

کاهش و رسوب‌گذاری اورانیم با استفاده از باکتری بی‌هوازی شیوانلا اس پی GCWx8

ادیب ظاهری، علیرضا کشتکار*، فائزه فاطمی

پژوهشکده‌ی مواد و سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۸۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران - ایران

مقاله‌ی پژوهشی

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۵/۲

چکیده: کاهش و رسوب‌گذاری اورانیم با استفاده از باکتری‌های بی‌هوازی، یکی از راهکارهای مؤثری است که در دو دهه‌ی گذشته با هدف کاهش انتشار اورانیم در محیط، مورد توجه بسیاری از پژوهش‌گران قرار گرفته است. در این پژوهش، قابلیت یک باکتری بی‌هوازی اختیاری با نام شیوانلا اس پی GCWx8 در کاهش و حذف اورانیم از محلول‌های آبی مورد بررسی قرار گرفته است. برای این منظور، محلول اورانیل استات در حضور سدیم لاکتات به عنوان الکترون‌دهنده، با باکتری GCWx8 در شرایط بی‌هوازی در تماس قرار داده شد. نتیجه‌ی این واکنش، حذف اورانیم از محلول و تشکیل یک رسوب قهوه‌ای رنگ حاوی باکتری و اورانیم بود. تجزیه‌ی رسوب با استفاده از طیف دیدگانی - فرابنفش و دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات (شرکت اتولب هلند) نشان داد که بیش‌تر اورانیم موجود در رسوب به شکل کاهیده‌ی U(IV) است. بنابراین سازوکار حذف اورانیم از محلول توسط این باکتری در شرایط بی‌هوازی، سازوکار کاهش است. بهترین pH برای حذف اورانیم توسط GCWx8 برابر با ۶٫۸ و حداکثر درصد حذف اورانیم از محلول در چگالی سلولی 10^9 mL^{-1} برابر با ۹۰٪ به دست آمد. تغییرات غلظت اورانیم در محلول نسبت به زمان در روز اول با سینتیک واکنش درجه‌ی اول تطابق مناسبی داشت. بر همین مبنا، ثابت سرعت واکنش کاهش میکروبی اورانیم توسط سویه‌ی GCWx8 برابر با 0.06 h^{-1} محاسبه شد. در نتیجه، سویه‌ی شیوانلا اس پی GCWx8 به عنوان یک باکتری توانمند در کاهش میکروبی اورانیم تعیین شد.

کلیدواژه‌ها: کاهش، رسوب‌گذاری، اورانیم، باکتری بی‌هوازی شیوانلا اس پی GCWx8

Microbial reduction and precipitation of uranium using anaerobic bacteria *Shewanella* sp GCWx8

A. Zaheri, A.R. Keshtkar*, F. Fatemi

Materials and Nuclear Fuel Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOL, P.O.Box: 11365-8486, Tehran - Iran

Abstract: The microbial reduction and precipitation of uranium using anaerobic bacteria are one of the effective methods considered during the last two decades to prevent permeation of the uranium to the environment. In this study, the capability of a facultative anaerobic bacterium, *Shewanella* sp GCWx8, for reduction and removal of the uranium from the aqueous solutions are investigated. Thus, uranyl acetate is introduced into the bacteria anaerobically in the presence of the sodium lactate as an electron donor. This process resulted in the removal of the uranium from the solution and the formation of a precipitate containing uranium and cells. The analysis of the precipitate, using both Auto-lab and UV-vis spectra, confirmed that most of the uranium in the precipitate was in the form of reduced uranium, U(IV). Therefore, the mechanism of uranium removal by the strain GCWx8 in the aerobic condition is a reduction process. The best pH for a uranium removal by the GCWx8 was obtained 6.8, and the maximum removal percent at the cell density of 10^9 (cells per milliliter) has gained 90%. The first order of the reaction rate was satisfactory for bioreduction at the first day of the incubation. Based on the first order of the reaction rate assumption for the uranium bioreduction, the reaction rate constant was obtained 0.06 hr^{-1} . As a result, strain *Shewanella* sp GCWx8 was found as an able bacterium for the uranium bioreduction.

Keywords: Reduction, Precipitation, Uranium, Anaerobic bacteria *Shewanella* sp GCWx8

*Email: akeshkar@aeoi.org.ir

۱. مقدمه

کلوستریدیم^۶ در شرایط بی‌هوازی قادر به کاهش میکروبی اورانیم هستند [۱۴]. جنس باکتریایی گرم منفی و بی‌هوازی اختیاری شیوانلا از مهم‌ترین جنس‌های باکتریایی است که توانایی بالای آن در کاهش میکروبی اورانیم به اثبات رسیده و برخی گونه‌های آن شامل شیوانلا اونی‌دنسیس^۷، شیوانلا پوتری فاسینس^۸ و شیوانلا آگاکا^۹ تاکنون به این منظور شناسایی شده و مورد استفاده قرار گرفته است [۱۴، ۲۰-۲۳]. مزیت مهم باکتری‌های از جنس شیوانلا نسبت به باکتری‌های بی‌هوازی اجباری در همین بی‌هوازی اختیاری بودن آن است؛ بدین معنی که امکان حمل و نقل و کشت سریع این باکتری تا جرم دلخواه در شرایط هوازی وجود دارد [۲۰].

هاس و نورسپ [۲۲] اثر کمپلکس‌دهنده‌های مختلف بر نرخ کاهش اورانیم توسط گونه‌ی شیوانلا پوتری فاسینس را بررسی کردند [۲۲]. شنگ و همکاران [۲۴] نیز کار مشابهی را با سویه‌ی شیوانلا اونی‌دنسیس MR-۱ انجام دادند. چروینسکی و مولن و همکاران [۲۱، ۲۰] نیز نشان دادند که امکان تغییر ترکیب ایزوتوپی اورانیم طی فرایند کاهش توسط سویه‌ی MR-۱ وجود دارد. آن‌ها نشان دادند که وقتی بخشی از اورانیم موجود در محلول توسط سویه‌ی مذکور کاهش شده و رسوب می‌دهد، درصد ایزوتوپ سبک‌تر در رسوب بیش از محلول اولیه خواهد شد. آن‌ها دریافتند که قابلیت و امکان استفاده از این پدیده در غنی‌سازی اورانیم وجود دارد [۲۰، ۲۱]. نتیجه‌های به‌دست آمده در دو پژوهش دیگر نشان داد که توانایی باکتری‌های از جنس شیوانلا در کاهش اورانیم ناشی از وجود آنزیم‌های سیتوکروم^{۱۰} است [۲۵، ۲۶]. مارشال و همکاران [۲۷] نشان دادند که طی فرایند کاهش میکروبی توسط MR-۱، رسوب‌های تشکیل شده طی کاهش میکروبی اورانیم، بیش‌تر در ناحیه‌ی خارج از غشای سلولی و مقداری هم در فضای پرپلاسمیک تجمع می‌کنند.

با توجه به فعالیت تأسیسات هسته‌ای و تولید پسماندهای حاوی اورانیم در ایران، توسعه‌ی فرایندهای مؤثر در رفع آلودگی اورانیم با هدف جلوگیری از آلوده شدن محیط زیست امری اجتناب‌ناپذیر است. با وجود این‌که مقاله‌های مختلفی در جهان در زمینه‌ی کاهش میکروبی اورانیم ارائه شده، منبع علمی خاصی در این زمینه در ایران مشاهده نمی‌شود. بنابراین،

اورانیم یک فلز سنگین و پرتوزا است که به جهت استفاده‌ی آن در ساخت سوخت‌های هسته‌ای، مهم‌ترین عنصر در صنعت هسته‌ای به شمار می‌رود [۱]. در نتیجه‌ی فعالیت تأسیسات هسته‌ای، مقدار قابل ملاحظه‌ای اورانیم از طریق پسماند به محیط زیست وارد می‌شود [۲]. سمیت شیمیایی و پرتوزایی اورانیم، ورود این فلز به طبیعت را به یک نگرانی زیست‌محیطی تبدیل نموده است. بنابراین، مدیریت پسماندهای حاوی اورانیم قبل از ورود به طبیعت کاملاً ضروری و اجتناب‌ناپذیر است [۳]. به منظور حذف اورانیم از محلول‌های آبی از روش‌های مختلفی از قبیل فرایندهای غشایی [۴-۶]، تبادل یون [۷، ۸] و حذف زیست‌شناختی [۹] استفاده شده است. در این میان، روش‌های زیست‌شناختی فرایندهای مؤثری هستند که از طریق سازوکارهای مختلف، قادر به رفع آلودگی محیط از مواد پرتوزا از جمله اورانیم هستند [۱۰].

اورانیم در طبیعت معمولاً به دو شکل شش ظرفیتی، U(VI)، و چهار ظرفیتی، U(IV)، وجود دارد. اورانیم شش ظرفیتی انحلال‌پذیری بالایی در آب و در نتیجه تحرک بالایی در محیط دارد، در حالی‌که شکل کاهش‌دهی آن، دارای انحلال‌پذیری بسیار پایین و در نتیجه تحرک کمی در آب و محیط است [۱۱، ۱۲]. توانایی برخی از باکتری‌های بی‌هوازی در کاهش اورانیم از حالت (VI) به حالت (IV) یکی از راهکارهای مؤثری است که طی بیش از دو دهه‌ی اخیر برای محصورسازی اورانیم در محیط با هدف کاهش انتشار آن مورد توجه پژوهش‌گران مختلف قرار گرفته است [۱۳، ۱۴]. باکتری‌ها با اورانیم معمولاً برهم‌کنش‌های مختلفی شامل جذب، انباشتگی در سلول، رسوب‌گذاری، اکسایش و کاهش دارند [۱۳، ۱۵-۱۸]. از مزیت‌های مهم کاهش میکروبی نسبت به سایر روش‌های حذف میکروبی اورانیم می‌توان به دو مورد شامل حذف در جای^۱ اورانیم در محل آلوده و نیز ایجاد یک ترکیب نامحلول در آب اشاره نمود [۱۱، ۱۹].

اولین بار، لاوی [۱۳] در سال ۱۹۹۱ توانست اورانیم محلول را توسط دو گونه‌ی باکتریایی با نام‌های جی اس-۱۵ و آلتروموناس پوتری فاسینس^۲ بکاهد. سویه‌های مختلفی از جنس‌های باکتریایی شیوانلا^۳، ژئوباکتر^۴، دسولفوویبریو^۵ و

6. Clostridium
7. Shewanella oneidensis
8. Shewanella putrefaciens
9. Shewanella alga
10. Cytochrome

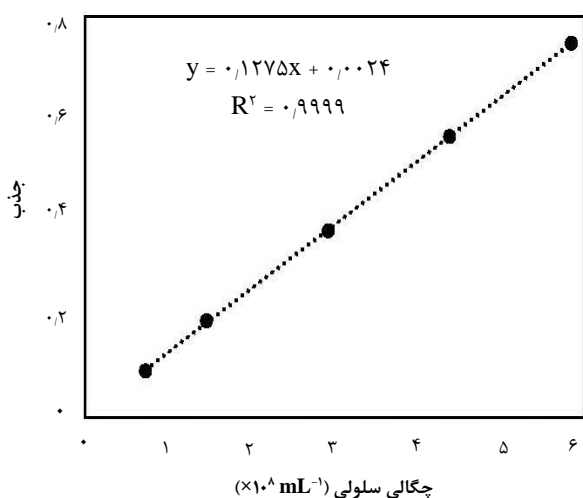
1. In- situ
2. Alteromonas putrefaciens
3. Shewanella
4. Geobacter
5. Desulfovibrio

۲.۲ تهیه مایه تلقیح

پس از کشت، محیط حاوی باکتری در دمای °C ۴ با دور هم‌زدن ۴۵۰۰ rpm و به مدت ۳۰ min در سانتریفوژ تحت عمل جداسازی قرار گرفت. پس از دور ریختن مایع باقی‌مانده، باکتری‌ها در بافر سدیم بی‌کربنات (۲ gL⁻¹) حل شده و مجدداً با هدف شستشو در شرایط گفته شده در سانتریفوژ تحت عمل جداسازی قرار گرفت. پس از دور ریزی مجدد محلول، باکتری‌های شسته شده در حجم مناسبی از بافر بی‌کربنات به صورت سوسپانسیون در آمده و pH آن روی مقادیر مناسب تنظیم شد. مقدار pH محلول‌ها توسط یک pHسنج (مترآم) مدل (۶۹۱) تعیین شد.

۳.۲ شمارش باکتری

برای شمارش باکتری در مایه تلقیح (با هدف تنظیم نهایی چگالی سلولی در محلول کاهش)، از کدورت‌سنجی به کمک طیف جذب دیدگانی - فرابنفش استفاده شد. برای این منظور، میزان جذب پنج محلول سوسپانسیون باکتری با چگالی سلولی مشخص (که قبلاً با استفاده از میکروسکوپ نوری و لام نئوبار تعیین شده بود) به عنوان محلول‌های استاندارد در دیدگانی - فرابنفش خوانده و یک خط صاف با دقت بالایی رسم شد (شکل ۱). برای تعیین چگالی سلولی هر نمونه‌ی دلخواه، نمونه به منظور خواندن میزان جذب در دستگاه فرابنفش قرار داده شده و بر اساس خط رسم شده، یک چگالی سلولی به آن نسبت داده شد.



شکل ۱. نمودار استاندارد تعیین چگالی سلولی بر اساس میزان جذب در طیف‌نمایی فرابنفش.

انجام فعالیت پژوهشی در این زمینه با هدف توسعه‌ی یک روش مؤثر برای رفع آلودگی می‌تواند در کشور بسیار مفید و کاربردی باشد.

هم‌چنین با توجه به این‌که در حال حاضر سویه‌ی شیوانلا اونی‌دنسیس MR-۱ به عنوان شناخته شده‌ترین سویه‌ی کاهنده‌ی اورانیم نسبت به سایر گونه‌ها و سویه‌های جنس شیوانلا به شمار می‌رود [۲۰، ۲۱، ۲۴، ۲۶، ۲۷]، معرفی سویه‌های جدید از جنس شیوانلا که توانایی و سرعت کاهش مشابه و یا بالاتری نسبت به سویه‌ی مذکور داشته باشند؛ دارای ارزش علمی، کاربردی و نوآوری خواهد بود. در این پژوهش توانایی یک سویه‌ی باکتریایی از جنس شیوانلا با نام شیوانلا اس پی GCWx۸ در کاهش و رسوب‌گذاری اورانیم مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است. این باکتری در هیچ پژوهش دیگری تاکنون به منظور کاهش میکروبی مورد استفاده قرار نگرفته است. هم‌چنین، معادله و ثابت سرعت واکنش کاهش میکروبی اورانیم توسط سویه‌ی GCWx۸ تعیین شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲ ریزموجودات و محیط کشت

در این پژوهش از یک سویه‌ی گرم منفی بی‌هوازی اختیاری با نام شیوانلا اس پی GCWx۸ استفاده شده است. این باکتری به صورت لیوفیلیزه (خشک‌شده‌ی انجمادی) از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (IBRC) با کد آی بی آر سی - ام ۴۰۲۹ تأمین شد. فعال‌سازی و کشت این باکتری (مطابق با پیشنهاد بانک میکروبی پیش‌گفته) در محیط کشت مایع MH ۲.۵ درصد (جدول ۱) در شرایط هوازی، دمای °C ۳۴، pH ۸ و سرعت هم‌زدن ۱۵۰ rpm به مدت ۲۴ h انجام شد.

جدول ۱. ترکیب‌های موجود در یک لیتر محیط کشت مایع (۲.۵ درصد

GCWx۸ برای کشت سویه‌ی MH	
ماده	مقدار (g)
Peptone	۵
Yeast extract	۱۰
Glucose	۱
NaCl	۲۰.۲۵
MgCl _۲	۱.۷۵
MgSO _۴ .۷H _۲ O	۲.۴۰
KCl	۰.۵۰
CaCl _۲	۰.۰۹
NaHCO _۳	۰.۰۱۵
NaBr	۰.۰۰۶۵

مقداری گاز هیدروژن از طریق یک سرنگ انسولین به داخل ویال‌ها تا فشار مثبت ۰٫۶ bar تزریق شد. مایه‌ی تلقیح پیش از این به دست آمده نیز به همین روش در ویال‌های جداگانه، بی‌هوازی شد تا از ورود اکسیژن به نمونه‌ها در هنگام تلقیح جلوگیری شود.

۶.۲ تعیین درصد و سینتیک حذف اورانیم

درصد حذف اورانیم از طریق فرایند کاهش چنین محاسبه شد.

$$\text{درصد حذف} = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

که در آن، C_0 و C_f غلظت یون فلزی به ترتیب در محلول اولیه و در محلول نهایی برحسب (mM) است. با فرض این که فرایند کاهش میکروبی مطابق با واکنش درجه‌ی اول انجام می‌شود، رابطه‌های زیر برقرار خواهد بود [۲۹]:

$$-\frac{dC_t}{dt} = kC_t \quad (2)$$

$$\ln\left(\frac{C_0}{C_t}\right) = kt \quad (3)$$

که در آن، C_t ، t و k به ترتیب زمان (h)، غلظت (mM) یون فلزی در محلول در لحظه‌ی t ، و ثابت سرعت واکنش (h^{-1}) است.

۴.۲ محیط کاهش

برای انجام واکنش کاهش، معمولاً از یک محلول حاوی اجزای مختلفی شامل اورانیم، برخی نمک‌ها، مقداری مناسب از یک الکترون‌دهنده، ویتامین‌ها و مقدار جزئی از مواد معدنی استفاده می‌شود. مقدارهای مورد استفاده از ترکیب‌های پیش‌گفته در منبع‌های علمی مختلف با هم تفاوت‌هایی دارد. ترکیب محیط کاهش در این پژوهش، براساس اطلاعات موجود در دو منبع علمی معتبر (یک ثبت اختراع و یک پایان‌نامه، هر دو از یک گروه در دانشگاه MIT) انتخاب شده است [۲۰]. جدول ۲ ترکیب محیط کاهش مورد استفاده در این پژوهش را نشان می‌دهد. مقدار pH محلول‌ها با افزودن سدیم بی‌کربنات تنظیم شد. نمونه‌ها پس از تهیه و تنظیم pH، در حجم‌های ۹ mL در شیشه‌های نمونه با حجم کل ۲۵ mL قرار داده شد.

۵.۲ تأمین شرایط بی‌هوازی

برای ایجاد شرایط بی‌هوازی در ویال‌ها، از روش جای‌گزینی گاز استفاده شد [۲۸]. ابتدا ویال‌های حاوی محلول کاهش توسط یک گاز مخلوط (۹۰٪ نیتروژن و ۱۰٪ کربن دی‌اکسید) از طریق یک کانول مخصوص گازدهی شد تا اکسیژن موجود در محلول و هوای بالای آن، خارج و گاز مخلوط جای‌گزین آن شود. پس از حدود ده دقیقه گازدهی، کانول از ویال خارج و هم‌زمان درب لاستیکی آن بسته شد تا از ورود مجدد اکسیژن جلوگیری شود. در ادامه، ویال‌ها توسط درب‌های آلومینیومی بسته شدند. پس از بستن ویال‌ها، به منظور اطمینان از بی‌هوازی شدن و بی‌هوازی ماندن ویال‌ها در طول آزمایش،

جدول ۲. مقدار ($mg L^{-1}$) نمک‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی در یک لیتر محلول کاهش

مواد معدنی		ویتامین		نمک‌ها	
مقدار	ماده	مقدار	ماده	مقدار	ماده
۰٫۱	$MnCl_2, 4H_2O$	۰٫۰۵	پی-آمینو بنزوتیک اسید	۲۵۰	NH_4Cl
۰٫۱۲	$CoCl_2, 6H_2O$	۰٫۰۲	تیامین-هیدروکلریک اسید	۵۰۰	KCl
۰٫۰۷	$ZnCl_2$	۰٫۱	پیروکسین-هیدروکلریک اسید (B۶)	۱۵۰	$CaCl_2, 2H_2O$
۰٫۰۶	H_3BO_3	۰٫۰۰۱	سیانو کوبالامین (B۱۲)	۱۰۰۰	NaCl
۰٫۰۲۵	$NiCl_2, 6H_2O$			۶۲۰	$MgCl_2, 6H_2O$
۰٫۰۱۵	$CuCl_2, 2H_2O$				
۰٫۰۲۵	$Na_2MoO_4, 2H_2O$				
۱٫۵	$FeCl_2, 4H_2O$				

۷.۲ تجزیه‌ی عنصری

برای اندازه‌گیری غلظت اورانیم در محلول از طیف‌سنجی نشر اتمی- پلاسما جفت‌شده‌ی القایی (پرکین المر اپتیما ۲۰۰۰) و هم‌چنین برای تعیین حالت اکسایشی اورانیم (و در نتیجه اثبات سازوکار کاهش در رسوب‌ها) از طیف‌سنجی دیدگانی- فرابنفش و دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات استفاده شد. استفاده از طیف دیدگانی- فرابنفش به منظور تعیین حالت اکسایشی اورانیم پیش از این نیز با هدف اثبات کاهش میکروبی مورد استفاده قرار گرفته است [۳۰]. برای این منظور، رسوب به دست آمده در فرایند کاهش میکروبی در ۴ میلی‌لیتر سیتریک اسید ۱۰ mM حل شد. در ادامه، با عبور محلول از صافی ۰/۲ μm باکتری‌ها از محلول جدا شد. جذب نمونه‌ها در طول موج‌های بین ۳۰۰ تا ۸۰۰ nm خوانده شده و طیف نظیر آن رسم شد که در آن قله‌های بین ۴۰۰ تا ۴۵۰ nm مربوط به اورانیم (VI)، قله در حوالی ۶۶۵ nm مربوط به اورانیم (IV) است [۳۰، ۲۱].

استفاده از نمودارهای ولتامتری چرخه‌ای برای نشان دادن وجود اورانیم کاهیده شده پیش از این در سال ۲۰۱۵ به منظور بررسی الکتروشیمیایی سوخت هسته‌ای پیشنهاد شده است [۳۱]. با وجود این، استفاده از این نمودارها برای اثبات فرایند کاهش میکروبی تاکنون انجام نشده است. برای آماده‌سازی رسوب برای تجزیه با استفاده از دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات، ابتدا رسوب توسط کاغذ صافی از محلول جدا شد. در ادامه، رسوب با مقداری گرافیت مخلوط و مقداری نافینون به آن افزوده شد. مخلوط به دست آمده پس از خشک شدن روی قاشک دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات قرار داده شد. این کار بسیار سریع انجام شد تا از اکسایش مجدد اورانیم طی آماده‌سازی جلوگیری شود.

۸.۲ انتخاب چگالی سلولی، دما و الکترون‌دهنده

مولن [۲۱] نشان داد که میزان کاهش میکروبی اورانیم توسط باکتری شیوانلا اونیدنسیس، در چگالی‌های سلولی کم‌تر از ۱۰^۸ mL^{-۱}، قابل توجه نیست. او چگالی سلولی بهینه برای

کاهش توسط باکتری مذکور را در حدود ۱۰^۹ mL^{-۱} گزارش کرده است. هاس [۲۲] نیز برای بررسی اثر کمپلکس‌های آبی بر کاهش میکروبی اورانیم توسط شیوانلا پوتری فاسینس، از چگالی سلولی ۱۰^۹ mL^{-۱} استفاده نمود. بنابراین، در این پژوهش نیز از همین چگالی سلولی استفاده شد.

دمای گرمادهی در بحث کاهش میکروبی اورانیم یک پارامتر مهم و مؤثر به شمار می‌رود [۳۲]. باتوجه به نتیجه‌های برخی از پژوهش‌های انجام شده در خصوص استفاده از گونه‌های باکتریایی از جنس شیوانلا در کاهش میکروبی، دمای مناسب برای کاهش میکروبی اورانیم توسط این باکتری در حدود ۳۰ °C است [۱۳، ۲۱، ۲۷، ۳۳]. از این‌رو در این پژوهش نیز از دمای ۳۰ °C استفاده شد.

وجود یک الکترون‌دهنده برای انجام واکنش کاهش اورانیم توسط باکتری‌ها لازم است. معمولاً از الکترون‌دهنده‌های مختلفی هم‌چون لاکتات، گلوکز، استات و گاز هیدروژن برای کاهش اورانیم استفاده می‌شود. مقدار الکترون‌دهنده معمولاً چند برابر بیش‌تر از مقدار استوکیومتری در نظر گرفته می‌شود [۱۳، ۳۴]. بنابراین، در این پژوهش، از ۱۰ mM سدیم لاکتات به عنوان الکترون‌دهنده استفاده شد. لازم به ذکر است که هیدروژن گازی موجود در ظرف واکنش (که برای بی‌هوازی‌سازی به کار رفته است) نیز در کنار سدیم لاکتات، به نوعی الکترون‌دهنده به شمار می‌رود. مقداری یون استات هم (به علت استفاده از نمک اورانیل استات) در محلول وجود دارد. شرایط آزمایش‌ها به طور خلاصه در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳. شرایط آزمایش حذف اورانیم توسط باکتری GCWx8 در pH‌های مختلف

پارامتر	مقدار
دما	۳۰ °C
الکترون‌دهنده (سدیم لاکتات)	۱۰ mM
چگالی سلولی	۱۰ ^۹ mL ^{-۱}
غلظت اورانیم	۰/۵ mM

۳. یافته‌ها و بحث

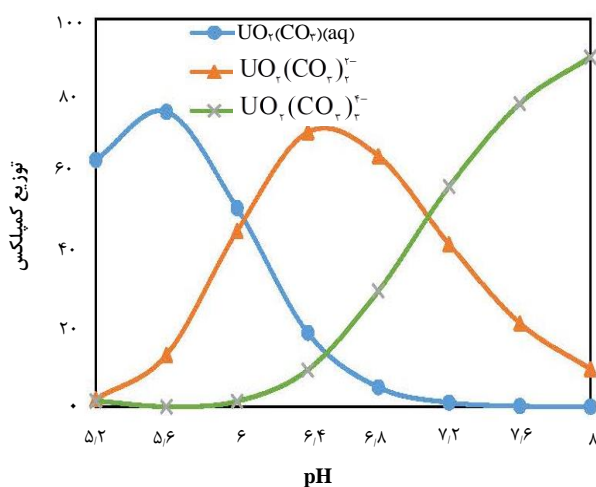
۱.۳ تعیین pH مناسب

برای بررسی اثر تغییرات pH اولیه محلول بر درصد حذف اورانیم و انتخاب pH مناسب، سایر پارامترها شامل چگالی سلولی، الکترون‌دهنده و دما طبق جدول ۳ ثابت نگه داشته شد. برای این منظور، pH در بازه‌ی ۵/۶ تا ۷/۲ با گام ۰/۴ تغییر داده شد. در کنار نمونه‌های اصلی، چهار نمونه‌ی کنترل منفی (باکتری کشته شده با گرما، باکتری کشته شده با فرمالدهید، هوازی و بدون باکتری) تهیه شد. نمونه‌ها به مدت ۵ روز گرمادهی شدند. شکل ۲، درصد حذف اورانیم از محلول را برای pHهای مختلف نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش pH از ۵/۶ به ۶، درصد حذف اورانیم افزایش می‌یابد. با افزایش مجدد pH از ۶ تا ۶/۸، تغییر چندانی در درصد حذف رخ نمی‌دهد. با افزایش بیش‌تر pH از ۶/۸ تا ۷/۲، درصد حذف اورانیم مجدداً کاهش می‌یابد. بنابراین، بهترین محدوده‌ی pH برای حذف اورانیم توسط این سویه در شرایط بی‌هوازی، بازه‌ی ۶ تا ۶/۸ است.

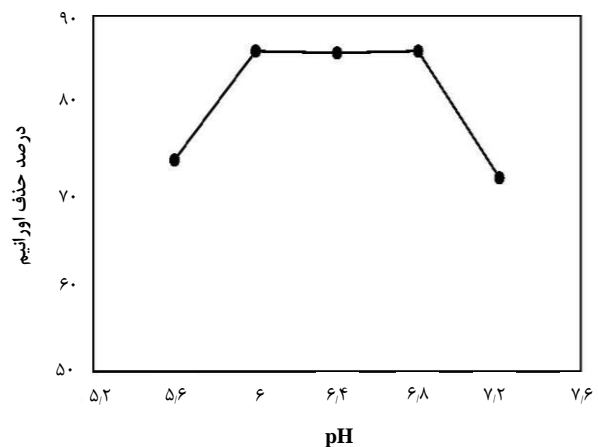
این محدوده با یافته‌های تعدادی دیگر از پژوهش‌گران در مورد سویه‌ی MR-۱ تطابق دارد. به عنوان مثال، چروینسکی و همکاران [۲۰] و نیز بورگس و همکاران [۲۷]، حذف اورانیم توسط سویه‌ی شیوانلا اونیدنسیس MR-۱ را در pH ۶/۸ بررسی کرده‌اند. مولن و همکاران [۲۱] نیز بهترین محدوده‌ی pH را به منظور کاهش میکروبی اورانیم توسط سویه‌ی MR-۱ بین ۶/۴ تا ۶/۹ گزارش نموده‌اند.

به منظور درک بهتر اثر pH، محلول مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار ویژوال مینتگ شبیه‌سازی شد (شکل ۳). به علت استفاده از سدیم بی‌کربنات در محلول کاهش، اورانیم بیش‌تر به شکل کمپلکس‌های کربناتی ظاهر می‌شود. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، در pHهای بین ۶ تا ۶/۸، کمپلکس دو کربناتی نسبت به دو نوع کمپلکس دیگر غالب است. کاهش pH از ۶ به ۵/۶، باعث تبدیل بیش‌تر اورانیم محلول از حالت دو کربناته به حالت یک کربناته می‌شود که این تغییر باعث کاهش درصد جداسازی اورانیم از ۸۵٪ به ۷۴٪ را به دنبال خواهد داشت (شکل ۲). براساس مشاهده‌های تجربی، کاهش pH به مقدارهای کم‌تر از ۶، سخت‌تر شدن تهیه‌ی مایه‌ی تلقیح یکنواخت (به علت کف کردن و لخته شدن سلول‌ها) را نیز به دنبال دارد. از طرف دیگر، افزایش pH از ۶/۸ به ۷/۲ نیز، باعث کاهش درصد حذف اورانیم از ۸۶٪ به ۷۲٪ می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد که فرایند کاهش میکروبی اورانیم توسط باکتری GCWx۸ در شرایطی که اورانیم به صورت کمپلکس دو کربناتی باشد، بهتر انجام می‌شود.

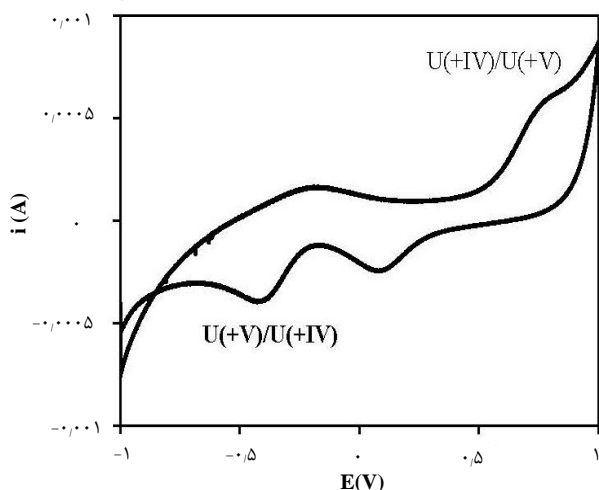
لازم به ذکر است که تأثیر pH بر میزان کاهش اورانیم، تنها به نوع کمپلکس اورانیم بستگی ندارد؛ بلکه دو عامل دیگر شامل تفاوت در عملکرد آنزیم‌های کاهنده و هم‌چنین میزان انحلال اورانیم کاهیده در pHهای مختلف نیز ممکن است مؤثر باشند [۲۱]. بنابراین با توجه به نتیجه‌های شکل ۲ و مطالب یاد شده، مقدار pH مناسب برای حذف اورانیم توسط باکتری GCWx۸ برابر با ۶/۸ در نظر گرفته شد.



شکل ۳. نمودار توزیع کمپلکس‌های کربناتی در محلول مورد استفاده در pHهای مختلف؛ شبیه‌سازی شده با استفاده از نرم‌افزار ویژوال مینتک.

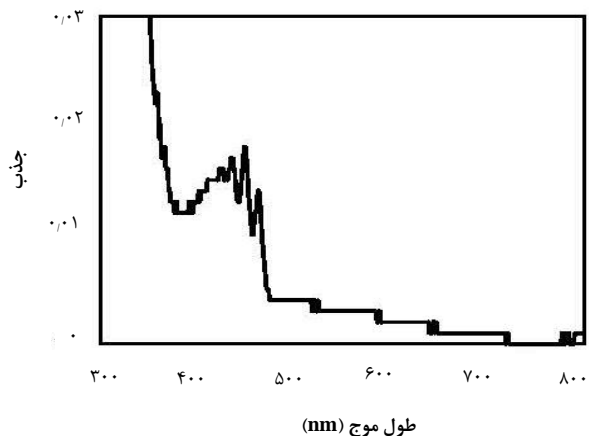


شکل ۲. درصد حذف اورانیم از محلول توسط باکتری GCWx۸ در pHهای مختلف. [دما ۳۰°C، چگالی سلولی $10^9 mL^{-1}$ ، مدت زمان گرمادهی ۵ روز و غلظت اورانیم ۰/۵ mM]



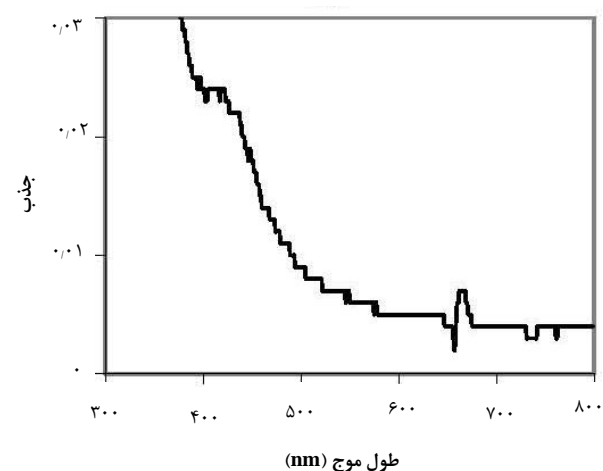
شکل ۴. نمودار ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از تجزیه‌ی رسوب با استفاده از دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات.

(الف)



طول موج (nm)

(ب)



طول موج (nm)

شکل ۵. طیف فرابنفش (الف) محلول اولیه قبل از تلقیح باکتری و (ب) محلول حاوی اورانیم استخراج شده از رسوب تشکیل شده پس از گرمادهی.

۲.۲ اثبات فرایند کاهش

پس از تعیین شرایط مناسب، آزمایش‌هایی برای بررسی حالت اکسایشی اورانیم موجود در رسوب و اثبات کاهش انجام شد. با توجه به پژوهش‌های پیش از این انجام شده، محصول فرایند کاهش میکروبی اورانیم، یک رسوب تیره رنگ است [۲۲، ۳۵]. رنگ باکتری GCWx8 قبل از گرمادهی صورتی بود و پس از گرمادهی باکتری‌ها در حضور اورانیم و شرایط مناسب، رسوبی به رنگ قهوه‌ای (حاوی باکتری‌ها و اورانیم) در کف ظرف ظاهر شد. این تغییر رنگ از صورتی به قهوه‌ای را می‌توان به تجمع اورانیم کاهیده در رسوب نسبت داد. با وجود این، برای اثبات این ادعا، لازم بود رسوب به دست آمده تجزیه شود.

همان‌طور که در مقدمه نیز ذکر شد، حذف اورانیم از محلول توسط باکتری ممکن است از طریق سازوکارهایی غیر از کاهش نیز رخ دهد. برای اثبات حذف اورانیم با سازوکار کاهش توسط سویه GCWx8، لازم بود ثابت شود که اورانیم موجود در رسوب‌ها به شکل کاهیده $U(IV)$ است. برای این منظور، معمولاً از روش‌هایی هم‌چون طیف‌بینی فوتوالکترون پرتو ایکس^۱ و جذب پرتو ایکس نزدیک ساختار لبه‌ای^۲ استفاده می‌شود [۲۱، ۳۶]. با توجه به عدم امکان دسترسی به روش‌های یاد شده، از دو سیستم جای‌گزین شامل دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات و طیف‌نمای دیدگانی- فرابنفش استفاده شد (شکل‌های ۴ و ۵).

مطالعه‌ی الکتروشیمیایی اورانیم از طریق رسم نمودار ولتامتری چرخه‌ای نشان می‌دهد که وجود یک قله در حوالی -0.5 ناشی از وجود اورانیم کاهیده، $U(IV)$ ، است [۳۱]. شکل ۴، نمودار ولتامتری چرخه‌ای را برای اورانیم موجود در رسوب به دست آمده از کف ظرف‌های واکنش طی کاهش میکروبی اورانیم توسط سویه GCWx8 نشان می‌دهد. این نمودار با استفاده از دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات رسم شده است. همان‌طور که در شکل ۴ دیده می‌شود، قله‌های موجود در حوالی 0.5 و -0.5 ، به خوبی وجود شکل کاهیده‌ی اورانیم در رسوب را نشان می‌دهد. قله‌های کوچک‌تری نیز در حوالی صفر دیده می‌شود که ناشی از وجود مقداری اورانیم شش ظرفیتی است. وجود این اورانیم به احتمال زیاد ناشی از اکسایش مجدد بخشی از اورانیم کاهیده بر اثر در معرض هوا قرارگیری رسوب طی فرایند آماده‌سازی است.

1. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS)
2. X-ray absorption near edge structure (XANES)

۳.۳ بررسی نمونه‌های کنترل منفی

همان‌طور که در بخش ۲.۳ ذکر شد، در این پژوهش، از چهار نمونه‌ی کنترل استفاده شده است. استفاده از این نمونه‌های کنترل به این منظور بوده که ثابت شود فرایند حذف اورانیم از محلول، فرایندی ناشی از حضور باکتری‌های زنده در شرایط بی‌هوازی است.

در نمونه‌ی کنترل منفی بدون باکتری، هیچ‌گونه رسوبی و تغییری در غلظت اورانیم موجود در محلول مشاهده نشد. همچنین، طیف فرابنفش این نمونه نیز حاکی از عدم وجود U(IV) بود. بنابراین، عدم حذف و کاهش اورانیم در این نمونه، ذهنیت شیمیایی بودن حذف و کاهش اورانیم را منتفی نموده و ثابت می‌کند که کاهش اورانیم در آزمایش‌های اصلی ناشی از حضور باکتری بوده است.

حذف اورانیم در نمونه‌های کنترل منفی حاوی باکتری غیرزنده (به دو روش گرما و فرمالدهید) نیز کم بوده و تجزیه‌ی این نمونه‌ها با استفاده از طیف‌سنجی فرابنفش نیز نشان داد که کاهش رخ نداده است. همین میزان کم حذف اورانیم در نمونه‌ی حاوی باکتری‌های غیرزنده نیز ناشی از وجود زیست‌توده‌ی میکروب بوده و احتمالاً جذب در آن رخ داده است. بنابراین کاهش اورانیم در نمونه‌های اصلی ناشی از وجود سلول‌های زنده بوده است.

در نمونه‌ی کنترل هوازی نیز، مقداری (کم‌تر از ۳۰٪) حذف اورانیم وجود دارد، ولی طیف فرابنفش آن نشان می‌دهد که اورانیم موجود در رسوب به صورت کاهیده است. بنابراین، در این نمونه‌ی کنترل نیز فرایند کاهش رخ نداده است. بنابراین، شرایط بی‌هوازی لازمی رخداد فرایند کاهش توسط این باکتری است.

با توجه به نتیجه‌های به دست آمده در نمونه‌ها و نیز نمونه‌های کنترل، می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که کاهش اورانیم ناشی از فعالیت آنزیمی باکتری‌های زنده در شرایط بی‌هوازی بوده است.

۴.۳ تعیین ثابت سرعت واکنش

برای تعیین ثابت سرعت واکنش، یک آزمایش کاهش برای بررسی تغییرات غلظت اورانیم با زمان در شرایط جدول ۳ و pH ۶٫۸ انجام شد. به تعداد کافی نمونه‌ی کاملاً یکسان تحت

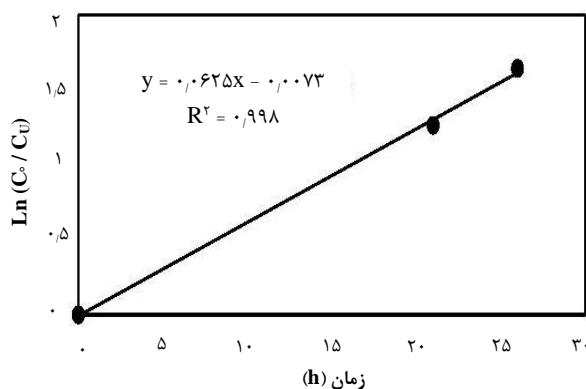
طیف فرابنفش برای نمونه‌ی محلول اولیه قبل از تلقیح باکتری و نیز محلول اورانیم بازیابی شده از رسوب در شکل ۵ نشان داده شده است. در طیف محلول اولیه قبل از تلقیح باکتری، که همه‌ی اورانیم به شکل U(VI) است، تعدادی قله‌ی تیز بین ۴۰۰ تا ۴۵۰ nm مشاهده می‌شود؛ در حالی که هیچ‌گونه قله‌ای در ۶۶۵ nm مشاهده نمی‌شود (شکل ۵ الف). با توجه به نتایج پژوهش‌های انجام شده توسط مولن [۲۱] و گائو [۳۰] و همکارانشان، وجود قله‌های بین ۴۰۰ تا ۴۵۰ nm در طیف UV نیز ناشی از حضور U(VI) است. در طیف UV محلول به دست آمده از انحلال رسوب در سیتریک اسید (که شرح آماده‌سازی آن در بخش ۷.۲ آمده است)، قله‌ی کاملاً مشخصی در ۶۶۵ nm ظاهر شده است (شکل ۵ ب). گائو و همکاران وجود این قله را ناشی از حضور اورانیم کاهیده U(IV) می‌دانند [۳۰]. بنابراین با توجه به شکل ۵، اورانیم موجود در محلول بر اثر تلقیح باکتری‌های زنده‌ی GCWx۸ از حالت U(VI) به حالت U(IV) تبدیل شده است. با توجه به شکل‌های ۴ و ۵ می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که اورانیم توسط باکتری مذکور کاهیده شده است. بنابراین، فرایند حذف اورانیم توسط باکتری GCWx۸ ناشی از سازوکار کاهش از حالت U(VI) به حالت U(IV) است.

نکته‌ی قابل توجه در شکل‌های ۴ و ۵، وجود مقداری اورانیم کاهیده نشده در رسوب است. این اورانیم کاهیده نشده می‌تواند به چند دلیل باشد. اولاً، احتمال جذب اورانیم توسط این باکتری مانند بسیاری دیگر از باکتری‌ها وجود دارد. جذب مقداری از اورانیم محلول توسط باکتری‌های غیرزنده در نمونه‌های کنترل منفی، این احتمال را تأیید می‌کند. همچنین، فرایند تجزیه‌ی رسوب‌ها به گونه‌ای است که ممکن است رسوب در یک مدت زمانی (هر چند محدود) در معرض اکسیژن هوا قرار گیرد و احتمال اکسایش مجدد بخشی از اورانیم کاهیده شده توسط اکسیژن موجود در هوا وجود دارد. احتمال سوم که از دو احتمال قبلی قوی‌تر است به حضور و گیر افتادن مقداری از محلول (که هنوز حاوی مقداری اورانیم احیا نشده است) در رسوب مربوط می‌شود.

آهنگ کاهش غلظت اورانیوم با زمان در ۲۶ ساعت ابتدایی به خوبی از رابطه‌ی سرعت واکنش درجه‌ی اول تبعیت می‌کند (رابطه‌های ۲ و ۳ و شکل ۷). با توجه به رابطه‌های ۲ و ۳، شیب خط به دست آمده در نمودار شکل ۷ نشان‌دهنده‌ی ثابت سرعت واکنش درجه‌ی اول است. بنابراین، ثابت سرعت واکنش کاهش میکروبی اورانیوم در ۲۶ ساعت ابتدایی گرمادهی برابر 0.106 h^{-1} است. در پژوهش دیگری که پیش از این، با سویه‌ی MR-1 انجام شده است، نتیجه‌های کاهش میکروبی اورانیوم با واکنش درجه‌ی اول مطابقت خوبی داشته است. ثابت سرعت واکنش کاهش اورانیوم توسط باکتری MR-1 در حدود 0.104 h^{-1} بر ساعت به دست آمده است [۲۰]. بنابراین، مقدار ثابت سرعت به دست آمده برای باکتری GCWx8 (0.106 h^{-1}) قابل مقایسه با سویه‌ی شناخته شده‌ی MR-1 و حتی در حدود ۵۰٪ بیش‌تر است.

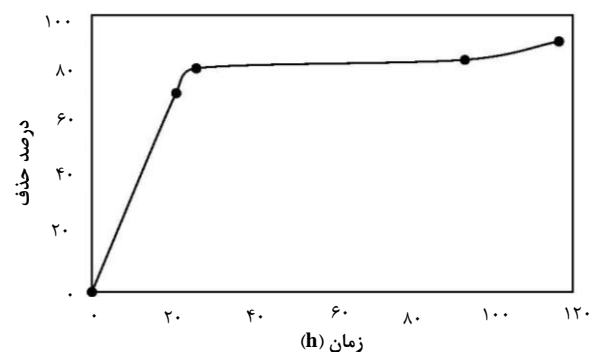
۴. نتیجه‌گیری

قابلیت سویه‌ی شیوانلا اس پی GCWx8 در کاهش میکروبی و حذف اورانیوم از محلول در شرایط بی‌هوازی بررسی شد. با گرمادهی محلول اورانیوم حاوی این باکتری در حضور مواد مغذی و در شرایط بی‌هوازی، یک رسوب قهوه‌ای رنگ تشکیل و اورانیوم تا حدود ۹۰٪ از محلول حذف شد. تجزیه‌ی رسوب به دست آمده با استفاده از دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات و طیف‌سنجی فرابنفش نشان داد که اورانیوم موجود در رسوب به صورت U(IV) است. بنابراین، سازوکار حذف اورانیوم توسط این باکتری، کاهش است. با تعیین تغییرات زمانی غلظت اورانیوم در محلول و برازش داده‌های ۲۶ ساعت ابتدایی واکنش (که قسمت عمده‌ی واکنش نیز در همین بازه بود) به معادله‌ی واکنش درجه‌ی اول، مقدار ثابت سرعت واکنش 0.106 h^{-1} به دست آمد.



شکل ۷. برازش نمودار تغییرات $\ln(C_0/C_t)$ برحسب زمان.

گرمادهی قرار داده شد و نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف به انجام رسید. میزان حذف اورانیوم در زمان‌های مختلف در شکل ۶ نشان داده شده است. با گذشت بیش از ۱۱۶ ساعت از شروع گرمادهی، ۹۰٪ اورانیوم از محلول حذف شد. آهنگ واکنش کاهش میکروبی، در ساعات ابتدایی بسیار بالاتر بود به گونه‌ای که در ۲۶ ساعت نخست گرمادهی، حدود ۸۰٪ اورانیوم از محلول حذف شد. آهنگ واکنش در ادامه کندتر شده و در ۹۰ ساعت بعدی فقط ۱۰٪ دیگر از اورانیوم اولیه حذف شد. بالا بودن آهنگ حذف اورانیوم در ساعات اولیه را می‌توان ناشی از دو پدیده دانست. مولن دلیل این موضوع را ناشی از غلظت بالای اورانیوم موجود و در دسترس باکتری‌ها در لحظات اولیه می‌داند [۲۱]. پدیده‌ی محتمل و مؤثر دیگری که باعث کاهش آهنگ کاهش با زمان می‌شود این است که تعداد سلول‌های تازه و در دسترس در محلول در ابتدا در بیش‌ترین مقدار خود قرار دارد. مشاهده‌های عینی نشان داد که با گذشت زمان کدورت محلول کاهش و حجم رسوب افزایش می‌یابد. رسوب به دست آمده، حاوی هم اورانیوم کاهیده شده و هم سلول‌ها بود. علت حضور سلول‌ها در کنار رسوب احتمالاً به این دلیل است که طبق داده‌های سایر پژوهش‌گران، کاهش و رسوب‌گذاری اورانیوم ممکن است در قسمت‌های مختلفی از سلول شامل درون محیط پلازما [۳۷]، فضای پریپلاسمیک و یا خارج از سلول [۲۶، ۳۸، ۳۹] رخ دهد. الحاق رسوب سنگین، سمی و پرتوزای اورانیوم به قسمت‌های مختلف سلول‌های زنده، ممکن است باعث ته‌نشینی و کاهش تحرک باکتری‌ها شود. باکتری‌های ته‌نشین شده قادر به ادامه‌ی فعالیت و کاهش اورانیوم باقی‌مانده در توده‌ی محلول نیستند. نتیجه‌ی این ته‌نشینی تدریجی سلول‌ها، افت تدریجی چگالی سلولی در توده‌ی محلول و در نتیجه افت نرخ کاهش خواهد بود.



شکل ۶. سینتیک حذف اورانیوم از محلول.

10. A. Zaheri, and A. R. Keshtkar, in: *The Second Iran Membrane Conference, Selective Separation Of Uranium From UCF Effluents By Nanofiltration* (Tehran, Iran, 2015).
11. B. Gu et al. *Bioreduction of uranium in a contaminated soil column*, Environ. Sci. Technol. **39** (13), 4841 (2005).
12. A. R. Keshtkar, M. Mohammadi, and M. A. Moosavian, *Equilibrium biosorption studies of wastewater U(VI), Cu(II) and Ni(II) by the brown alga Cystoseira indica in single, binary and ternary metal systems*, J. Radioanal. Nucl. Chem. **303** 363 (2015).
13. D. R. Lovley, E. J. Phillips, Y. A. Gorby, and E. R. Landa, *Microbial reduction of uranium*, Nature **350**, 413 (1991).
14. J. D. Wall, and L. R. Krumholz, *Uranium reduction*, Annu. Rev. Microbiol. **60**, 149 (2006).
15. T. Tsuruta, *Removal and recovery of uranium using microorganisms isolated from North American uranium deposits*, Am. J. Environ. Sci. **3** (2), 60 (2007).
16. Y. Suzuki, and J. F. Banfield, *Resistance to, and accumulation of, uranium by bacteria from a uranium-contaminated site*, Geomicrobiol. J. **21** (2), 113 (2004).
17. T. Ohnuki et al. *Interactions of uranium with bacteria and kaolinite clay*, Chem. Geol. **220** (3), 237 (2005).
18. H. Golmohammadi, A. Rashidi, and S. J. Safdari, *Prediction of ferric iron precipitation in bioleaching process using partial least squares and artificial neural network*, Chem. Ind. Chem. Eng. Q. **19** (3), 321 (2013).
19. J. Istok et al. *In situ bioreduction of technetium and uranium in a nitrate-contaminated aquifer*, Environ. Sci. Technol. **38** (2), 468 (2004).
20. K. R. Czerwinski, and M. F. Polz, U.S. Patent No. 7,452,703 (18 Nov, 2008).
21. L. M. Mullen, PhD thesis, Cambridge, MA, 2007.
22. J. R. Haas, and A. Northup, *Effects of aqueous complexation on reductive precipitation of uranium by Shewanella putrefaciens*, Geochem. T. **5** (3), 41 (1999).
23. M. Truex et al. *Kinetics of U(VI) reduction by a dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium under nongrowth conditions*, Biotechnol. Bioeng. **55**, 490 (1997).
24. L. Sheng, J. Szymanowski, and J. B. Fein, *The effects of uranium speciation on the rate of U(VI) reduction by Shewanella oneidensis MR-1*, Geochim. Cosmochim. Ac. **75** 3558 (2011).
25. A. S. Beliaev. *MtrC, an outer membrane decahaem c cytochrome required for metal reduction in Shewanella putrefaciens MR-1*, Mol. Microbiol. **39** (3), 722 (2001).
26. M. J. Marshall. *c-Type cytochrome-dependent formation of U (IV) nanoparticles by Shewanella oneidensis*, PloS Biol. **4** (8), 1324 (2006).

یافته‌های این پژوهش نشان داد که قدرت و سرعت کاهش اورانیوم توسط سوبیه GCWx8 در حدی است که می‌توان این سوبیه را به عنوان یک سوبیه کاهنده‌ی قوی در کنار گونه‌هایی هم‌چون شیوانلا اونیدنسیس، شیوانلا پوتری فاسپینس معرفی نمود.

تشکر و قدردانی

هزینه‌های انجام این پژوهش به طور کامل توسط پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای تأمین شده است. هم‌چنین نویسندگان از سرکار خانم سمانه جهانی به دلیل کمک‌های مؤثرشان در حوزه‌ی زیست‌شناسی میکروبی و جناب آقای دکتر طاهر یوسفی به دلیل تلاش ایشان برای انجام تجزیه‌ی عنصری رسوب با استفاده از دستگاه پتانسیواستات/ گالوانواستات، نهایت تشکر را دارند.

مراجع

1. M. Benedict, T. H. Pigford, and H. W. Levi, *Nuclear chemical engineering*, 2nd ed. (McGraw-Hill, New York, 1981).
2. IAEA, *Treatment of liquid effluent from uranium mines and mills during and after operation*, (International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 2004).
3. IAEA, *Management of Radioactive Waste from the Mining and Milling of Uranium and Thorium Ores*, (International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 2002).
4. IAEA, *Application of Membrane Technologies for Liquid Radioactive Waste Processing*, (International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 2004).
5. E. Zaki, *Electrodialysis of uranium (VI) through cation exchange membranes and modeling of electrodialysis processes*, J. Radioanal. Nucl. Chem. **252** (1), 21 (2002).
6. A. Zaheri, et al. *Uranium separation from wastewater by electrodialysis*, Iran. J. Environ. Health Sci. Eng. **7** (5), 423 (2010).
7. IAEA, *Application of ion exchange processes for the treatment of radioactive waste and management of spent ion exchangers*, (International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 2002).
8. H. Tavakoli et al. *Recovery of uranium from UCF liquid waste by anion exchange resin CG-400: breakthrough curves, elution behavior and modeling studies*, Ann. Nucl. Energy **54**, 149 (2013).
9. G. Seyrig, *Uranium bioremediation: current knowledge and trends*, Basic Biotechnol. **6**, 19 (2010).

27. W. D. Burgos. *Characterization of uraninite nanoparticles produced by Shewanella oneidensis MR-1*, Geochim. Cosmochim. Ac. **72** (20), 4901 (2008).
28. R. Hungate, *A roll tube method for cultivation of strict anaerobes*, Method. Microbiol. **3**, 117 (1969).
29. O. Levenspiel, *Chemical Reaction Engineering*, (Wiley, New York, 1998).
30. W. Gao and A. J. Francis. *Reduction of uranium (VI) to uranium (IV) by Clostridia*, Appl. Environ. Microb. **74** (14), 4580 (2008).
31. S. K. Guin, A. S. Ambollikar, and J. V. Kamat, *Electrochemistry of actinides on reduced graphene oxide: craving for the simultaneous voltammetric determination of uranium and plutonium in nuclear fuel*, RSC Adv. **5**, 59437 (2015).
32. R. B. Payne et al. *Uranium reduction by Desulfovibrio desulfuricans strain G20 and a cytochrome c3 mutant*, Appl. Environ. Microb. **68** (6), 3129 (2002).
33. J. R. Haas, T. J. Dichristina, and R. Wade, *Thermodynamics of U (VI) sorption onto Shewanella putrefaciens*, Chem. Geol. **180** (1), 33 (2001).
34. P. E. Long, *Technical Basis for Assessing Uranium Bioremediation Performance*, (U.S. Nuclear Regulatory Commission, Richland, WA, 2008).
35. Y. A. Gorby, and D. R. Lovley, *Enzymatic uranium precipitation*, Environ. Sci. Technol. **26** (1), 205 (1992).
36. S. M. Mousavi et al. *Uranium recovery from UCF liquid waste by nanoporous MCM-41: breakthrough capacity and elution behavior studies*, Res. Chem. Intermediat. **39**, 951 (2013).
37. J.-H. Lee, and H.-G. Hur, *Intracellular uranium accumulation by Shewanella sp. HN-41 under the thiosulfate-reducing condition*, J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. **57** (1), 117 (2014).
38. D. L. Cologgi et al. *Extracellular reduction of uranium via Geobacter conductive pili as a protective cellular mechanism*, PNAS **108** (37), 15248 (2011).
39. Y. Suzuki, et al. *Radionuclide contamination: Nanometre-size products of uranium bioreduction*, Nature **419** (6903), 134 (2002).