



<https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en>

Journal of Microbial Biology

E-ISSN: 2322-5173

12th Year, Vol. 12, No. 47, Autumn 2023 pp. 1-15

Received: 29-07-2022

Accepted: 19-12-2022

(Research Paper)

Optimization of Uranium Biosorption by Pretreated *Citrobacter* Biomass

Zahra Shiri-Yekta* 

Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran, zshiri@aeoi.org.ir

Parisa Tajer-Mohammad-Ghazvini

Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran, ptajer@aeoi.org.ir

Shaghayegh Nasr

Microorganisms Bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC), ACECR, Tehran, Iran, shaghayegh2963@yahoo.com

Narges Eslami

Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Basic Sciences and Advanced Technologies in Biology, University of Science and Culture, Tehran, Iran, nargeseslami.bt@gmail.com

Mansoureh Hosseini

Department of Microbiology, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran, Iran, hosseini@alzahra.ac.ir

Abstract

Introduction: Toxic heavy metal contamination of industrial water is a significant universal problem. They accumulate in living tissues throughout the food chain which has humans at its top. These toxic metals can cause accumulative poisoning, cancer, and brain damage. Uranium is one of the most serious heavy metals because of its high toxicity and radioactivity. Excessive amounts of uranium have found their way into the environment through the activities associated with the nuclear industry (1). Conventional methods for removing uranium from wastewater include precipitation, evaporation, ion exchange, membrane processing, and adsorption. Nevertheless, these methods have several disadvantages, such as high installation and operating costs, the requirement of preliminary treatment steps, the difficulty of treating the subsequently generated solid waste, and low efficiency at low metal concentration (2,3). Owing to an increase in environmental awareness, there has been an emphasis on the development of new environmentally friendly ways to decontaminate waters using low-cost methods and materials. In

*Corresponding Author

2322-5181/ © 2023 The Authors

This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)



Shiri-Yekta, Z., Tajer-Mohammad-Ghazvini, P., Nasr, S., Eslami, N., Hosseini, M. Optimization of uranium biosorption by pretreated citrobacter biomass. *Journal of Microbial Biology* 2023; 12(47): 1-15. <http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2023.136574.1520>

this study, microbial biomass has emerged as a complementary, economic, and eco-friendly device for controlling the mobility and bioavailability of metal ions (2,4). The present work evaluates the performance of the *Citrobacter freundii* biomass to remove uranium ions from aqueous solutions. The effect of pH, temperature, initial concentration, and sorbent dose on biosorption capacity is also studied.

Materials and Methods: Materials: *Citrobacter freundii* bacteria used in this research with PTCC No. 1772 was purchased from the Scientific and Industrial Research Organization of Iran. Uranyl nitrate salt ($\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) was obtained from the Research Institute of Nuclear Sciences and Technologies. Nutrient Broth culture medium, sulfuric acid, and sodium hydroxide and other materials used in this research were supplied from the Merck Company.

Preparation of uranium solutions and biomass: A stock solution containing 1000 mg L^{-1} of U(VI) was prepared of $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. The working solutions were prepared daily from stock solutions. In this study, the biomass of *Citrobacter freundii* bacteria was heat treated in an autoclave at a temperature of 121°C for 15 minutes at a pressure of 1.5 atmospheres.

Experimental design and batch biosorption studies: The design of the experiment was done using the response surface method by Design Expert software. Four variables, including initial uranium concentration (mg/l), temperature ($^\circ\text{C}$), pH, and biosorbent dose (g/l), in five levels $-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$, 1 were used to design the experiment (Table 1). Therefore, 27 experiments were presented using a central composite design. The values of the variables and the obtained answers are shown in Table 2. Uranium biosorption experiments were performed by adding specified amounts of bacterial biomass in 20 ml Erlenmeyer flasks containing uranium solution with the concentration and pH corresponding to each experiment, with the specified temperature in the Shaker. After 90 minutes, each sample was centrifuged at 4500 rpm for 15 minutes at 4°C . Then, the remaining uranium in the solution was measured by ICP (Perkin Elmer/Optima 7300DV). The percentage of uranium removal (R) was calculated by equation 1:

$$R(\%) = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} * 100 \quad (1)$$

Where C_0 and C_f are the initial and the final concentrations of the metal ion solutions (mg/l), respectively.

Table 1- Variables and Levels of the Central Composite Design Method

Variable	Symbol	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Initial concentration (mg/l)	A	10	32.5	55	77.5	100
pH	B	2	2.75	3.5	4.25	5
Temperature ($^\circ\text{C}$)	C	25	36.25	32.5	28.75	40
biosorbent dose(g/l)	D	5	10	15	20	25

Results: By using the RSM-CCD method, the optimization of the biosorption process was carried out. Table 2 shows the experimental results based on each point of the experimental design. Then, using analysis of variance (ANOVA), the obtained results were evaluated.

The equation obtained for the biosorption efficiency of uranium by *Citrobacter freundii* is expressed as follows:

$$\text{Removal} = +68.97045 - 1.43160 * C (\text{ppm}) + 12.81296 * \text{pH} + 1.08935 * T (^\circ\text{C}) + 2.89856 * M (\text{g/l}) + 0.55737 * C (\text{ppm}) * \text{pH} + 0.011459 * C (\text{ppm}) * T (^\circ\text{C}) + 0.014961 * C (\text{ppm}) * M (\text{g/l}) - 0.32111 * \text{pH} * T (^\circ\text{C}) - 0.62783 * \text{pH} * M (\text{g/l}) - 0.037633 * T (^\circ\text{C}) * M (\text{g/l}) - 6.93488\text{E-}003 * C (\text{ppm})^2 - 4.06361 * \text{pH}^2$$

Table 2- Values of Variables and Experimental Responses in the Response Surface Method

Test	Initial concentration (mg/l)	pH	Temperature (°C)	biosorbent dose (g/l)	Removal (%)
1	55	3.5	32.5	5	84.37
2	100	3.5	32.5	15	98.98
3	55	3.5	32.5	25	98.68
4	32.5	2.75	36.25	20	98.73
5	77.5	2.75	28.75	10	84.95
6	77.5	2.75	36.25	20	99.27
7	55	3.5	32.5	15	99.17
8	32.5	4.25	36.25	10	66.05
9	32.5	4.25	28.75	10	69.41
10	32.5	4.25	28.75	20	61.19
11	32.5	2.75	28.75	20	99.47
12	55	3.5	40	15	96.09
13	10	3.5	32.5	15	66.76
14	77.5	2.75	36.25	10	95.91
15	77.5	4.25	36.25	20	98.42
16	55	3.5	25	15	97.78
17	55	5	32.5	15	96.01
18	32.5	4.25	36.25	20	60.1
19	77.5	2.75	28.75	20	99.72
20	32.5	2.75	28.75	10	96.60
21	77.5	4.25	36.25	10	99.31
22	55	2	32.5	15	79.53
23	32.5	2.75	36.25	10	97.15
24	55	3.5	32.5	15	99.07
25	77.5	4.25	28.75	10	98.72
26	55	3.5	32.5	15	98.96
27	77.5	4.25	28.75	20	98.69

Discussion and Conclusion: The F-value and p-value of the proposed model are equal to 5.03 and 0.0027, respectively, reflecting the accuracy of the proposed model. This model with R^2 equal to 0.81 shows that the proposed model can well predict the experimental values. The results showed that the factor of initial uranium concentration and pH statistically affect (p-value < 0.05) the uranium biosorption process. In contrast, temperature and sorbent dose factor (p-value > 0.05) have no statistically effect on uranium removal by *Citrobacter freundii*. With increasing uranium concentration from 10 mg/l to 77.5 mg/l, the removal increases from %66.5 to %99/92. Then, with increasing uranium concentration from 77.5 mg/l to 100 mg/l, the removal decreases to %97.34. On the other hand, one of the most important effective parameters in biosorption is the pH of the solution. With increasing the pH from 2 to 5, the removal decreased from %96.82 to %79.01 due to the formation of uranyl complexes (5). In this research, the results indicated that the pre-treated biomass under the conditions suggested by Design Expert software (19.84 g/l of biomass, temperature 28.92 °C, pH 2.89 and initial uranium concentration 53.71 mg/l) is able to remove approximately 99.99 percent of uranium from the contaminated area, which shows valuable potential *Citrobacter freundii* in bioremediation applications of uranium from contaminated wastewaters.

Keywords: Biosorbent, Heat Pretreatment, *Citrobacter Freundii*, Uranium, Optimization, Design Exper

بهینه سازی جذب زیستی اورانیوم توسط زیست توده پیش تیمار شده سیتروباکتر

زهرا شیری یکتا*: ID
پریسا تاجر محمدقزوینی:
شقایق نصر:
نرگس اسلامی:
منصوره السادات حسینی:

استادیار پژوهشکده چرخه سوخت هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران، zshiri@aeoi.org.ir
دانشیار پژوهشکده چرخه سوخت هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران، ptajer@aeoi.org.ir
استادیار بانک میکروارگانیسم ها، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران، shaghayegh2963@yahoo.com
کارشناس ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فناوری های نوین زیستی، دانشگاه علم و فرهنگ، تهران،
nargeseslami.bt@gmail.com
ایران،
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران، hosseini@alzahra.ac.ir

چکیده

مقدمه: آلودگی فلزات سنگین به یکی از نگرانی های جهانی تبدیل شده است. انتشار گسترده آنها در محیط زیست، مشکلات بسیاری را برای انسان ها ایجاد کرده است؛ بنابراین، یافتن جاذب های جدید برای حذف این آلاینده ها از محیط زیست اهمیت به سزایی دارد.

مواد و روش ها: در این پژوهش زیست توده باکتری سیتروباکتر فروئیدی به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱/۵ اتمسفر، در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد در اتوکلاو تیمار حرارتی شد. پس از آن، پارامترهای دما، pH ، غلظت اولیه اورانیوم و مقدار جاذب، با استفاده از روش سطح پاسخ در نرم افزار دیزاین اکسپرت بهینه شدند.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان دادند پارامترهای دما و مقدار جاذب بر فرایند جذب زیستی اورانیوم توسط باکتری سیتروباکتر فروئیدی تیمار شده بدون تأثیر هستند ($p\text{-value} > 0.05$). در مقابل، غلظت اولیه اورانیوم و pH بر فرایند جذب زیستی اورانیوم تأثیر گذار هستند ($p\text{-value} < 0.05$). با افزایش غلظت اولیه اورانیوم از ۱۰ میلی گرم بر لیتر تا ۷۷/۵ میلی گرم بر لیتر میزان حذف از ۶۶/۵ درصد به ۹۹/۹۲ درصد افزایش می یابد. سپس با افزایش غلظت اولیه اورانیوم از ۷۷/۵ میلی گرم بر لیتر تا ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر میزان حذف به ۹۷/۳۴ درصد کاهش می یابد. همچنین نتایج نشان دادند با افزایش pH از ۲ تا ۵ میزان حذف از ۹۶/۸۲ درصد به ۷۹/۰۱ درصد کاهش یافته است.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان دادند مدل پیشنهاد شده توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت به خوبی رفتار فرایند را پیش بینی کرده است و جذب زیستی در pH ۲/۸۹، غلظت اولیه اورانیوم ۵۳/۷۱ میلی گرم بر لیتر، دمای ۲۸/۹۲ درجه سانتی گراد و مقدار جاذب ۱۹/۸۴ گرم بر لیتر بهینه می شود که برابر با حذف تقریباً ۹۹/۹۹ درصد اورانیوم از محیط آلوده است.

واژه های کلیدی: جاذب زیستی، پیش تیمار حرارتی، سیتروباکتر فروئیدی، اورانیوم، بهینه سازی، دیزاین اکسپرت

* نویسنده مسئول مکاتبات



مقدمه

آلودگی ناشی از فلزات سنگین و رادیواکتیو یک مشکل جهانی است که با گسترش صنایع و تخلیه پساب‌های آنها، شاهد گسترش کنترل‌نشده این آلودگی‌ها هستیم. فلزات سنگین در بافت‌های موجودات زنده انباشت پیدا می‌کنند و در نهایت از طریق زنجیر غذایی به انسان می‌رسند که در رأس هرم غذایی قرار دارد و سبب مسمومیت، سرطان و حتی آسیب مغزی می‌شوند. اورانیوم یکی از فلزات سنگینی است که به دلیل سمیت بالا و قدرت رادیواکتیو، انتشار آن به محیط زیست با مخاطرات جدی همراه است. انتشار این فلز خطرناک به محیط زیست با گسترش معدن کاری و فعالیت‌های هسته‌ای افزایش یافته است و محققان و دانشگران مختلف به دنبال یافتن راه‌هایی برای بازیابی اورانیوم منتشرشده با استفاده از روش‌های مؤثر و به‌صرفه هستند (۱-۵).

روش‌های مرسوم برای حذف اورانیوم و دیگر فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی مانند رسوب، جداسازی لجن، اکسیداسیون شیمیایی و احیا، تعویض یونی، اسمز معکوس، تکنولوژی‌های غشایی، اغلب علاوه بر هزینه‌های بالا برای سرمایه‌گذاری، در غلظت‌های پایین فلزات کارایی خوبی ندارد؛ بنابراین، دانشگران محیط زیست به دنبال روش‌هایی مقرون‌به‌صرفه، محیط‌دوستانه و آسان برای حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی هستند (۱، ۶-۹). امروزه ثابت شده است زیست‌پالایی پتانسیل خوبی در این زمینه دارد. مطالعات مختلف نشان داده است فرایند جذب‌زیستی نسبت به سایر روش‌های زیست‌پالایی کاربردی‌تر است، در زمان کوتاه‌تری انجام می‌شود و افزایش مقیاس فرایند با هزینه‌های کمتری انجام خواهد شد. علاوه بر این، در فرایند جذب‌زیستی می‌توان از سلول‌های غیرزنده استفاده کرد که نیاز به ماده

غذایی و افزایش میزان اکسیژن زیستی^۱ و مقدار اکسیژن شیمیایی^۲ در پساب را ندارند و مدل‌سازی ریاضی آنها نیز آسان‌تر است (۱، ۱۰).

جلبک‌های دریایی، باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها، پسماندهای صنایع غذایی و صنعتی از جمله جاذب‌های طبیعی هستند که برای حذف اورانیوم از محلول‌های آبی استفاده شده‌اند. این جاذب‌ها، با برهمکنش میان فلزات و گروه‌های عملکردی پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها باعث حذف و برداشت فلزات از محیط می‌شوند که در نهایت فلزات حذف‌شده توسط تیمار با محلول‌های مختلف جاذب می‌توانند بازیابی و تغلیظ شوند (۴، ۱۱-۱۳). تحقیقات نشان داده‌اند ظرفیت حذف فلزات می‌تواند با پیش‌تیمار زیست‌توده یا جاذب‌های زیستی افزایش یابد. پیش‌تیمارهای فیزیکی (مانند تیمار حرارتی، استفاده از حرارت مرطوب و جوشاندن) و شیمیایی (تیمار با اسید، قلیا و مواد شیمیایی آلی) متعددی می‌توانند برای این هدف استفاده شوند. موفقیت این پیش‌تیمارها به نوع زیست‌توده بستگی زیادی دارد؛ برای مثال، در برخی مقالات گزارش شده است تیمار اسیدی و قلیایی باعث افزایش ظرفیت جذب‌زیستی می‌شود؛ زیرا ناخالصی‌ها و یون‌های مسدودکننده در جایگاه‌های اتصال طایفه این تیمار به راحتی زدوده و حذف می‌شود (۸).

علاوه بر این، پارامترهای محیطی نیز با توجه به نوع جاذب و مشخصات آن می‌توانند بر عمل جذب تأثیر بگذارند. از میان این عوامل می‌توان به pH محلول، دماهای جذب، مقدار جاذب و مقدار اولیه ماده جذب‌شونده اشاره کرد؛ بنابراین، بهینه‌سازی پارامترهای محیطی می‌تواند در افزایش میزان ظرفیت جذب‌زیستی تأثیر به‌سزایی داشته باشد. هدف از این پژوهش بهینه‌سازی پارامترهای محیطی مؤثر بر جذب‌زیستی اورانیوم توسط

Multitron) قرار گرفت. سپس به میزان ۱۰ درصد با غلظت نیم مک فارلند از محیط کشت حاصل در محیط کشت نوترینت براث جدید، با همان شرایط تلقیح شد و همزنی صورت گرفت. سپس زیست‌توده به‌دست آمده با ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه با سانتریفیوژ برداشته و با آب دیونیزه، سه مرتبه شستشو داده شد.

تیمار حرارتی زیست‌توده با اتوکلاو: زیست‌توده به‌دست آمده درون فالكون ریخته شد و درون اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با فشار ۱/۵ اتمسفر قرار گرفت. برای استفاده در آزمایش‌های بعدی وزن خشک زیست‌توده به‌دست آمده نیز محاسبه شد.

بهینه‌سازی فرایند جذب اورانیوم با استفاده از طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ: در این پژوهش از روش سطح پاسخ^۴ برای بررسی تأثیر پارامترهای مؤثر بر فرایند جذب‌زیستی اورانیوم توسط باکتری سیتروباکتری فروئیدی و بهینه‌سازی آن استفاده شده است. طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ با نرم‌افزار دیزاین اکسپرت^۵ صورت گرفت. چهار عامل شامل غلظت اورانیوم (A) در محدوده ۱۰-۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، pH (B) در محدوده ۲-۵، دما (C) در محدوده ۲۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد و مقدار جاذب (D) در محدوده ۵-۲۵ گرم بر لیتر، در پنج سطح $-\alpha$ ، -1 ، 0 ، $+1$ ، $+\alpha$ ، برای طراحی آزمایش استفاده شدند (جدول ۱).

زیست‌توده باکتری گرم منفی سیتروباکتری فروئیدی^۳ است که با استفاده از اتوکلاو تیمار حرارتی شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه سویه، محیط کشت و مواد استفاده‌شده: تمامی مواد استفاده‌شده در این پژوهش شامل محیط کشت نوترینت براث، اسید سولفوریک، سدیم هیدروکسید از شرکت مرک است. نمک $UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ از پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای تهیه شده است. باکتری سیتروباکتری فروئیدی با PTCC No. 1772 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و در این پژوهش استفاده شده است.

تهیه محلول ذخیره اورانیوم: در ابتدا محلول ذخیره با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از نمک $UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ با استفاده از آب دیونیزه تهیه شد. محلول‌های مورد نیاز هر مرحله با رقیق کردن این محلول تهیه شدند. مقدار pH محلول‌های حاوی اورانیوم با استفاده از اسید سولفوریک و سدیم هیدروکسید ۱ نرمال تنظیم شد. پس از تهیه هر محلول، غلظت نهایی با استفاده از دستگاه ICP (ساخت شرکت Perkin Elmer مدل Optima 7300DV) اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی زیست‌توده: به‌منظور تهیه پیش‌کشت، باکتری سیتروباکتری فروئیدی در محیط نوترینت براث (pH نهایی 7 ± 0.2) تلقیح شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با ۱۵۰ دور بر دقیقه (گرمخانه شیکردار به مدل HTiNFORS، ساخت شرکت

جدول ۱- متغیرها و سطوح روش طراحی مرکب مرکزی

سطح‌ها					نماد	متغیر
$+\alpha$	$+1$	0	-1	$-\alpha$		
۱۰۰	۷۷/۵	۵۵	۳۲/۵	۱۰	A	غلظت اولیه اورانیوم (mg/l)
۵	۴/۲۵	۳/۵	۲/۷۵	۲	B	pH
۴۰	۲۸/۷۵	۳۲/۵	۳۶/۲۵	۲۵	C	دما ($^{\circ}C$)
۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵	D	مقدار جاذب (g/l)

$$R(\%) = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} * 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

C_0 (mg/l) غلظت اولیه فلز در محلول، C_f (mg/l) غلظت نهایی فلز پس از جذب توسط جاذب‌ها در محلول است.

نتایج

ارزیابی پارامترهای مؤثر در جذب‌زیستی اورانیوم: با استفاده از روش سطح پاسخ مبتنی بر طراحی مرکب مرکزی (RSM-CCD)، بهینه‌سازی فرایند جذب‌زیستی انجام شد. جدول ۲ نتایج تجربی را براساس هر نقطه از طراحی آزمایش نشان می‌دهد. سپس نتایج به‌دست‌آمده برای ارزیابی برازش با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) ارزیابی شدند.

براساس این، یک سری شامل ۲۷ آزمایش با استفاده از طراحی مرکب مرکزی^۶ ارائه شد. در جدول ۲ مقدار متغیرها و پاسخ‌های به‌دست‌آمده نشان داده شده است. آزمایش‌های طراحی‌شده با افزودن مقدار زیست‌توده باکتری مشخص‌شده برای هر آزمایش، درون ارلن‌های ۲۰ میلی‌لیتری حاوی محلول اورانیوم با غلظت و pH مربوط و قراردادن نمونه در دمای مشخص‌شده انجام گرفتند. پس از مدت زمان ۹۰ دقیقه، هر نمونه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با ۴۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و میزان اورانیوم باقی‌مانده در محلول که زیست‌توده موفق به جذب آن نشده است، با استفاده از روش ICP-OES سنجیده شد؛ در نهایت، با استفاده از رابطه زیر میزان درصد حذف یا برداشت اورانیوم (R) محاسبه شده است.

جدول ۲- مقادیر متغیرها و پاسخ‌های آزمایشگاهی طراحی مرکب مرکزی در روش سطح پاسخ

آزمایش	غلظت اولیه اورانیوم (mg/l)	pH	دما (°C)	مقدار جاذب (g/l)	حذف (%)
۱	۵۵	۳/۵	۳۲/۵	۵	۸۴/۳۷
۲	۱۰۰	۳/۵	۳۲/۵	۱۵	۹۸/۹۸
۳	۵۵	۳/۵	۳۲/۵	۲۵	۹۸/۶۸
۴	۳۲/۵	۲/۷۵	۳۶/۲۵	۲۰	۹۸/۷۳
۵	۷۷/۵	۲/۷۵	۲۸/۷۵	۱۰	۸۴/۹۵
۶	۷۷/۵	۲/۷۵	۳۶/۲۵	۲۰	۹۹/۲۷
۷	۵۵	۳/۵	۳۲/۵	۱۵	۹۹/۱۷
۸	۳۲/۵	۴/۲۵	۳۶/۲۵	۱۰	۶۶/۰۵
۹	۳۲/۵	۴/۲۵	۲۸/۷۵	۱۰	۶۹/۴۱
۱۰	۳۲/۵	۴/۲۵	۲۸/۷۵	۲۰	۶۱/۱۹
۱۱	۳۲/۵	۲/۷۵	۲۸/۷۵	۲۰	۹۹/۴۷
۱۲	۵۵	۳/۵	۴۰	۱۵	۹۶/۰۹
۱۳	۱۰	۳/۵	۳۲/۵	۱۵	۶۶/۷۶
۱۴	۷۷/۵	۲/۷۵	۳۶/۲۵	۱۰	۹۵/۹۱
۱۵	۷۷/۵	۴/۲۵	۳۶/۲۵	۲۰	۹۸/۴۲
۱۶	۵۵	۳/۵	۲۵	۱۵	۹۷/۷۸
۱۷	۵۵	۵	۳۲/۵	۱۵	۹۶/۰۱

۶۰/۱	۲۰	۳۶/۲۵	۴/۲۵	۳۲/۵	۱۸
۹۹/۷۲	۲۰	۲۸/۷۵	۲/۷۵	۷۷/۵	۱۹
۹۶/۶	۱۰	۲۸/۷۵	۲/۷۵	۳۲/۵	۲۰
۹۹/۳۱	۱۰	۳۶/۲۵	۴/۲۵	۷۷/۵	۲۱
۷۹/۵۳	۱۵	۳۲/۵	۲	۵۵	۲۲
۹۷/۱۵	۱۰	۳۶/۲۵	۲/۷۵	۳۲/۵	۲۳
۹۹/۰۷	۱۵	۳۲/۵	۳/۵	۵۵	۲۴
۹۸/۷۲	۱۰	۲۸/۷۵	۴/۲۵	۷۷/۵	۲۵
۹۸/۹۶	۱۵	۳۲/۵	۳/۵	۵۵	۲۶
۹۸/۶۹	۲۰	۲۸/۷۵	۴/۲۵	۷۷/۵	۲۷

اولیه اورانیوم و pH از لحاظ آماری ($p\text{-value} < 0.05$) بر فرایند حذف اورانیوم تأثیر گذار هستند. نتایج نشان دادند با افزایش غلظت اورانیوم از ۱۰ میلی گرم بر لیتر تا ۷۷/۵ میلی گرم بر لیتر میزان حذف از ۶۶/۵ درصد به ۹۹/۹۲ درصد افزایش می‌یابد. سپس با افزایش غلظت اورانیوم از ۷۷/۵ میلی گرم بر لیتر تا ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر میزان حذف به ۹۷/۳۴ درصد کاهش می‌یابد. همچنین نتایج نشان دادند با افزایش pH از ۲ تا ۵ میزان حذف از ۹۶/۸۲ درصد به ۷۹/۰۱ درصد کاهش یافته است. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهند پارامترهای دما و مقدار جاذب از لحاظ آماری ($p\text{-value} > 0.05$) بر فرایند حذف اورانیوم توسط باکتری سیتروباکتر فرونیدی بدون تأثیر هستند (جدول ۳).

سطح‌های سه‌بعدی پاسخ‌ها که ناشی از برهمکنش چهار متغیر غلظت اورانیوم، دما، pH و مقدار جاذب هستند، در اشکال ۱ تا ۶ نشان داده شده‌اند.

برازش مدل: مدل پیشنهاد شده توسط نرم افزار

به صورت زیر تعریف شده است:

$$\text{Removal} = +68.97045 - 1.43160 * C (\text{ppm}) + 12.81296 * \text{pH} + 1.08935 * T (^\circ\text{C}) + 2.89856 * M (\text{g/l}) + 0.55737 * C (\text{ppm}) * \text{pH} + 0.011459 * C (\text{ppm}) * T (^\circ\text{C}) + 0.014961 * C (\text{ppm}) * M (\text{g/l}) - 0.32111 * \text{pH} * T (^\circ\text{C}) - 0.62783 * \text{pH} * M (\text{g/l}) - 0.037633 * T (^\circ\text{C}) * M (\text{g/l}) - 6.93488E-003 * C (\text{ppm})^2 - 4.06361 * \text{pH}^2$$

به طور کلی، مقدار P کمتر از ۰/۰۵ و مقدار F بزرگ

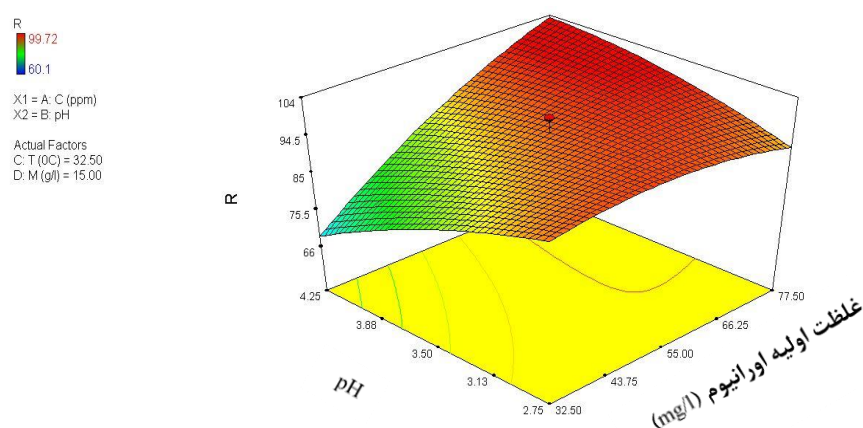
در جدول تحلیل واریانس نشان‌دهنده تأثیر بیشتر متغیرها با سطح اطمینان ۹۵ درصد است. مقادیر P و F مدل پیشنهادی برای بازده حذف به ترتیب برابر با ۰/۰۰۲۷ و ۵/۰۳ هستند که دلالت بر صحت مدل پیشنهادی دارند و همچنین، مقدار R^2 برابر با ۰/۸۱ است؛ این مقادیر نشان می‌دهند مدل پیشنهادی به خوبی قادر است مقادیر تجربی را پیش‌بینی کند.

در جدول ۳ تحلیل واریانس مدل، پارامترهای اصلی و برهمکنش پارامترهای میزان حذف اورانیوم نشان داده شده‌اند. نتایج جدول ۳ نشان می‌دهند پارامترهای غلظت

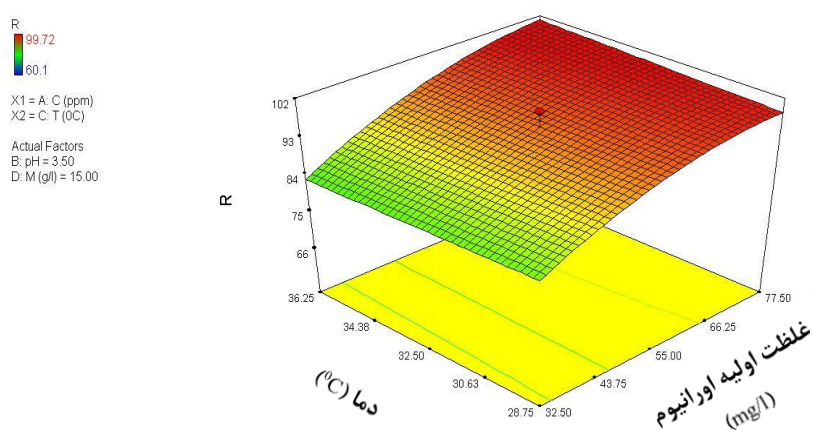
جدول ۳- تحلیل واریانس مدل پیشنهادی برای میزان حذف اورانیوم (R)

مرجع	Sum of squares	df	Mean square	F value	p-value
Model	۳۸۵۳/۲۷۳	۱۲	۳۲۱/۱۰۶۱	۵/۰۳۰۹۹۲	۰/۰۰۲۷
A-C (ppm)	۱۵۱۵/۷۴۷	۱	۱۵۱۵/۷۴۷	۲۳/۷۴۸۲۶	۰/۰۰۰۲

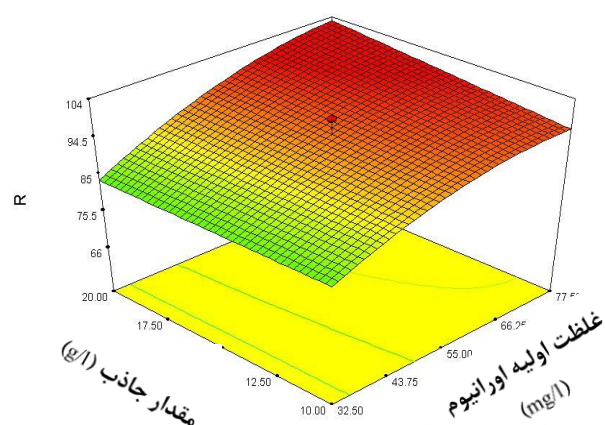
B-pH	۳۱۵/۰۱۲۶	۱	۳۱۵/۰۱۲۶	۴/۹۳۵۵۲۱	۰/۰۴۳۳
C-T (°C)	۰/۳۲۹۰۰۴	۱	۰/۳۲۹۰۰۴	۰/۰۰۵۱۵۵	۰/۹۴۳۸
D-M (g/l)	۵۴/۳۳۰۵	۱	۵۴/۳۳۰۵	۰/۸۵۱۲۳۴	۰/۳۷۱۸
AB	۱۴۱۵/۴۵۳	۱	۱۴۱۵/۴۵۳	۲۲/۱۷۶۸۸	۰/۰۰۰۳
AC	۱۴/۹۵۷۵۶	۱	۱۴/۹۵۷۵۶	۰/۲۳۴۳۵	۰/۶۳۵۸
AD	۴۵/۳۲۶۵۶	۱	۴۵/۳۲۶۵۶	۰/۷۱۰۱۶۳	۰/۴۱۳۶
BC	۱۳/۰۵۰۱۶	۱	۱۳/۰۵۰۱۶	۰/۲۰۴۴۶۶	۰/۶۵۸۱
BD	۸۸/۶۸۹۳۱	۱	۸۸/۶۸۹۳۱	۱/۳۸۹۵۵۷	۰/۲۵۸۱
CD	۷/۹۶۶۵۰۶	۱	۷/۹۶۶۵۰۶	۰/۱۲۴۸۱۷	۰/۷۲۹۱
A^2	۳۱۵/۵۳۵	۱	۳۱۵/۵۳۵	۴/۹۴۳۷۰۵	۰/۰۴۳۲
B^2	۱۳۳/۷۵۴۸	۱	۱۳۳/۷۵۴۸	۲/۰۹۵۶۲۹	۰/۱۶۹۷



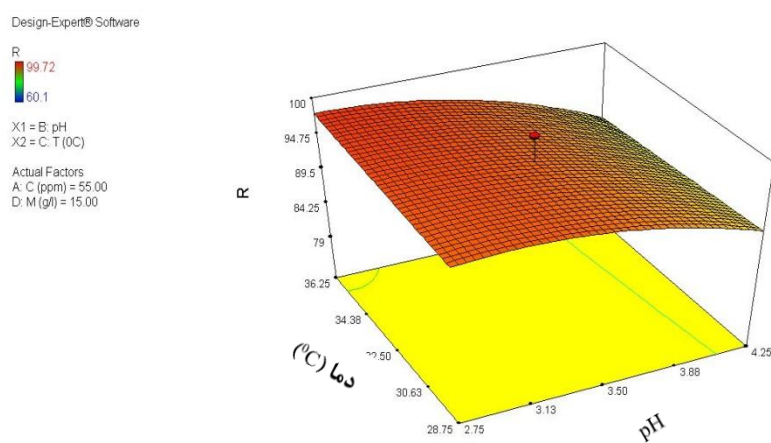
شکل ۱- سطح‌های سه‌بعدی مقدار جذب زیستی اورانیوم توسط سیتروباکتر فروندی. برهمکنش مقدار غلظت اولیه اورانیوم (mg/l) و pH بر میزان R



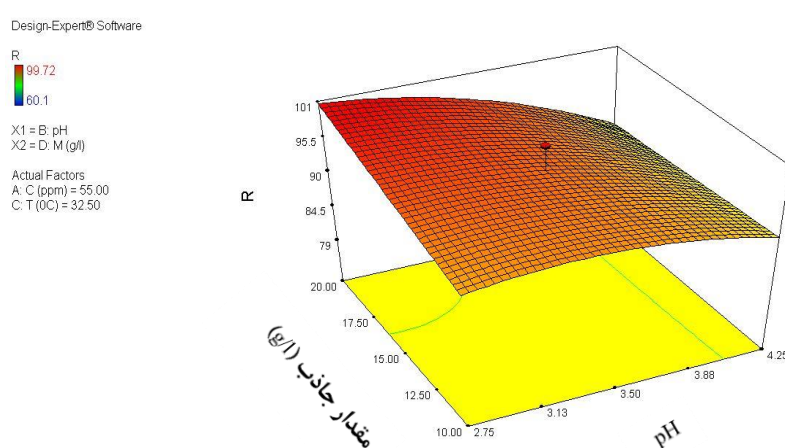
شکل ۲- سطح‌های سه‌بعدی مقدار جذب‌زیستی اورانیوم توسط سیتروباکتر فروندی. برهمکنش مقدار غلظت اولیه اورانیوم (mg/l) و دما (°C) بر میزان R



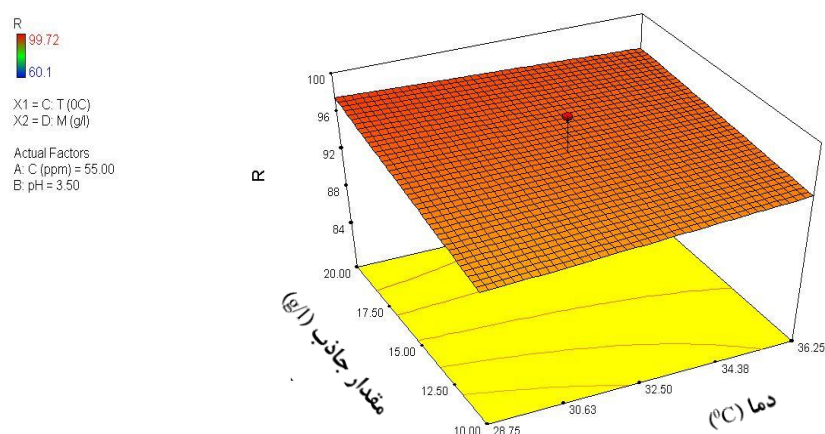
شکل ۳- سطح‌های سه‌بعدی مقدار جذب زیستی اورانیوم توسط سیتروباکتر فروئیدی. برهمکنش مقدار غلظت اولیه اورانیوم (mg/l) و مقدار جاذب زیستی (g/l) بر میزان R



شکل ۴- سطح‌های سه‌بعدی مقدار جذب زیستی اورانیوم توسط سیتروباکتر فروئیدی. برهمکنش دما (°C) و pH بر میزان R



شکل ۵- سطح‌های سه‌بعدی مقدار جذب زیستی اورانیوم توسط سیتروباکتر فروئیدی. برهمکنش مقدار pH و مقدار جاذب زیستی (g/l) بر میزان R



شکل ۶- سطح‌های سه‌بعدی مقدار جذب‌زیستی اورانیوم توسط سیتروباکتر فروندی. برهمکنش دما (°C) و مقدار جاذب‌زیستی (g/l) بر میزان R

بحث و نتیجه‌گیری

جذب‌زیستی یکی از امیدوارکننده‌ترین روندهای زیست‌پالایی است که به دلیل هزینه‌های پایین افزایش مقیاس و عدم تولید لجن ثانویه و کارایی در غلظت‌های پایین فلزات، توجه بسیاری از دانشگران را به خود جلب کرده است (۱۴،۳). بررسی‌ها نشان داده‌اند نقش اصلی در فرایند جذب‌زیستی توسط میکروارگانیسم‌ها مربوط به دیواره سلولی است که با اعمال پیش‌تیمارهای فیزیوشیمیایی مختلف امکان تغییر گروه‌های عاملی سطحی در دیواره وجود دارد که با توجه به نوع میکروارگانیسم می‌تواند سبب افزایش یا کاهش جذب‌زیستی شود (۱۵). گاد^۷ و همکارانش در سال ۲۰۱۰، زیست‌توده ساکارومایسس سرویزیه را با سدیم هیدروکسید ۰/۷۵ مولار در دمای ۷۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه حرارت دادند و ظرفیت جذب زیستی آن را قبل و بعد از تیمار در مورد فلزات مس، کادمیوم و آهن بررسی کردند. مشخص شد ظرفیت جذب مس (II)، کادمیوم (II) و آهن (III) که قبل از تیمار زیست‌توده به ترتیب ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر، ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر بود، بعد از تیمار

به ترتیب به ۳۶/۱۱ میلی‌گرم بر لیتر، ۱۸/۱۱ میلی‌گرم بر لیتر و ۳۳/۵۲ میلی‌گرم بر لیتر رسیده است (۱۶). در سال ۲۰۱۲ نیز داس^۸ و همکارانش، از محلول سدیم دو سولفات، برای تیمار زیست‌توده مخمر در غلظت‌های ۱ تا ۸ میلی‌مولار استفاده کردند. نتایج افزایش چشمگیری در حذف روی (II) را نشان دادند؛ به گونه‌ای که زیست‌توده تیمارشده با محلول ۳ میلی‌مولار تا ۸۴/۷ درصد موفق به حذف اورانیوم شد (۱۷). در سال ۲۰۱۹، کرمانشاهی و همکارانش پیش‌تیمار فیزیکی با استفاده از حرارت اتوکلاو را روی باکتری /سیدتیوباسیلوس فرواکسیدانس ZT-94^۹ انجام دادند و ظرفیت جذب‌زیستی را قبل و بعد از تیمار روی محلول اورانیوم در شرایط بهینه بررسی کردند. نتایج نشان دادند کارایی حذف سلول‌ها بعد از اتوکلاو اندکی کاهش یافته است و از ۸۰/۷۰ درصد به ۷۶/۸۴ درصد رسیده است. آنها علت این امر را با تغییرات جایگاه‌های اتصال سلولی و تخریب گروه‌های عاملی سطح سلولی در فشار و دمای اتوکلاو مرتبط دانسته‌اند (۱۸). در مطالعه دیگری که گالون^{۱۰} و همکاران در سال ۱۹۸۷ توسط تیمار با سدیم هیدروکسید روی زیست‌توده پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم^{۱۱}

انجام داده‌اند، مشخص شد حذف زیستی نیکل (II)، روی (II)، کادمیوم (II) بعد از تیمار افزایش می‌یابد. آنها علت این پدیده را به حذف ناخالصی‌های سطح سلول، شکستن غشای سلول و بیشتر شدن تعداد جایگاه‌های اتصال فلزات مربوط دانسته‌اند. مک‌گاهر^{۱۲} و همکاران نیز بیان کردند تیمار قلیایی زیست‌توده سبب فعال‌شدن آنزیم‌های اتوکاتالیتیک می‌شود که باعث عریض‌شدن زیست‌توده و حذف پروتئین‌ها و لیپیدهایی می‌شود که جایگاه‌های برهمکنش با فلزات را پوشانده‌اند و به این ترتیب، پیش تیمار سبب آزادی عمل گروه‌های عملکردی برای اتصال به یون‌های فلزی می‌شود (۱۹). علاوه بر تیمار اسیدی و قلیایی، مطالعات نشان داده است زیست‌توده جلبک *سیتوسریا اندیکا*^{۱۳} و شکل تیمار شده آن با کلسیم می‌تواند به عنوان جاذب زیستی مؤثری برای تیمار پساب‌های حاوی اورانیوم مطرح باشد (۱). در مطالعه حاضر نیز از زیست‌توده تیمار شده با اتوکلاو برای بهینه‌سازی جذب زیستی اورانیوم استفاده شد و با توجه به این امر که پارامترهای محیطی مانند میزان pH، غلظت اولیه اورانیوم، مقدار جاذب و دما و ... می‌توانند بر میزان حذف زیستی اورانیوم تأثیر بگذارند، بسیاری از دانشگران در پژوهش‌های خود این پارامترها را در عمل جذب بررسی کرده‌اند. نتایج نشان دادند پارامتر pH از لحاظ آماری ($p\text{-value} < 0.05$) بر فرایند حذف اورانیوم توسط باکتری *سیتروباکتر فروندی* تیمار شده تأثیر گذار است.

مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهد pH عامل مؤثری بر جذب زیستی فلزات است؛ برای مثال، صولت و همکارانش نیز طی بررسی جذب زیستی اورانیوم توسط زیست‌توده *اسپیریلیوس نایجر*^{۱۴} با بررسی بازه ۳ تا ۷ برای مقدار pH، گزارش کردند بهینه pH برای جذب اورانیوم

۵ است و با افزایش pH از ۳ تا ۵ میزان حذف اورانیوم افزایش یافته است و دلیل این امر را رقابت یون‌های هیدروژن برای برهمکنش با جایگاه‌های اتصال موجود در سطح جاذب دانسته‌اند (۱۰). خانی و همکارانش نیز با بررسی جذب زیستی اورانیوم توسط جلبک *سیتوسریا اندیکا* گزارش کردند بهینه جذب زیستی اورانیوم در ۴ pH است؛ به گونه‌ای که در این جلبک قبل و بعد از تیمار با یون‌های کلسیم، میزان ظرفیت جذب اورانیوم، از ۲ تا ۴ افزایش یافته است؛ اما با افزایش pH از ۴ تا ۸ با کاهش روبه‌رو شده است (۱). محققان رابطه بین pH و علت افزایش یا کاهش ظرفیت جذب اورانیوم را اینگونه تحلیل می‌کنند که در مقادیر پایین pH، غلظت بالای هیدروژن با یون‌های اورانیوم برای جایگاه‌های اتصال رقابت می‌کند و جذب اورانیوم (VI) کاهش می‌یابد. به‌طور متقابل، همزمان با افزایش مقدار pH، سطح جاذب با از دست دادن پروتون، بار منفی پیدا می‌کند و همزمان میزان جذب افزایش می‌یابد. همچنین در pH‌های بالاتر، کمپلکس‌های اورانیل مانند $(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_5^+$ ، $(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_2^{2+}$ و $\text{UO}_2(\text{OH})^+$ تشکیل می‌شوند که به کاهش جذب اورانیوم منجر می‌شوند (۱۲، ۲۰-۲۲).

در بررسی میزان جذب زیستی اورانیوم توسط زیست‌توده *سیتروباکتری فروندی* تیمار شده با اتوکلاو همچنین مشخص شد غلظت اولیه اورانیوم پارامتر مؤثر بعدی در عمل جذب زیستی توسط این جاذب است. در بسیاری از تحقیقات انجام‌شده نیز به خوبی نشان داده شده است درصد حذف و ظرفیت جذب تعادل، از غلظت‌های متفاوت اورانیوم تأثیر می‌گیرد؛ زیرا با توجه به در دسترس بودن جایگاه‌های جذب، باید میان جایگاه‌های جذب در دسترس و برداشت فلزات سنگین و رادیونوکلئیدها تناسب برقرار باشد (۲۳). با این حال،

پیشنهاد شده توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت (۱۹/۸۴) گرم بر لیتر زیست توده، دمای ۲۸/۹۲ درجه سانتی گراد و pH ۲/۸۹ قادر به حذف تقریباً ۹۹/۹۹ درصد اورانیوم از محیط آلوده به ۵۳/۷۱ میلی گرم بر لیتر اورانیوم است که نشان دهنده پتانسیل ارزشمند باکتری سیتروباکتر فروئیدی تیمار شده در کاربردهای زیست پالایی اورانیوم از پساب های آلوده است.

References

- (1) Hassan Khani M., Reza Keshtkar A., Meysami B., Firouz Zarea M., Jalali RJEJoB. Biosorption of uranium from aqueous solutions by nonliving biomass of marine algae *Cystoseira indica*. *Electronic Journal of Biotechnology* 2006; 9 (2): 100-106.
- (2) Lee K., Kim K, Baek Y., Chung D., Lee E., Lee S., et al. Biosorption of uranium (VI) from aqueous solution by biomass of brown algae *Laminaria japonica*. *Journal of Water Science & Technology* 2014; 70 (1): 136-43.
- (3) Javanbakht V., Alavi SA., Zilouei H. Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent. *Journal of Water Science Technology* 2014; 69 (9): 1775- 1787.
- (4) Farhan SN., Khadom AA. Biosorption of heavy metals from aqueous solutions by *Saccharomyces Cerevisiae*. *International Journal of Industrial Chemistry* 2015; 6 (2): 119-130.
- (5) Embaby MA., Haggag ESA., El-Sheikh AS., Marrez DA. Biosorption of Uranium from aqueous solution by green microalga *Chlorella sorokiniana*. *Journal of Environmental Science and Pollution Research* 2022; 29 (38): 58388-58404.
- (6) Yi Z-j., Yao J. Kinetic and equilibrium study of uranium (VI) adsorption by *Bacillus licheniformis*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 2012; 293 (3): 907-914.

مشخص شد پارامترهای دما و غلظت اولیه جاذب از لحاظ آماری ($p\text{-value} > 0/05$) بر جذب زیستی اورانیوم توسط زیست توده سیتروباکتر فروئیدی تأثیری ندارند. با توجه به اینکه ویژگی های جذب زیستی می توانند بین جنس های میکروبی و حتی سویه های جهش یافته یک سویه نیز متفاوت باشند، نتایج به دست آمده کاملاً با اختصاصی بودن شرایط جذب برای هر سویه همخوانی دارند (۲۱، ۲۴)؛ اما در برخی موارد و بررسی های انجام شده، دما و غلظت اولیه جاذب نیز بر ظرفیت و کارایی جذب مؤثرند. صولت و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند در جذب زیستی اورانیوم توسط زیست توده *آسپرژیلوس نایجر*، در غلظت ۰/۳ گرم وزن خشک زیست توده در ۱۰۰ میلی لیتر، بیشترین درصد حذف (۹۸/۴۳ درصد) دیده می شود؛ در حالی که با افزایش غلظت زیست توده به بیش از این مقدار، میزان برداشت اورانیوم تغییری نمی کند؛ این در حالی است که میزان ظرفیت جذب زیستی، با افزایش غلظت زیست توده کاهش یافته است (۱۰). گزارش های کمی از تأثیر دما بر جذب وجود دارند؛ اما به صورت کلی به نظر می رسد تأثیر دما بر جذب بیشتر محدود به بازه ۲۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد باشد. در برخی موارد گزارش شده است درجه حرارت های بالاتر نیز با افزایش سطح فعالیت و انرژی جنبشی محلول سبب افزایش جذب شده است؛ اما احتمال آسیب فیزیکی به جاذب زیستی در دماهای بالا بسیار بدیهی است (۲۰).

با توجه به نتایج بررسی باکتری سیتروباکتر فروئیدی تیمار شده در جذب زیستی یون اورانیوم، پارامترهای غلظت اولیه اورانیوم و pH در فرایند جذب تأثیر داشته اند. در نهایت، نتایج پیش بینی کردند باکتری سیتروباکتر فروئیدی تیمار شده در شرایط بهینه

- for uranium uptake from aqueous environment. *Chemosphere* 2023; 313.
- (10) Solat S., Roostaazad R., Yaghmaei S. Biosorption of uranium (VI) from aqueous solution by pretreated *Aspergillus niger* using sodium hydroxide. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 2015; 34 (1): 65-74.
 - (11) Li X., Ding C., Liao J., Lan T., Li F., Zhang D., et al. Biosorption of uranium on *Bacillus* sp. dwc-2: preliminary investigation on mechanism. *Journal of Environmental Radioactivity* 2014; 135: 6-12.
 - (12) Ayangbenro AS., Babalola OB. A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research And Public Health* 2017; 14 (1): 94.
 - (13) Deshmukh P., Sar SK., Smječanin N., Nuhanović M., Lalwani R. Magnetically Modified Waste Bark of Aegle marmelos Tree as a Promising Biosorbent for Uranium(VI) Sorption. *Radiochemistry* 2022; 64 (4): 532-542.
 - (14) Hadiani MR., Khosravi-Darani K., Rahimifard N. Optimization of As (III) and As (V) removal by *Saccharomyces cerevisiae* biomass for biosorption of critical levels in the food and water resources. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2019; 7 (2): 102949.
 - (15) Shroff KA., Vaidya VK. Effect of pre-treatments on biosorption of Ni (II) by dead biomass of *Mucor hiemalis*. *Journal of Engineering in Life Sciences* 2011; 11 (6): 588-97.
 - (16) Gad AS., Attia M., Ahmed HA. Heavy metals bio-remediation by immobilized *saccharomyces cervisiae* and *Opuntia ficus indica* waste. *Journal of American Science* 2010; 6 (8): 79-87.
 - (17) Das D., Basak G., Lakshmi V., Das N. Kinetics and equilibrium studies on removal of zinc (II) by untreated and anionic
 - (7) Liu H-L., Chen B-Y., Lan Y-W., Cheng Y-C. Biosorption of Zn (II) and Cu (II) by the indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. *Chemical Engineering Journal* 2004; 97 (2-3): 195-201.
 - (8) Zafar MN., Parveen A., Nadeem R. A pretreated green biosorbent based on Neem leaves biomass for the removal of lead from wastewater. *Journal of Desalination and Water Treatment* 2013; 51 (22-24): 4459-4466.
 - (9) Smječanin N., Nuhanović M., Sulejmanović J., Mašić E., Sher F. Highly effective sustainable membrane based cyanobacteria surfactant treated dead biomass of yeast: Batch and column mode. *Biochemical Engineering Journal* 2012; 64: 30-47.
 - (18) Kermanshahi RK., Bahrami-Bavani M., Tajer P. Microbial clean-up of uranium in the presence of molybdenum using pretreated *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 2019; 322 (2): 1139-1149.
 - (19) Ahalya N., Ramachandra T., Kanamadi RD. Biosorption of heavy metals. *Research Journal of Chemistry and Environment* 2003; 7 (4): 71-79.
 - (20) Vijayaraghavan K., Yun YS. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances* 2008; 26 (3): 266-291.
 - (21) Papirio S., Frunzo L., Mattei MR., Ferraro A., Race M., D'Acunto B., et al. Heavy metal removal from wastewaters by biosorption: mechanisms and modeling In: Rene E.R., Sahinkaya E., Lewis A., Lens P.N.L., editors. *Sustainable Heavy Metal Remediation: Principles and Processes*. 1st ed. Springer; 2017: 25-63.
 - (22) Tan L., Wang J., Liu Q., Sun Y., Jing X., Liu L., et al. The synthesis of a manganese dioxide-iron oxide-graphene magnetic nanocomposite for enhanced uranium (VI) removal. *New Journal of Chemistry* 2015; 39 (2): 868-876.
 - (23) Yi Z., Lian B. Adsorption of U (VI) by *Bacillus mucilaginosus*. *Journal of*

Radioanalytical and Nuclear Chemistry
2012; 293 (1): 321-329.

(24) Volesky B. Biosorbents for metal recovery. *Journal of Trends in Biotechnology* 1987; 5 (4): 96-101.

¹- Biological Oxygen Demand: BOD

²- Chemical Oxygen Demand: COD

³- *Citrobacter freundii*

⁴- Response surface methodology

⁵- Design Expert

⁶- Central Composite Design

⁷- Gad

⁸- Das

⁹- *Acidithiobacillus ferrooxidans* ZT-94

¹⁰- Galun

¹¹- *Penicillium digitatum*

¹²- McGahren

¹³- *Cystoseira indica*

¹⁴- *Aspergillus niger*