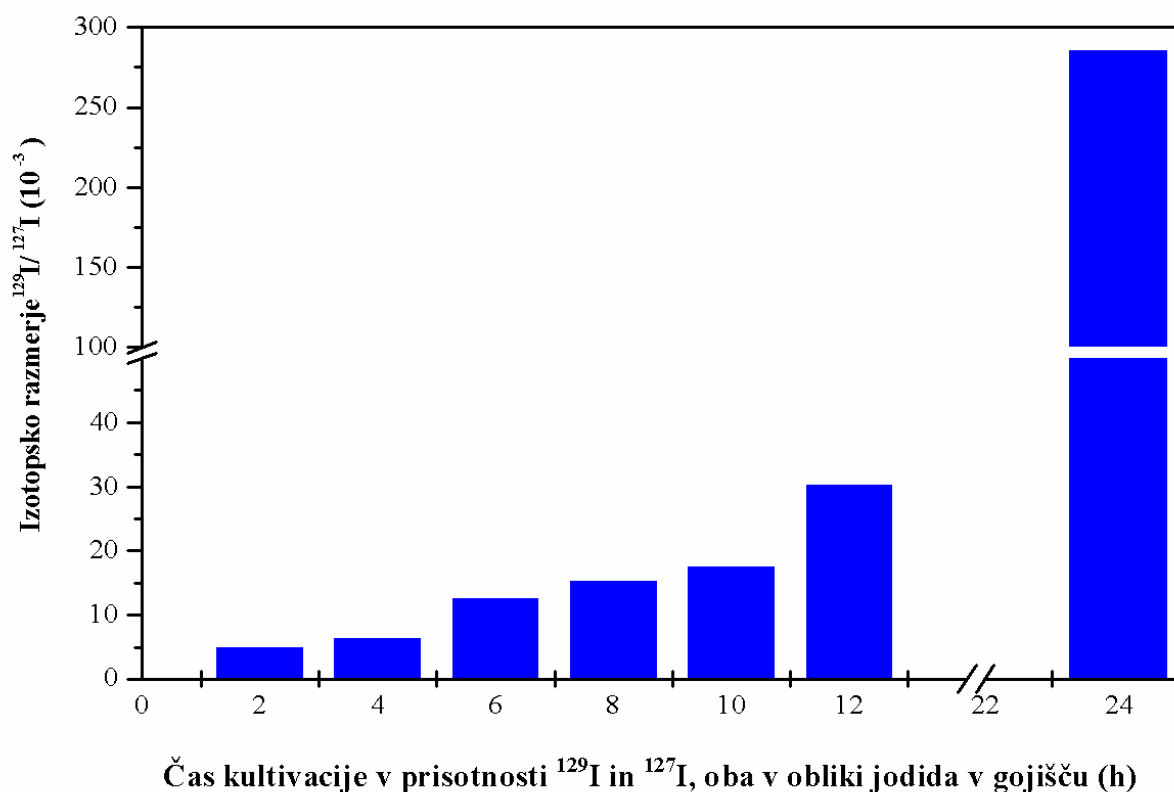
Pričakovali smo, da bo časovna odvisnost privzema ^{129}I in ^{127}I enaka, vendar je iz preglednic 33–35 in slike 46 razvidno, da so kvasovke privzele več v gojišču razpoložljivega ^{129}I kot ^{127}I , saj je izotopsko razmerje naraščalo v korist ^{129}I . Porast je opaziti na prehodu iz eksponentne v stacionarno fazo rasti in najvišjo vrednost doseže ob koncu kultivacije, ko so kvasovke privzele 3,6 % v gojišču razpoložljivega ^{129}I in 0,31 % v gojišču razpoložljivega ^{127}I , kar podobno kot v primeru ^{131}I potrjuje dejstvo, da se stabilni in radioaktivni izotopi joda v bioloških sistemih obnašajo drugače.

Preglednica 35. Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, izražena kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$

Table 35. Kinetic of ^{129}I accumulation, added to $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium YNB, and ^{127}I , added as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium, expressed as $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ isotopic ratio during aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}

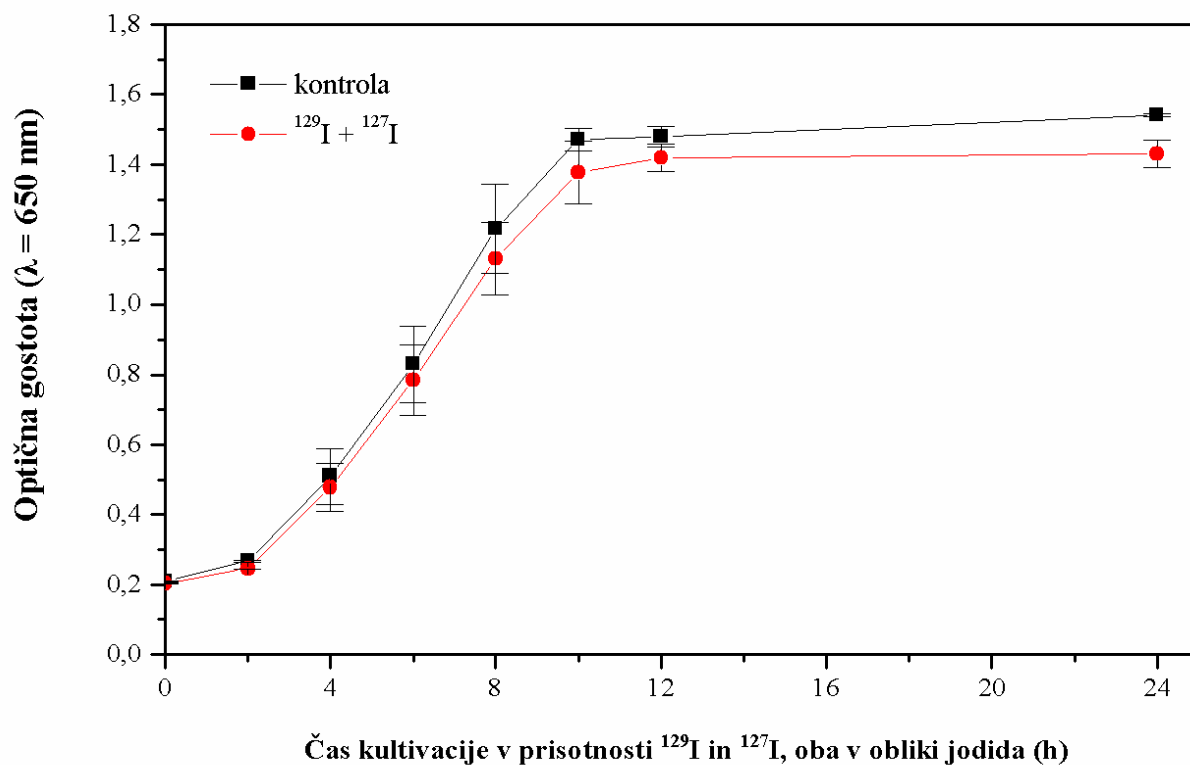
Trajanje kultivacije (h)	^{129}I (kvasovke) ($10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$)	^{127}I (kvasovke) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ (10^{-3} g g^{-1})
2	$2,07 \pm 0,31$	$0,43 \pm 0,10$	$4,8 \pm 1,1$
4	$2,89 \pm 0,25$	$0,46 \pm 0,12$	$6,3 \pm 1,0$
6	$6,48 \pm 1,35$	$0,52 \pm 0,08$	$12,5 \pm 1,6$
8	$8,25 \pm 1,42$	$0,54 \pm 0,08$	$15,3 \pm 2,4$
10	$9,78 \pm 1,55$	$0,56 \pm 0,09$	$17,5 \pm 3,2$
12	$108,0 \pm 12,6$	$3,58 \pm 1,06$	$30,2 \pm 4,1$
24	22350 ± 3875	$78,4 \pm 9,2$	285 ± 33

Rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD treh gojitev.



Slika 46. Časovna odvisnost privzema ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, izražena kot izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$

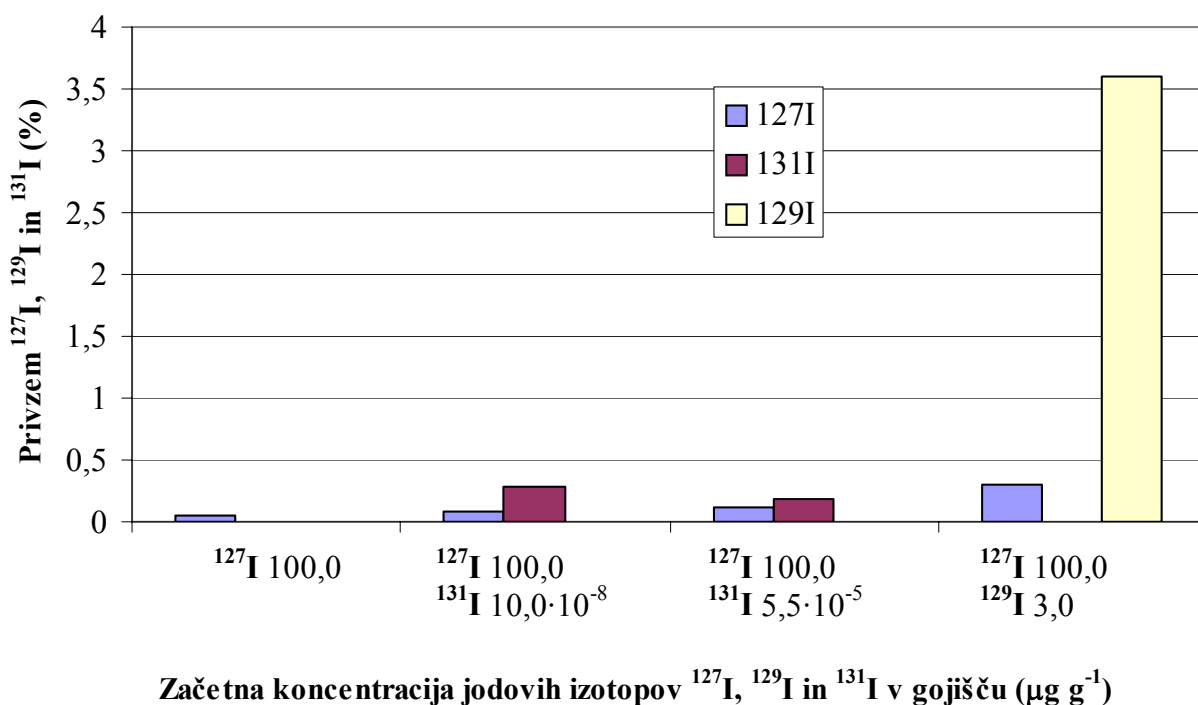
Figure 46. The kinetics for ^{129}I accumulation, added to $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium YNB, and ^{127}I , added as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium, expressed as $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ isotopic ratio during aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}



Slika 47. Vpliv ^{129}I , dodanega do $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v tekočem gojišču YNB, in ^{127}I , dodanega kot KI do začetne koncentracije $100 \mu\text{g g}^{-1}$ v gojišču, na rast kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* pri 24-urni aerobni submerzni kultivaciji na stresalniku ($T = 28^\circ\text{C}$, $250 \text{ vrt. min}^{-1}$); rezultati so podani kot povprečna vrednost $\pm$ SD dveh neodvisnih gojitev

Figure 47. Influence of ^{129}I , added to $3.0 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium YNB, and ^{127}I , added as KI to $100 \mu\text{g g}^{-1}$ initial concentration in the culture medium, on the growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during 24 h of aerobic submerse cultivation on a shaker ($T = 28^\circ\text{C}$, 250 rpm^{-1})

Povzetek privzema jodovih izotopov, stabilnega ^{127}I ter radioaktivnih ^{129}I in ^{131}I , vseh v oksidacijskem stanju $\text{I}^{(-)}$, prikazuje slika 48. Pri vseh kultivacijah je bila začetna koncentracija ^{127}I v gojišču $100 \mu\text{g I}^{(-)} \text{g}^{-1}$ in opazili smo, da se je privzem ^{127}I zaradi prisotnosti radioaktivnih ^{131}I in ^{129}I povečal za dvakrat oz. trikrat v primerjavi s kultivacijo, ko smo v gojišče dodali samo ^{127}I . Privzem ^{131}I je bil večji pri nižji začetni koncentraciji ^{131}I v gojišču in kvasovke so privzele največ ^{129}I . Ti izsledki kažejo, da se različni izotopi joda v bioloških sistemih obnašajo različno.



Slika 48. Privzem jodovih izotopov ^{127}I (začetna koncentracija $100 \mu\text{g g}^{-1}$), ^{129}I (začetna koncentracija $3 \mu\text{g g}^{-1}$) in ^{131}I (začetna koncentracija $10,0$ ter $5500 \cdot 10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$), dodanih v obliki KI v tekoče gojišče YNB, po 24 urah aerobne submerzne kultivacije kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* v 250 mL erlenmajericah s stransko roko na stresalniku pri 28°C in $250 \text{ vrt. min}^{-1}$

Figure 48. Accumulation of iodine isotopes ^{127}I (initial concentration $100 \mu\text{g g}^{-1}$), ^{129}I (initial concentration $3 \mu\text{g g}^{-1}$) and ^{131}I (initial concentration $10,0$ and $5500 \cdot 10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$) added as KI to the YNB growth medium after 24 h of aerobic submerge cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in 250 mL erlenmeyer flasks on a shaker at 28°C and 250 rpm^{-1}

5 SKLEPI

- Razvili smo radiokemijsko nevtronsko aktivacijsko analizno metodo (RNAA) za določitev ^{129}I v okoljskih vzorcih:
 - Vsebnost ^{129}I v okoljskih vzorcih je nizka, zato je potrebno predkoncentriranje. Optimizirali smo razkroj vzorca v alkalni talini s KOH ter določili potrebno razmerje vzorec : KOH, ki je za tla in morski sediment 1 : 3, za morske alge 1 : 4 in za smrekove iglice 1 : 6. Določili smo pogoje razkroja vzorca, to je postopno dvigovanja temperature in čas zadrževanja pri določeni temperaturi. Iz razkrojene, nevtralizirane raztopine vzorca smo jodid z NaNO_2 oksidirali v jod ter ga v toku dušika adsorbirali na aktivnem oglju.
 - Da bi zmanjšali moteče jedrske reakcije zaradi prisotnosti urana v oglju, smo le-to čistili z različnimi postopki. Postopek, pri katerem smo uporabili zlatotopko, je zmanjšal vsebnost urana z $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$ na $0,54 \mu\text{g g}^{-1}$ (za 64 %), pri čiščenju s HCl (1 mol L^{-1}) se je vsebnost zmanjšala na $0,69 \mu\text{g g}^{-1}$ (za 54 %) in pri čiščenju s HNO_3 na $0,60 \mu\text{g g}^{-1}$ (za 60 %).
 - Proučevali smo primerne pogoje obsevanja in se odločili za obsevanje v F obroču reaktorja TRIGA Mark II, zaradi ugodnejšega razmerja med fluenco termičnih in hitrih nevtronov (1 : 0,3). Tako je jedrska reakcija (n, γ) prevladovala v primerjavi z jedrsko reakcijo $(n, 2n)$, za razliko od centralnega kanala, kjer je bilo razmerje med fluenco termičnih in hitrih nevtronov 1 : 1, in se posledično bistveno poveča indukcija stabilnega joda v ^{126}I z jedrsko reakcijo $^{127}\text{I}(n, 2n)^{126}\text{I}$. Le-ta prispeva v tem primeru, ko je fluenca hitrih nevtronov enaka fluenci termičnih (centralni kanal), k dvigu ozadja γ spektra bistveno več kot v F obroču, kjer prevladujejo termični nevtroni in je favorizirana jedrska reakcija $^{129}\text{I}(n, \gamma)^{130}\text{I}$. V F obroču pri naših razmerah obsevanja nismo zaznali moteče jedrske reakcije $^{235}\text{U}(n, f)^{131}\text{I} \rightarrow ^{131}\text{I}(n, 2n)^{130}\text{I}$ oz. je nastala

koncentracija ^{130}I pod mejo zaznavnosti metode. Poleg tega je bila prednost uporabe F obroča v tem, da je bila akumulirana doza sevanja zaradi nižje fluence nevtronov (~ 10 -krat) bistveno nižja kot v centralnem kanalu. Tako smo lahko izvedli radiokemijsko separiranje že po 10 urah.

- S predkoncentriranjem joda (tudi do 150 g vzorca), čiščenjem aktivnega oglja, z izbiro ustreznih pogojev obsevanja in s hitrim separiranjem joda po obsevanju (radiokemijsko separiranje joda je trajalo 25 min) smo dosegli mejo zaznavnosti metode $5 \cdot 10^{-14} \text{ g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ vzorca.
- Razvito metodo smo validirali z referenčnim materialom IAEA-375 Soil ter dobili dobro ujemanje med referenčno in dobljeno vrednostjo.
- Ovrednotili smo merilno negotovost metode in kot glavne vire negotovosti prepoznali ponovljivost določitve kemijskega izkoristka, število sunkov inducirane nuklida v vzorcu in v delovni raztopini $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ter certificirano negotovost aktivnosti ^{129}I raztopine (LEA Cerca).
- Razvito metodo RNAA smo uporabili za ugotavljanje ^{129}I v okoljskih vzorcih. Analizirali smo vzorce iz kopenskega (tla in smrekove iglice) in morskega okolja (morski sediment in rjava morska alga jadranski bračič, *Fucus virsoides*).
- Tla (Slovenija): vsebnost ^{127}I v vzorcih tal iz Slovenije je bila v območju od 0,7 do $130,0 \mu\text{g g}^{-1}$. Na območjih, kjer smo pričakovali povišano raven ^{129}I v okolju, je bila vsebnost le-tega v analiziranih vzorcih v območju od $61,4$ do $253,1 \cdot 10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$ (naravna anomalija na območju masiva Žirovski vrh, Boršt (vznožje jalovišča) in Podgorica na območju reaktorskega centra). V vzorcu z vrha jalovišča Boršt in v kontrolnem vzorcu (Murska Sobota) je bila vsebnost ^{129}I pod mejo zaznavnosti razvite

metode ($5 \cdot 10^{-14} \text{ g g}^{-1}$). Največje izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ smo določili v vzorcu Boršt, vzorčenem ob vznožju jalovišča ($5,4 \cdot 10^{-8}$).

- Tla (Ukrajina): v vzorcih tal iz Ukrajine je bila vsebnost ^{127}I v območju od 2,3 do $10,8 \mu\text{g g}^{-1}$. V današnjih vzorcih tal (vzorčenih junija 2006) je vsebnost ^{129}I pod mejo zaznavnosti. Vsebnost ^{129}I v vzorcih iz obdobja od 1989 do 1996 je v območju od $95,2$ do $146.800 \cdot 10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$. Izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ v teh vzorcih je bilo v območju od 770 do $1.360.000 \cdot 10^{-10}$, kar je za štiri do osem velikostnih razredov več kot v prednuklearni dobi.
- Smrekove iglice: vsebnost ^{127}I v smrekovih iglicah je bila zelo nizka, v območju od $0,09$ do $0,27 \mu\text{g g}^{-1}$, vsebnost ^{129}I pa pod mejo zaznavnosti.
- Morski sedimenti: vsebnost ^{127}I v vzorcih morskih sedimentov iz Jadranskega in Sredozemskega morja je bila v območju od 14 do $77 \mu\text{g g}^{-1}$. Vsebnost ^{129}I je bila v vseh morskih sedimentih, z izjemo sedimenta, vzorčenega na zunanjem robu Koprškega zaliva, pod mejo zaznavnosti razvite metode. V omenjenem sedimentu smo določili $25,6 \cdot 10^{-8} \mu\text{g g}^{-1}$ vzorca in izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ $35 \cdot 10^{-10}$.
- Morske alge: v analiziranih vzorcih rjave morske alge jadranski bračič (*Fucus virsoides*), ki so hiperakumulatorji joda, je bila vsebnost ^{127}I v območju od $234,0$ do $505,9 \mu\text{g g}^{-1}$, vsebnost ^{129}I in izotopski deleži $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ so bili v območju od $25,8$ do $109,4 \cdot 10^{-7} \mu\text{g g}^{-1}$ in od $5,3$ do $31,4 \cdot 10^{-10}$. Predvidevamo, da je glavni vir ^{129}I za morske alge suha (aerosol) in mokra (padavine) depozicija ^{129}I , katere izvor je v predelovalnih obratih za izrabljeno reaktorsko gorivo.
- Ugotavljali smo privzem jodovih izotopov pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, saj leta velja kot modelni organizem za proučevanje toksičnosti koncentracijskega območja določenih elementov.

- Najprej smo proučili vpliv različnih spojin stabilnega ^{127}I (KI , KIO_3 in KIO_4) na njegov privzem in rast kvasovke. Izvedli smo aerobno submerzno kultivacijo kvasovk v gojišču YNB brez aminokislin (Yeast Nitrogen Base without amino acids) v koncentracijskih območjih od 5 do 3000 $\mu\text{g I}^{(\text{I-})} \text{g}^{-1}$, od 5 do 750 $\mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ in od 0,5 do 50 $\mu\text{g I}^{(\text{VII})} \text{g}^{-1}$ gojišča. Rast kvasovk je najbolj inhibiral KIO_3 , saj smo opazili vpliv že pri 5 $\mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ začetne koncentracije v gojišču. Kvasovke so privzele največ joda, dodanega v obliki KI . Pri 3000 $\mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije joda, dodanega gojišču kot KI , so privzele 800 $\mu\text{g I}^{(\text{I-})} \text{g}^{-1}$ SS biomase. Inhibicijo rasti kvasovk smo opazili tudi pri kultivacijah s KIO_4 .
- Proučevali smo specifičnost vezave za jod v navzkrižnih poskusih ob prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$ (50, 500 in 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$) ali $\text{Zn}^{(\text{II+})}$ (50, 100 in 500 $\mu\text{g g}^{-1}$) ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ (2,6; 5,2 in 26,0 $\mu\text{g g}^{-1}$). Ker je KIO_3 najbolj inhibiral rast kvasovk, smo pri aerobni submerzni kultivaciji kvasovke v gojišče YNB poleg omenjenih elementov dodali tudi KIO_3 do začetne koncentracije 50 $\mu\text{g I}^{(\text{V})} \text{g}^{-1}$ gojišča ter spremljali vpliv teh elementov na rast kvasovke. Največjo inhibicijo rasti kvasovke smo opazili pri kromatu, vendar ni bilo opaziti večjih razlik med kultivacijo, pri kateri smo v gojišču dodali samo kromat, in kultivacijo, pri kateri smo v gojišče poleg kromata dodali tudi jodat. Zelo verjetno je, da je kromat že sam po sebi toliko toksičen, da dodatek jodata ne vpliva na dodatno inhibicijo kvasovk. Ta učinek je bilo zaznati pri kultivacijah s selenatom, predvsem pa pri $\text{Zn}^{(\text{II+})}$. Pri slednjem pri kultivacijah, pri katerih smo dodali samo $\text{Zn}^{(\text{II+})}$, nismo opazili nobenega učinka na rast kvasovk pri nobeni začetni koncentraciji cinka v gojišču, ob dodatku jodata pa se je rast kvasovk opazno zmanjšala. Ob koncu kultivacije po 24 urah smo določili tudi privzem $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ali $\text{Zn}^{(\text{II+})}$ ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ in ^{127}I pri kvasovkah. Zaradi dodatka jodata se je najbolj zmanjšal privzem selenata pri kvasovki, saj se je pri vseh začetnih koncentracijah v gojišču zmanjšal za več kot polovico glede na kultivacije, pri katerih smo v gojišče dodali samo selenat. Pri $\text{Zn}^{(\text{II+})}$ se je privzem le-tega, zaradi dodatka jodata, zmanjšal za ~40 % ter pri kromatu privzem le-tega za ~30 %, pri vseh začetnih koncentracijah $\text{Zn}^{(\text{II+})}$ oz. $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču. Privzem jodata se je

v primerjavi s kultivacijo, ko je bil v gojišču prisoten samo KIO_3 , najbolj zmanjšal pri kultivacijah, kjer je bil kromat prisoten v gojišču. Pri $26 \mu\text{g Cr}^{(\text{VI})} \text{g}^{-1}$ začetne koncentracije $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču se je privzem jodata zmanjšal za več kot 80 %. Ob prisotnosti $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ v gojišču se je privzem zmanjšal za 28 %, ob prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$ pa za 50 %.

- Privzem ^{131}I , ob prisotnosti stabilnega ^{127}I kot KI do $100 \mu\text{g g}^{-1}$ začetne koncentracije v gojišču, se pri višjih začetnih aktivnostih v gojišču ni bistveno razlikoval. Kvasovke so v povprečju privzele $0,18 \pm 0,01 \%$ v gojišču razpoložljivega ^{131}I , preračunano na suho biomaso. Pri nižji začetni aktivnosti ^{131}I v gojišču pa so kvasovke privzele več ^{131}I (0,28 %) kot pri višjih začetnih aktivnostih ^{131}I v gojišču. Dodatek ^{131}I je na rast kvasovk vplival le malo, saj nismo opazili izrazite inhibicije rasti. Kvasovke so ob prisotnosti ^{131}I privzele več ^{127}I kot v primeru, ko je bil v gojišču prisoten samo ^{127}I v obliki KI. Opazili smo tudi razlike v privzeti masi ^{131}I in ^{127}I , saj izotopsko razmerje ni bilo konstantno, kot smo pričakovali. Pri višjih začetnih aktivnostih ^{131}I v gojišču smo opazili, da je izotopsko razmerje $^{131}\text{I}/^{127}\text{I}$ pomaknjeno v korist ^{131}I , kar kaže na različno obnašanje stabilnega in radioaktivnega izotopa joda v bioloških sistemih.
- Določili smo časovno odvisnost privzema ^{127}I in ^{129}I . Privzem ^{129}I in ^{127}I se je povečal po 12 urah kultivacije. Kvasovke so po 24 urah kultivacije privzele več v gojišču razpoložljivega ^{129}I (3,6 % preračuno na suho biomaso) kot ^{127}I (0,31 %). Posledično je izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ naraščalo v korist ^{129}I in ob koncu kultivacije doseglo vrednost $285 \cdot 10^{-3}$, kar potrjuje ugotovitve pri kultivacijah z ^{131}I , in sicer, da se stabilni in radioaktivni izotopi joda v bioloških sistemih obnašajo drugače. Vpliv ^{129}I na rast kvasovke *S. cerevisiae* se ne kaže v rastni krivulji pri dani začetni aktivnosti ^{129}I v gojišču.

6 POVZETEK

Edini stabilni naravni izotop joda je ^{127}I , ^{129}I ($T_{1/2} = 1,57 \cdot 10^7$ let, $E_{\gamma} = 39,58$ keV) pa je edini naravni radioaktivni izotop joda. Glavni vir ^{129}I predstavljajo obrati za predelavo izrabljenega reaktorskega goriva, kajti med delovanjem jedrske elektrarne oz. jedrskega reaktorja pri razpadu urana nastaja med drugimi radioizotopi tudi ^{129}I , ki se pri obdelavi izrabljenega reaktorskega goriva sprošča v okolje. V Evropi sta taka obrata v Franciji (La Hague) in Angliji (Sellafield) in sta odgovorna za izpust 3280 kg ^{129}I do leta 2000. Le-ta še ni dosegel s stabilnim ^{127}I določenega ravnotežnega razmerja, ki mu za prednuklearno dobo pripisujejo vrednost $1,5 \cdot 10^{-12}$. ^{129}I antropogenega izvora prevladuje v biosferi, tleh (pedosferi) in v vrhnjih plasteh morij, zato je pričakovati, da bo izotopsko razmerje $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ najbolj povečano prav v teh oddelkih ekosistema. Trenutne koncentracije ^{129}I v okolju ne predstavljajo nobene radiološke nevarnosti za človeka, njegova pomembnost je v potencialu okoljskega sledilca biogeokemičnega kroženja joda in širjenja jedrskega onesnaženja, saj se v okolju nahaja v majhnih množinah, v sledovih, in njegovo povečanje v določenem oddelku ekosistema takoj zaznamo. Obrati za izrabljeno reaktorsko gorivo predstavljajo vhodne točke, kjer ^{129}I vstopa v okolje, in zato lahko spremljamo njegovo širjenje v okolju. Namen našega dela je bil razviti radiokemično nevtronska aktivacijsko analizo metodo (RNAA) za določitev ^{129}I v okoljskih vzorcih z uporabo reaktorja TRIGA Mark II. Njegova vsebnost v okoljskih vzorcih je nizka, zato smo optimizirali predkoncentriranje joda z razkrojem vzorca (tudi do 150 g) v alkalni talini s KOH. Določili smo ustrezno razmerje vzorec : KOH, ki je za morski sediment in tla 1 : 3, za morske alge 1 : 4 in za smrekove iglice 1 : 6, in razmere za razkroj vzorca. Iz razkrojene, nevtralizirane raztopine vzorca smo jod v toku dušika adsorbirali na aktivnem oglju. Da bi zmanjšali moteče jedrske reakcije, zaradi prisotnosti urana v oglju, smo le-tega čistili z različnimi postopki in izbrali čiščenje s HCl (1 mol L^{-1}), vsebnost urana smo tako zmanjšali za 54 %. Izbrali smo ustrezne pogoje obsevanja in oglje obsevali v F obroču reaktorja TRIGA Mark II pri fluenci termičnih nevtronov $3,5 \cdot 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in fluenci hitrih nevtronov $1,2 \cdot 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 12 ur. Sledilo je radiokemijsko separiranje joda s solventno ekstrakcijo s CHCl_3 (CCl_4) in merjenje γ aktivnosti induciranih radionuklidov ^{130}I [$^{129}\text{I}(\text{n}, \gamma)^{130}\text{I}$, $T_{1/2} = 12,36$ h, $E_{\gamma} = 536,1$ keV] in ^{126}I [$^{127}\text{I}(\text{n}, 2\text{n})^{126}\text{I}$, $T_{1/2} = 13,026$ dni, $E_{\gamma} = 388,6$ keV] na koaksialnem detektorju HPGe. Čas, potreben za sežig obsevanega oglja v toku dušika in za radiokemijsko separiranje, je manjši od 30 minut. Kemijski izkoristek metode smo določili spektrofotometrično in z merjenjem aktivnosti ^{126}I . Meja zaznavnosti razvite metode je $5 \cdot 10^{-14} \text{ g } ^{129}\text{I g}^{-1}$ vzorca. Metodo smo validirali z referenčnim materialom IAEA-375 ter ovrednotili merilno negotovost. Razvito metodo smo uporabili za ugotavljanje porazdelitve ^{129}I v posameznih oddelkih ekosistema za območje Slovenije. Izotopski delež $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ smo določili v vzorcih iz kopenskega (tla in smrekove iglice) in morskega okolja (morski sediment in rjava morska alga jadranski bračič, *Fucus virsoides*). V današnjih vzorcih tal, smrekovih iglic in morskega sedimenta z območja Slovenije je vsebnost ^{129}I pod mejo zaznavnosti razvite metode. V vzorcih jadranskega bračiča, ki je endemit v Jadranskem morju, so bili izotopski deleži v območju od $5,3$ do $31,4 \cdot 10^{-10}$. Naši rezultati potrjujejo, da je ^{129}I v algah prisoten, kar je v soglasju s podatki iz literature. Glavni vir ^{129}I v Sloveniji je suha (aerosol) in mokra

(padavine) depozicija ^{129}I . V kroženje joda v okolju se aktivno vključujejo tudi mikroorganizmi. Vloga bakterij je že znana, povzročajo namreč volatilizacijo joda. Naš namen je bil proučiti privzem jodovih izotopov pri kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*, ki velja kot modelni organizem za proučevanje privzema različnih elementov. Najprej smo proučili vpliv različnih spojin stabilnega ^{127}I (KI, KIO_3 in KIO_4) na njegov privzem in rast kvasovk. Rast kvasovk je najbolj inhibiral KIO_3 in kvasovke so privzele največ joda, dodanega gojišču v obliki KI. Inhibicijo rasti kvasovk smo opazili tudi pri kultivacijah v prisotnosti KIO_4 . Proučevali smo specifičnost vezave za jod, dodan kot KIO_3 , in privzem le-tega preverili v navzkrižnih poskusih ob prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ali $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ v gojišču z dodatkom jodida in brez njega ter preverili vpliv le-teh na rast kvasovke. Največjo inhibicijo rasti kvasovke smo opazili pri kromatu, vendar ni bilo opaziti večjih razlik med kultivacijo, pri kateri smo v gojišču dodali samo kromat, in kultivacijo, pri kateri smo v gojišče poleg kromata dodali tudi vir joda v obliki KIO_3 . Zelo verjetno je, da je kromat že sam po sebi toliko toksičen, da dodatek KIO_3 ne vpliva na dodatno inhibicijo kvasovk. Ta učinek je bilo zaznati pri kultivacijah s selenatom, predvsem pa pri $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$. Pri slednjem pri kultivacijah, kjer smo dodali samo vir $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$, nismo opazili nobenega učinka na rast kvasovk pri nobeni začetni koncentraciji $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ v gojišču, ob dodatku KIO_3 pa se je rast kvasovk opazno zmanjšala. Določili smo tudi privzem $\text{Se}^{(\text{VI})}$ ali $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ ali $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ in ^{127}I pri kvasovkah ob koncu kultivacije po 24 urah. Zaradi prisotnosti jodata, se je privzem najbolj zmanjšal pri selenatu, saj se je v primerjavi s kultivacijo, pri kateri smo v gojišče dodali samo selenat razpolovil (za 56 %). Ta učinek je bil manjši pri $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ (za 24 %) in najmanjši pri kromatu (za 4 %). Privzem jodata se je v primerjavi s kultivacijo, ko je bil v gojišču prisoten samo KIO_3 , ob prisotnosti $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ v gojišču zmanjšal za 28 %, ob prisotnosti $\text{Se}^{(\text{VI})}$ za 50 % in največ ob prisotnosti $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, za 81 %. Pri različnih aktivnostih ^{131}I v gojišču, ob prisotnosti stabilnega ^{127}I kot KI, je bil privzem radioaktivnega ^{131}I v obliki KI v povprečju $0,20 \pm 0,05$ % začetne aktivnosti ^{131}I . Kvasovke so privzele več v gojišču razpoložljivega ^{131}I kot ^{127}I . Pri kultivacijah z radioaktivnim ^{131}I smo preverjali pretvorbo le-tega v hlapno obliko, vendar te lastnosti pri kvasovki *S. cerevisiae* za tvorbo hlapnih jodovih spojin nismo opazili. Določili smo časovno odvisnost privzema ^{127}I in ^{129}I , katerih privzem se je bistveno povečal po 12 urah kultivacije, ko so kvasovke prešle v stacionarno fazo rasti. Kvasovke so po 24 urah kultivacije privzele več v gojišču razpoložljivega ^{129}I (3,6 %) kot ^{127}I (0,31 %) pri danih koncentracijah v gojišču. Vpliv ^{131}I in ^{129}I na rast kvasovk se ne kaže v rastni krivulji pri dani začetni aktivnosti v gojišču.

6.1 SUMMARY

The only stable natural iodine isotope is ^{127}I , and ^{129}I ($T_{1/2} = 1.57 \cdot 10^7$ years, $E_{\gamma} = 39.58$ keV) is the only natural radioactive isotope of iodine. The main sources of ^{129}I are nuclear fuel reprocessing plants, for during the operation of a nuclear reactor uranium atoms are split into fission products and among other radionuclides ^{129}I is formed, some of which during the reprocessing of the used reactor fuel is emitted to the environment. In Europe two such nuclear fuel reprocessing plants are located in La Hague (France) and Sellafield (England), which are responsible for a total release of 3280 kg of ^{129}I to the year 2000. The ^{129}I released recently has disturbed the natural equilibrium with the stable iodine pool defined as the $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ isotopic ratio, which from analysis of pre-nuclear era archive samples is known to have been about $1.5 \cdot 10^{-12}$. Anthropogenic ^{129}I predominates in the biosphere, soil and in upper layers of the oceans, therefore it can be expected that the isotopic ratio $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ is increasing in these compartments of the ecosystem. Current concentrations of ^{129}I in the environment do not represent any radiological hazard for man, but it is important as an environmental tracer of biogeochemical cycling of iodine and of the dissemination of nuclear pollution, since it is present in the environment in low quantities (in traces) and its increase in a particular compartment of the ecosystem can be instantly recognized. Nuclear fuel reprocessing plants are source term from which ^{129}I enters the environment, which enables us to follow its spread. The aim of this doctoral work was to develop a radiochemical neutron activation analysis method (RNAA) for ^{129}I determination in environmental samples using the TRIGA Mark II reactor of the "Jožef Stefan" Institute in Ljubljana. The content of ^{129}I in environmental samples is low; therefore we optimised the pre-concentration of iodine, using decomposition of the sample (up to 150 g) by alkaline fusion (KOH). We determined the most appropriate sample to KOH ratio for marine sediments and soil as 1:3, for marine algae as 1:4 and for pine needles 1:6, and the conditions needed to decompose the sample efficiently. Iodine was purged from the decomposed, neutralised solution of the sample in a flow of nitrogen and adsorbed on activated charcoal. To minimise interfering nuclear reactions, cleaning of the charcoal was tested by different procedures to reduce the content of uranium. We then choose HCl (1 mol L^{-1}) to clean the charcoal, which reduced the concentration of uranium by 54 %. Appropriate irradiation conditions were selected and we irradiated the charcoal in the F ring of the TRIGA Mark II reactor at a thermal neutron fluence of $3.5 \cdot 10^{12} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ and a fast neutron fluence of $1.2 \cdot 10^{12} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Radiochemical separation of iodine by solvent extraction with CHCl_3 (CCl_4) followed, and γ activity measurement of the induced isotopes ^{130}I [$^{129}\text{I}(\text{n},\gamma)^{130}\text{I}$, $T_{1/2} = 12.36 \text{ h}$, $E_{\gamma} = 536.1 \text{ keV}$] and ^{126}I [$^{127}\text{I}(\text{n},2\text{n})^{126}\text{I}$, $T_{1/2} = 13.02 \text{ days}$, $E_{\gamma} = 388.6 \text{ keV}$] was performed on a coaxial HPGe detector. The time needed to combust the irradiated charcoal in a flow of oxygen and for the radiochemical separation is less than 30 minutes. The chemical yield of the method was determined both spectrophotometrically and by the measurement of the ^{126}I activity. The detection limit of the method developed is $5 \cdot 10^{-14} \text{ g } ^{129}\text{I g}^{-1} \text{ sample}$. The method was validated using the reference material IAEA-375 and the measurement uncertainty was evaluated. We applied the method to determine the distribution of ^{129}I in the environment in Slovenia. The $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ isotopic ratio was determined in samples from the

terrestrial (soil and pine needles) and marine environment (marine sediment and the brown marine alga *Fucus virsoides* (Donati) J. Agardh). The content of ^{129}I was below the detection limit of the method, with the exception of *F. virsoides* samples, an alga which is endemic to the Adriatic Sea. In this we determined an isotopic ratio in the range from 5.3 to $31.4 \cdot 10^{-10}$. Our results confirm the presence of ^{129}I in brown algae, which is in accordance with literature data. The main sources of ^{129}I in the environment of Slovenia are dry (aerosol) and wet (precipitation) depositions. Microorganisms are actively involved in the environmental cycling of iodine. The role of bacteria is already known, their activity leading to volatilization of iodine. In this connection we intended to assess the uptake of iodine isotopes by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, which is known as a model organism for studying the uptake of different elements. First we studied the influence of different stable iodine ^{127}I compounds (KI , KIO_3 and KIO_4) upon its accumulation and the growth of the yeast. KIO_3 inhibited the growth of the yeast the most, whereas more iodine was accumulated when added as KI to the growth medium. We also observed yeast growth inhibition during cultivation in the presence of KIO_4 . In crosswise experiments we investigated iodate accumulation in the presence of $\text{Se}^{(\text{VI})}$ or $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ or $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ in the growth medium and examined the influence of these upon the growth of the yeast. $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ inhibited the growth of the yeast the most, but we observed no difference in inhibition between cultivation when only $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ was added to the growth medium and when $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ together with iodate (KIO_3) was added. It is most likely that $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ itself is so toxic that the added KIO_3 has no additional effect on the inhibition of the yeast. The effect of inhibition of iodate was noticed in cultivation with $\text{Se}^{(\text{VI})}$ and especially with $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$. When we added only $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ no inhibition was observed at any initial concentration but with the addition of $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ and KIO_3 , the growth of yeast was obviously inhibited. We also determined the uptake of $\text{Se}^{(\text{VI})}$ or $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ or $\text{Cr}^{(\text{VI})}$ or ^{127}I by the yeast at the end of cultivation after 24 hours. The presence of iodate decreased the uptake of $\text{Se}^{(\text{VI})}$ the most, by 56 % relative to cultivation when only $\text{Se}^{(\text{VI})}$ was present in the growth medium. This effect was less obvious in the case of $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ with a reduction of 24 %, and the smallest for $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, where the reduction was only 4 %. The uptake of iodate decreased in comparison to cultivation when only KIO_3 was present in the growth medium; in the presence of $\text{Zn}^{(\text{II}+)}$ in the growth medium by 28 %, in the presence of $\text{Se}^{(\text{VI})}$ by 50 % and the most in the presence of $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, by 81 %. At different activity levels of ^{131}I in the growth medium as KI , together with the presence of stable ^{127}I as KI , the accumulation of radioactive ^{131}I was on average 0.20 ± 0.05 % of the initial activity. The yeast accumulated more ^{131}I available in the growth medium than ^{127}I and no transformation of iodide to volatile forms was observed. We determined the kinetics of ^{127}I and ^{129}I accumulation (both added as KI), which increased tremendously after 12 h of cultivation, when the yeast passed over to the stationary growth phase. After 24 h of cultivation the yeast accumulated more ^{129}I (3.6 %) available in the growth medium than ^{127}I (0.31 %) at given concentrations in the growth medium. The influence of ^{131}I and ^{129}I upon the growth of the yeast *S. cerevisiae* is not reflected in the growth curve for the yeast at the given initial activities in the growth medium.

7 VIRI

- Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. 2. izd. Ljubljana, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani: 27-89
- Aldahan A., Englund E., Possnert G., Cato I., Hou X.L. 2007. Iodine-129 enrichment in sediment of the Baltic Sea. *Applied Geochemistry*, 22, 3: 637-647
- Amachi S., Kamagata Y., Kanagawa T., Muramatsu Y. 2001. Bacteria mediate methylation in marine and terrestrial environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 6: 2718-2722
- Amachi S., Kasahara M., Hanada S., Kamagata Y., Shinoyama H., Fujii T., Muramatsu Y. 2003. Microbial participation in iodine volatilization from soils. *Environmental Science and Technology*, 37, 17: 3885-3890
- Amachi S., Muramatsu Y., Akiyama Y., Miyazaki K., Yoshiki S., Hanada S., Kamagata Y., Ban-nai T., Shinoyama H., Fujii T. 2005a. Isolation of iodide-oxidizing bacteria from iodide-rich natural gas brines and seawaters. *Microbial Ecology*, 49, 4: 547-557
- Amachi S., Mishima Y., Shinoyama H., Muramatsu Y., Fujii T. 2005b. Active transport and accumulation of iodide by newly isolated marine bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 2: 741-745
- Baker J.M., Sturges W.T., Sugier J., Sunnenberg G., Lovett A.A., Reeves C.E., Nightingale P.D., Penkett S.A. 2001. Emissions of CH_3Br , organochlorines, and organoiodines from temperate macroalgae. *Chemosphere*, 3, 14: 93-106
- Ban-nai T., Muramatsu Y., Amachi S. 2006. Rate of iodine volatilization and accumulation by filamentous fungi through laboratory cultures. *Chemosphere*, 65, 11: 2216-2222
- Browne E., Firestone R.B., Shirley V.S. (eds.). 1986. Table of radioactive isotopes. New York, John Wiley: 1 zv., loč.pag.
- Buraglio N., Aldahan A., Possnert G., Vintersved I. 2001. ^{129}I from the nuclear reprocessing facilities traced in precipitation and runoff in Northern Europe. *Environmental Science and Technology*, 35, 8: 1579-1586
- Chance R., Malin G., Jickells T., Baker A.R. 2006. Reduction of iodate to iodide by cold water diatom cultures. *Marine Chemistry*, 105, 1-2: 169-180
- Councell T.B., Landa E.R., Lovley D.R. 1997. Microbial reduction of iodate. *Water, Air, and Soil Pollution*, 100, 1-2: 99-106

- Dangeard P. 1928. Sur le dégagement d'iode chez les algues marines. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 186: 892-894
- Dermelj M., Šlejkovec Z., Byrne A.R., Stegnar P., Stibilj V., Rossbach M. 1990. Iodine in different food articles and standard reference materials. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 338, 4: 559-561
- Dermelj M., Byrne A.R., Stibilj V. 1996. Trace iodine determination in environmental samples by RNAA. Transactions of American Nuclear Society, 74: 122-123
- Devirgiliis C., Murgia C., Danscher G., Perozzi G. 2004. Exchangeable zinc ions transiently accumulate in a vesicular compartment in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 323, 1: 58-64
- Duffa C., Fréchou C. 2003. Evidence of long-lived I and Pu isotopes enrichment in vegetation samples around the Marcoule nuclear reprocessing plant (France). Applied Geochemistry, 18, 12: 1867-1873
- Dumont E., Cremer K., Hulle M., Chéry C.C., Vanhaecke F., Cornelis R. 2005. Identification of the major selenium compound, Se-Methionine, in three yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) dietary supplements by on-line narrowbore liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1071, 1-2: 191-196
- Ehmann W.D., Vance D.E. 1991. Radiochemistry and nuclear methods of analysis. Winefordner J.D. (ed.). New York, John Wiley: 531 str.
- Elmore D., Gove H.E., Ferraro R., Kilius L.R., Lee W., Chang K.H., Beukens R.P., Litherland A.E., Russo C.J., Murell M.T., Finkel R.C. 1980. Determination of ^{129}I using tandem accelerator mass spectrometry. Nature, 286, 138-140: 138-140
- Encinar J.R., Śliwka-Kaszyńska M., Połatajko A., Vacchina V., Szpunar J. 2003. Methodological advances for selenium speciation analysis in yeast. Analytica Chimica Acta, 500, 1-2: 171-183
- Erdtmann G. 1976. Neutron activation tables. Volume 6. Weinheim, New York, Verlag Chemie: 82 str.
- Ernst T. 2003. Anthropogenes Iod-129 als Tracer für Umweltprozesse – Ein Beitrag zum Verhalten von Spurenstoffen bei der Migration in Böden und beim atmosphärischen Transport. Dissertation. Hannover, Universität Hannover: 361 str.
http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=970679068&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=970679068.pdf
 (12.06.2006): 361 str.

- Eskandari S., Loo D.D.F., Dai G., Levy O., Wright E.M., Carrasco N. 1997. Thyroid Na^+/I^- symporter. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 43: 27230-27238
- Fabryka-Martin J. 1984. Natural ^{129}I as a ground-water tracer. Thesis. Tucson, University of Arizona: 149 str.
- Fabryka-Martin J., Bentley H., Elmore D., Airley P.L. 1985. Natural iodine-129 as an environmental tracer. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 49, 2: 337-347
- Farrenkopf A.M., Dollhopf M.E., Chadhain S.N., Luther G.W., Neilson K.H. 1997. Reduction of iodate in seawater during Arabian Sea shipboard incubations and in laboratory cultures of the marine bacterium *Shewanella putrefaciens* strain MR-4. *Marine Chemistry*, 57, 3-4: 347-354
- Ferraz A.I., Tavares T., Teixeira J.A. 2004. Cr(III) removal and recovery from *Saccharomyces cerevisiae*. *Chemical Engineering Journal*, 105, 1-2: 11-20
- Finkel R.C., Suter M. 1993. AMS in the earth sciences: techniques and applications. *Advances in Analytical Geochemistry*, 1: 1-114
- Fréchou C., Calmet D., Bouisset P., Piccot D., Gaudry A., Yiou F., Raisbeck G. 2001. ^{129}I and $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ratio determination in environmental biological samples by RNAA, AMS and direct γ -X spectrometry measurements. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 249, 1: 133-138
- Fréchou C., Calmet D. 2003a. ^{129}I in the environment of the La Hague nuclear fuel reprocessing plant-from sea to land. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 70, 1-2: 43-59
- Fréchou C., Calmet D. 2003b. Variations of iodine-129 activities in various seaweed collected on the French channel coast. *Czechoslovak Journal of Physics*, 53, 6, Supplement A: A83-A90
- Fujs Š. 2004. Metabolni odziv kvasovke *Kluyveromyces marxianus* na selen. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 131 str.
- Fujs Š., Gazdag Z., Poljšak B., Stibilj V., Milačič R., Pesti M., Raspor P., Batič M. 2005. The oxidative stress response of the yeast *Candida intermedia* to copper, zinc, and selenium exposure. *Journal of Basic Microbiology*, 45, 2: 125-135
- Gadd G.M. 1996. Influence of microorganisms on the environmental fate of radionuclides. *Endeavour*, 20, 4: 150-156

- Gadd G.M. 2000. Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Current Opinion in Biotechnology*, 11, 3: 271-279
- Gharieb M.M., Gadd G.M. 2004. Role of glutathione in detoxification of metal(loid)s by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biometals*, 17, 2: 183-188
- Gómez F. 2003. The role of the exchanges through the Strait of Gibraltar on the budget of elements in the Western Mediterranean Sea: consequences of human-induced modifications. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 6: 685-694
- Greaves J.E., Zobell C.E., Greaves J. 1928. The influence of iodine upon the growth and metabolism of yeasts. *Journal of Bacteriology*, 409-430
www.jb.asm.org/cgi/reprint/16/6/409 (08.05.2006): 22 str.
- Hou X., Chai C., Qian Q., Yan X., Fan X. 1997. Determination of chemical species in some seaweeds (I). *Science of Total Environment*, 204, 3: 215-221
- Hou X., Dahlgaard H., Rietz B., Jacobsen U., Nielsen S.P., Aarkrog A. 1999. Determination of ^{129}I in seawater and some environmental materials by neutron activation analysis. *Analyst*, 124, 7: 1109-1114
- Hou X., Yan X., Chai C. 2000a. Chemical species of iodine in some seaweeds II. Iodine-bound biological macromolecules. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 245, 3: 461-467
- Hou X., Dahlgaard H., Nielsen S.P., Ding W. 2000b. Iodine-129 in human thyroids and seaweed in China. *Science of the Total Environment*, 246, 2-3: 285-291
- Hou XL, Dahlgaard H, Nielsen SP. 2000c. Iodine-129 time series in Danish, Norwegian and northwest Greenland coast and the Baltic Sea by seaweed. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 51, 5: 571-584
- Hou X., Dahlgaard H., Nielsen S.P. 2001. Chemical speciation analysis of ^{129}I in seawater and a preliminary investigation to use it as a tracer for geochemical cycle study of stable iodine. *Marine Chemistry*, 74, 2-3: 145-155
- Hou X.L., Dahlgaard H., Nielsen S.P., Kucera J. 2002. Level and origin of Iodine-129 in the Baltic Sea. *Journal of Environmental Radioactivity*, 61, 3: 331-343
- Hou X., Malencheko A.F., Kucera J., Dahlgaard H., Nielsen S.P. 2003a. Iodine-129 in thyroid and urine in Ukraine and Denmark. *Science of the Total Environment*, 302, 1-3: 63-73

- Hou X.L., Fogh C.L., Kucera J., Andersson K.G., Dahlgard H., Nielsen S.P. 2003b. Iodine-129 and caesium-137 in Chernobyl contaminated soil and their chemical fractionation. *Science of the Total environment*, 308, 1-3: 97-109
- Hou X. 2004. Application of ^{129}I as an environmental tracer. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 262, 1: 67-75
- IAEA, International Atomic Energy Agency. 2004. Reference materials catalogue 2004-2005. Vienna, International Atomic Energy Agency, Analytical Quality Control Services: 115 str.
<http://www-naweb.iaea.org/nahu/nmrm/nmrm2003/material/iaea375.htm> (10.11.2005): 1 str.
- IAEA, International Atomic Energy Agency. 2006. Nudat2.2. Nuclear Wallet Cards database version of 11/21/2006. Vienna, National Nuclear Data Center, International Atomic Energy Services, Brookhaven National Laboratory. (23.05.2007): <http://www-nds.iaea.org/nudat2/index.jsp> (2003-2007): 1 str.
- ISO/IEC Guide 98:1995. 1995. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM). 2nd ed. Geneva, International Organisation for Standardisation (ISO): 105 str.
<http://www.iso.ch/iso/en/CatalogueDetailPage.CatalogueDetail?CSNUMBER=45315> (05.06.2004)
- Itoh N., Tsujita M., Ando T., Hisatomi G., Higashi T. 1997. Formation and emission of monohalomethanes from marine algae. *Phytochemistry*, 45, 1: 67-73
- Izgi B., Gucer S., Jaćimović R. 2006. Determination of selenium in garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) by electro thermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 99, 3: 630-637
- Jaćimović R. 2003. Analiza uporabe reaktorja Triga Mark II za k_0 -metodo aktivacijske analize. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko: 137 str.
- Jaćimović R., Stibilj V., Benedik L., Smodiš B. 2003a. Characterization of the neutron flux gradients in typical irradiation channels of a TRIGA Mark II reactor. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 257, 3: 545-549
- Jaćimović R., Smodiš B., Bučar T., Stegnar P. 2003b k_0 -NAA quality assessment by analysis of different certified reference materials using the KAYZERO/SOLCOI software. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 257, 3: 659-663
- Jamnik P., Raspor P. 2005. Induction of Hsp104 by Cr(VI) in yeast *Candida intermedia*. *Acta Agriculturae Slovenica*, 85, 1: 67-72

- Jianlong W., Zeyu M., Xuan Z. 2004. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to chromium stress. *Process Biochemistry*, 39, 10: 1231-1235
- Keppler F., Eiden R., Niedan V., Pracht J., Schöler H.F. 2000. Halocarbons produced by natural oxidation processes during degradation of organic matter. *Nature*, 403: 298-301
- Keppler F., Borchers R., Elsner P., Fahimi I., Pracht J., Schöler H.F. 2003. Formation of volatile iodinated alkanes in soil: results from laboratory studies. *Chemosphere*, 52, 2: 477-483
- Krupp G., Aumann D.C. 1999. Iodine-129 in rainfall over Germany. *Journal of Environmental Radioactivity*, 46, 3: 287-299
- Küpper F.C., Schweigert N., Gall E., Legendre J.M., Vilter H., Kloareg B. 1998. Iodine uptake in *Laminariales* involves extracellular, haloperoxidase-mediated oxidation of iodide. *Planta*, 207, 2: 163-171
- Kylin H. 1929. Über das Vorkommen von Jodiden, Bromiden und Jodidoxydasen bei Meersalgen. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie*, 186: 50-84
- Lazarini F., Brenčič . 1992. Splošna in anorganska kemija. 3 izd. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 279-300
- Leblanc C., Colin C., Cosse A., Delage L., La Barre S., Morin P., Fiévet B., Voiseux C., Ambroise Y., Verhaeghe E., Amouroux D., Donard O., Tessier E., Potin P. 2006. Iodine transfers in the coastal marine environment: the key role of brown algae and of their vanadium-dependent haloperoxidases. *Biochimie*, 88, 11: 1773-1785
- Lefèvre O., Bouisset P., Germain P., Barker E., Kerlau G., Cagnat X. 2003. Self-absorption correction factor applied to ^{129}I measurement by direct gamma-X spectrometry for *Fucus serratus* samples. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, 506, 1-2: 173-185
- León C.A.P., Bayón M.M., Paquin C., Caruso J.A. 2002. Selenium incorporation into *Saccharomyces cerevisiae* cells: a study of different incorporation methods. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 4: 602-610
- Liu X., Fehn U., Teng R.T.D. 1997. Oil formation and fluid convection in Railroad Valley, NV: a study using cosmogenic isotopes to determine the onset of hydrocarbon migration. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 123, 1-4: 356-360
- Manley S.L., Cuesta J.L. 1997. Methyl iodide production from marine phytoplankton cultures. *Limnology and Oceanography*, 42, 1: 142-147

- Metrodata. 2005. GUM Workkenbench (version 1.2), Weil am Rhein, Germany, Metrodata GmbH (10.05.2007) <http://www.metrodata.de/> (maj, 2005): software
- Michel R., Handl J., Ernst T., Botsch W., Szidat S., Schmidt A., Jakob D., Beltz D., Romantschuk L.D., Synal H.A., Schnabel C., López-Gutiérrez J.M. 2005. Iodine-129 in soils from Northern Ukraine and theretropective dosimetry of the iodine-131 exposure after the Chernobyl accident. *Science of the Total Environment*, 340, 1-3: 35-55
- Moor R.M., Groszko W. 1999. Methyl iodide distribution in the ocean and fluxes to the atmosphere. *Journal of Geophysical Research*, 104, C5: 11163-11171
- Moran J.E., Fehn U., Teng T.D. 1998. Variations in $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ratios in recent marine sediments: evidence for a fossil organic component. *Chemical Geology*, 152, 1-2: 193-203
- Moran J.E., Oktay S., Snatschi P.H., Schink D.R. 1999. Atmospheric dispersal of ^{129}I Iodine from nuclear fuel reprocessing facilities. *Environmental Science and Technology*, 33, 15: 2536-2542
- Munda I.M. 1990. Resources and possibilities for exploitation of North Adriatic seaweeds. *Hydrobiologia*, 204-205, 1: 309-315
- Munda I.M. 1993. Changes and degradation of seaweed stands in the Northern Adriatic. *Hydrobiologia*, 260-261, 1: 239-253
- Muramatsu Y., Ohmomo Y., Sumiya M. 1988. Determination of iodine-129 and iodine-127 in environmental samples collected in Japan. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 123, 1: 181-189
- Muramatsu Y., Yoshida S. 1995a. Volatilization of methyl iodide from the soil-plant system. *Atmospheric Environment*, 29, 1: 21-25
- Muramatsu Y., Yoshida S. 1995b. Determination of ^{129}I and ^{127}I in environmental samples by neutron activation analysis (NAA) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 197, 1: 149-159
- Muramatsu Y., Wedepohl K.H. 1998. The distribution of iodine in the earth's crust. *Chemical Geology*, 147, 3-4: 201-216
- Muramatsu Y., Fehn U., Yoshida S. 2001. Recycling of iodine in fore-arc areas: evidence from the iodine brines in Chiba, Japan. *Earth and Planetary Science Letters*, 192, 4: 583-593

- Muramatsu Y., Yoshida S., Fehn U., Amachi S., Ohmomo Y. 2004. Studies with natural and anthropogenic iodine isotopes: iodine distribution and cycling in the global environment. *Journal of Environmental Radioactivity*, 74, 1-3: 221-232
- Osterc A., Stibilj V. 2005. Measurement uncertainty of iodine determination in radiochemical neutron activation analysis. *Accreditation and Quality Assurance*, 10, 5: 235-240
- Osterc A., Jačimović R., Stibilj V. 2007. Development of a method for ^{129}I determination using radiochemical neutron activation analysis. *Acta Chimica Slovenica*, 54, 2: 273-283
- Parry S.J., Bennett B.A., Benzig R., Lally A.E., Birch C.P., Fulker M.J. 1995. The determination of ^{129}I in milk and vegetation using neutron activation analysis. *Science of the Total Environment*, 173-174, 1: 351-360
- Parry S.J. 2001. Determination of $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ratios in environmental samples using neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 248, 1: 137-141
- Paš M., Milačič R., Drašlar K., Pollak N., Raspor P. 2004. Uptake of chromium(III) and chromium(VI) compounds in the yeast cell structure. *Biometals*, 17, 1: 25-33
- Pée K.H., Unversucht S. 2003. Biological dehalogenation and halogenation reactions. *Chemosphere*, 52, 2: 299-312
- Quintana E.E., Thyssen S.M. 2000. Determination of ^{129}I in conifer samples around nuclear facilities in Argentina. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 245, 3: 545-550
- Raisbeck GM, Yiou F, Zhou ZQ, Kilius LR. 1995. ^{129}I from nuclear fuel reprocessing facilities at Sellafield (U.K.) and La Hague (France); potential as an oceanographic tracer. *Journal of Marine Systems*, 6, 5-6: 561-570
- Raisbeck GM, Yiou F. 1999. ^{129}I in the oceans: origins and applications. *Science of the Total Environment*, 238: 31-41
- Raspor P., Smole-Možina S., Podjavoršek J., Pohleven F., Gogala N., Nekrep F., Rogelj I., Hacin I.J. 1995. ZIM: zbirka industrijskih mikroorganizmov Ljubljana. Katalog biokultur. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biotehnologijo: 98 str.
- Raspor P., Fujs Š., Banszky L., Maraz A., Batič M. 2003. The involvement of ATP sulfurylase in Se(VI) and Cr(VI) reduction processes in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63, 1: 89-95

- Reithmeier H., Lazarev V., Kubo F., Rühm W., Nolte E. 2005. ^{129}I in precipitation using a new TOF system for AMS measurement. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 239, 3: 273-280
- Santschi P.H., Schwehr K.A. 2004. $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ as a new environmental tracer or geochronometer for biogeochemical or hydrodynamic processes in the hydrosphere and geosphere: the central role of organo-iodine. *Science of the Total Environment*, 321, 1-3: 257-271
- Schmidt A. 1998. ^{129}I und stabiles Iod in Umweltproben – Qualitätskontrolle von Analysenmethoden und Untersuchungen zur Radioökologie und zur retrospektiven Dosimetrie. Dissertation. Hannover, Universität Hanover: 232 str.
<http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=954459563> (maj 2006): 232 str.
- Schmidt A., Schnabel Ch., Handl J., Jakob D., Michel R., Synal H.A., Lopez J.M., Suter M. 1998. On the analysis of iodine-129 and iodine-127 in environmental materials by accelerator mass spectrometry and ion chromatography. *Science of the Total Environment*, 223, 2-3: 131-156
- Schmitz K., Aumann D.C. 1995. A study on the association of two iodine isotopes, of natural ^{127}I and of the fission product ^{129}I , with soil components using a sequential extraction procedure. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry-Articles*, 198, 1: 229-236
- Sheppard M.I., Hawkins J.L. 1995. Iodine and microbial interactions in an organic soil. *Journal of Environmental Radioactivity*, 29, 2: 91-109
- Sigma Aldrich. 2000. Yeast nitrogen base without amino acids. V: Products for life science research. Berlin, Sigma-Aldrich: 236-236.
- Simpson K., Parry S.J., Fulker M.J. 2001. Determination of the loss of ^{129}I from milk during storage using neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 249, 1: 89-94
- Smyth P.P.A., Dwyer R.M. 2002. The sodium iodide symporter and thyroid disease. *Clinical Endocrinology*, 56, 4: 427-429
- Soudek P., Valenová Š., Vavříková Z., Vaněk T. 2006. ^{137}Cs and ^{90}Sr uptake by sunflower cultivated under hydroponic conditions. *Journal of Environmental Radioactivity*, 88, 3: 236-250
- Stibilj V. 1994. Raziskave določanja selena in joda v bioloških vzorcih z radiokemično nevtronsko aktivacijsko analizo. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za naravoslovje in tehnologijo, Oddelek za kemijo in kemijsko tehnologijo: 133 str.

- Strachnov V., LaRosa J., Dekner R., Zeisler R., Fajgelj A. 1996. Determination of radionuclides in soil sample IAEA 375. V: Report on the intercomparison run IAEA-375. Vienna, International Atomic Energy Agency: 103 str.
- Studier M.H., Postmus C., Mech J., Walters R.R., Sloth E.N. 1962. The use of ^{129}I as an isotopic tracer and its determination along with normal ^{127}I by neutron activation analysis – the isolation of iodine from a variety of materials. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, 24, 7: 755-761
- Szanto Zs., Szucs Z., Svingor E., Molnar M., Palcsu L., Futo I., Vajda N., Molnar Zs., Kabai E. 2001. Determination of ^{129}I in low level radioactive waste by two different methods. V: Proceedings of the International Conference Nuclear Energy in Central Europe 2001, Portorž, 10-13 sept. 2001. Ljubljana, Institut Jožef Stefan, Društvo jedrskih strokovnjakov Slovenije: 802.1-802.6
<http://www.drustvo-js.si/proc/port2001/pdf/802.pdf> (29.05.2005): 6 str.
- Szidat S. 2000. Iod-129: Probenvorbereitung, Qualitätssicherung und Analyse von Umweltmaterialien. Dissertation. Hannover, Universität Hanover: 219 str.
<http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=960643281> (02.03.2006): 219 str.
- Szidat S., Schmidt A., Handl J., Jakob D., Botsch W., Michel R., Synal H.A., Schnabel C., Suter M., López-Gutiérrez J.M., Städe W. 2000a. Iodine-129: Sample preparation, quality control and analyses of pre-nuclear materials and of natural waters from Lower Saxony, Germany. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 172, 1-4: 699-710
- Szidat S., Schmidt A., Handl J., Jakob D., Michel R., Synal H.A., Suter M. 2000b. Analysis of iodine-129 in environmental materials: Quality assurance and applications. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 244, 1: 45-50
- Tsunogai S., Sase T. 1969. Formation of iodide-iodine in the ocean. *Deep-sea Research*, 16: 489-496
- Uradni list Republike Slovenije. 2004. Uredba o sevalnih dejavnostih. Uradni list RS 48/2004 z dne 30.04.2004, stran 6342
<http://www.uradni-list.si/1/ulonline.jsp?urlid=200448&dhid=69512> (02.12.2005): 16 str.
- Wong G.T.F., Piumsomboon A.U., Dunstan W.M. 2002. The transformation of iodate to iodide in marine phytoplankton cultures. *Marine Ecology Progress Series*, 237: 27-39
- Zorzi P., Barbizzi S., Belli M., Ciceri G., Fajgelj A., Moore D., Sansone U., Perk M. 2005. Terminology in soil sampling. *Applied Chemistry*, 77, 5: 827-841