

Fixed-bed column studies of U(VI) biosorption using *Pseudomonas putida* – Chitosan hybrid biosorbent

Hozhabr Sohbatzadeh¹, Alireza Keshtkar^{*1}, Jaber Safdari¹

1-Materials and Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and
Technology Research Institute

Abstract

Research subject: In the last few years, the application of biotechnology for cleaning-up heavy metal-bearing solution is rapidly growing, but industrial usage of this category, however, needs to be more investigated.

Research approach: In current research, *Pseudomonas putida*–Chitosan hybrid biosorbent capability for U(VI) biosorption in fixed-bed column was investigated.

Main results: The results showed that increase in inlet concentration from 50 to 200 mg/L increased the biosorption capacity from 188.75 to 429.28 mg/g. In the column system, the sorption capacity was higher than that of the batch system because fixed-bed column make best use of the inlet concentration difference as sorption driving force. Decrease in inlet flow rate through increase in the residence time for better diffusion or interaction as well as greater access to binding sites for uranium ions caused an improvement in column performance. Decline in the biosorption capacity due to increase in the inlet flow rate demonstrated that intraparticle diffusion was the rate-controlling step. With decreasing in the sorbent particle size from 1.5 to 1 mm, a significant increase in the biosorption capacity from 179.02 to 296.87 mg/g was achieved. FTIR and potentiometric titration confirmed that while $-NH_3^+$ was the dominant functional group in the chitosan, $-NH_3^+$, $-NH_2$, $-OH$, $-COOH$ were responsible for the hybrid biosorbent. In conclusion, the present study indicated that *Pseudomonas putida* – Chitosan could be a suitable biosorbent for U(VI) biosorption from aqueous solution in the continuous system.

key words

Biosorption
U(VI)
Fixed-bed column
Pseudomonas putida – Chitosan

مطالعات ستون بستر ثابت جذب زیستی اورانیم (VI) توسط جاذب زیستی ترکیبی *Pseudomonas putida* - Chitosan

هژبر صحبت زاده^۱، علیرضا کشتکار^{۱*}، جابر صفدری^۱

۱- پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده مواد و سوخت هسته‌ای

چکیده

در چند سال گذشته، استفاده از زیست فناوری به منظور پاک نمودن محیط‌های آبی از فلزات سنگین به سرعت در حال گسترش می‌باشد، اما به کارگیری صنعتی این مقوله همچنان نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد. در این پژوهش، توانایی جذب-زیستی اورانیم (VI) توسط جاذب ترکیبی *Pseudomonas putida* - Chitosan درون ستون بستر ثابت بررسی شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت خوراک ورودی از ۵۰ تا ۲۰۰ mg/L موجب افزایش ظرفیت جذب از ۱۸۸/۷۶ تا ۴۲۹/۲۸ mg/g می‌شود. به دلیل استفاده حداکثری از اختلاف غلظت خوراک به عنوان نیروی محرکه ی جذب در ستون بستر ثابت، ظرفیت جذب زیستی جاذب درون ستون از مقدار آن در حالت ناپیوسته بیشتر شد. کاهش در دبی جریان ورودی، از طریق افزایش زمان اقامت برای نفوذ یا برهم کنش بهتر و دسترسی بیشتر به جایگاه‌های اتصال برای یون‌های اورانیم، موجب بهبود عملکرد ستون شد. افت ظرفیت جذب زیستی ناشی از افزایش دبی جریان ورودی ثابت کرد که نفوذ درون ذره‌ای، مرحله‌ی کنترل-کننده فرایند جذب است. کاهش در اندازه ذرات جاذب از ۱/۵ به ۱ mm موجب افزایش محسوسی در ظرفیت جذب از ۱۶۷/۰۲ تا ۲۹۶/۸۷ mg/g شد. همچنین با آزمون‌های FTIR و تیتراسیون پتانسیومتری، ثابت شد که NH_4^+ -تنها گروه عاملی فعال در فرایند جذب درون کیتوسان است، در حالی که گروه‌های NH_4^+ ، NH_2 ، OH و COOH - در جاذب ترکیبی فعال هستند. نتایج این مطالعه نشان داد که جاذب ترکیبی حاضر می‌تواند گزینه‌ای مناسب برای جذب اورانیم (VI) از محلول‌های آبی در حالت پیوسته باشد.

کلمات کلیدی

جذب زیستی
اورانیم (VI)
ستون بستر ثابت
Pseudomonas putida - Chitosan

۱ مقدمه

در سال های اخیر، به کارگیری زیست فناوری در زمینه کنترل و حذف آلودگی های ناشی از فلزات در محیط های آبی مورد توجه قرار گرفته است و به تدریج به میحشی داغ در زمینه کنترل آلودگی تبدیل شده است که ناشی از قابلیت های کاربردی آن

است [۱]. از میان روش های مختلف زیستی، ثابت شده است که جذب زیستی (Biosorption)، قابلیت مناسبی برای جایگزین شدن به جای روش های متداول شیمیایی در حذف آلودگی ها دارد [۲]. اخیراً، توجه بر روی زیست توده های باکتریایی به منظور حذف فلزات سنگین از محلول های آبی متمرکز شده است [۳]. باکتری ها به دلیل اندازه ی کوچک، توانایی رشد در محیط کنترل-شده و انعطاف پذیری با طیف گسترده ای از شرایط زیست محیطی، به عنوان گزینه ای مناسب برای جذب زیستی مورد استفاده قرار گرفته اند. باکتری ها دارای غشای پیچیده ای هستند که آن ها را قادر می سازد تا از طریق فراهم کردن بهترین شرایط استخراج مانند نسبت های بالای سطح به حجم و دارا بودن جایگاه های فعال فراوان روی دیواره، به عنوان استخراج کننده گزینشی عمل کنند [۴].

ریزاندام واره های باکتریایی در حالت آزاد دارای مزایایی مانند ظرفیت جذب بالا، دست یابی سریع به حالت پایدار، هزینه پایین عملیات و انتقال جرم خوب ذره ای هستند. ولی به طور معمول، دارای اندازه ذرات کوچک، چگالی کم، مقاومت مکانیکی ضعیف و صلبیت پایین هستند که موجب دشواری عملیات جداسازی جامد-مایع پس از جذب زیستی، امکان تورم و درنهایت ناتوانی در احیا/بازمصرف آن ها در زمان استفاده درون ستون های بستر ثابت می شود [۲، ۵-۷]. ثابت شده است که تثبیت (Immobilization) ریزاندام واره ها درون ماتریس های پلیمری مناسب به عنوان حامل می تواند راه حل موثری برای حل این مشکل باشد [۸]. در میان پلیمرهای طبیعی مختلف و در دسترس، کیتوسان دارای خواص منحصر به فردی مانند فراوانی، سمی نبودن، آب دوستی، زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری، ضدباکتری و ضد میکروبی است که موجب پتانسیل بالای به کارگیری، ایمنی بالا و واکنش پذیری مناسب شیمیایی آن می شود [۹].

جذب زیستی به روش ناپیوسته برای آمایش محلول های آبی در مقیاس بزرگ مناسب نیست و به سامانه پیوسته که جذب زیستی بتواند در آن چندین دوره پشت سرهم جذب/اجذب (Adsorption/Desorption) را داشته باشد، کاربردی تر است [۱۰]. مطالعات جذب زیستی در حالت پیوسته به منظور ارزیابی توجیه فنی هر فرایند برای کاربردهای واقعی، از اهمیت بالایی برخوردار است. از میان شکل بندی های مختلف تماس

دهنده محلول آبی و جاذب قابل استفاده در حالت پیوسته، ستون بستر ثابت برای فرایند جذب زیستی به عنوان گزینه ی موثر، اقتصادی و بسیار مناسب مورد تأیید قرار گرفته است [۱۱]. این نوع ستون ها، بهترین استفاده را از اختلاف غلظت که در واقع، نیرو محرکه جذب است، می برند و اجازه ی بهره برداری بسیار موثر از ظرفیت جاذب را فراهم می کنند. هم چنین، جذب در بستر ثابت دارای مزیت های مهندسی فرایند، مانند بازده بالای عملیاتی و فرایند ساده افزایش مقیاس نیز است [۲].

با توجه به نتایج قبلی به دست آمده توسط گروه نویسندگان در خصوص موفقیت تثبیت سلول های باکتریایی درون ژل دانه های کیتوسان و عملکرد مناسب جاذب زیستی ترکیبی حاصل در جذب زیستی اورانیم از محلول های آبی در حالت ناپیوسته [۱۲] و شناسایی سازوکار فرایند جذب زیستی [۱۳]، هدف اصلی در این پژوهش، بررسی تأثیر مولفه های عملیاتی مهم شامل غلظت اولیه محلول ورودی، ارتفاع بستر، دبی جریان ورودی و اندازه جاذب زیستی بر فرایند جذب زیستی اورانیم درون ستون بستر ثابت توسط جاذب ترکیبی *Pseudomonas putida* - Chitosan بوده است.

۲ روش کار

۲-۱ ریزاندام واره و مواد

باکتری *Pseudomonas Putida* (PTCC1694) به شکل لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی ایران (Persian Type Culture Collection) و پودر کیتوسان (CAS 9012-76-4) با وزن مولکولی متوسط، $DD=85-75\%$ شرکت Sigma Aldrich، (آمریکا) تهیه شد. محلول های آبی، حاوی، آهن، نم نیز از انحلال نمک اورانیل نترات $UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (شرکت مرک) در آب بدون یون تهیه شد. مقادیر pH محلول ها با استفاده از HNO_3 و NaOH یک مولار و به وسیله یک pH متر (مدل ۶۹۱، شرکت Metrohm، کشور سوئیس) تنظیم شد.

۲-۲ محیط کشت

برای احیای باکتری از حالت لیوفیلیزه و کشت آن از محیط کشت نوترینت برات (Nutrient Broth): پپتون، ۵ گرم در لیتر؛ عصاره گوشت (Beef Extract)، ۳ گرم در لیتر؛ و آب مقطر، ۱ لیتر؛ در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، دور همزن rpm ۱۵۰ به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به فاز ساکن با جمعیت سلولی حدود $Cell/8 \times 10^8$ mL استفاده شد. ۴۰ میلی لیتر از محیط کشت در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و دور rpm ۷۰۰۰ سانتریفوژ و دو بار با آب مقطر شستشو

۰/۳ گرم) درون ۵۰ میلی لیتر آب بدون یون تهیه شد. سپس سوسپانسیون درون سامانه تیتراسیون اتوماتیک (Titroprocessor 796, Metrohm) ریخته شد. ضمن ایجاد اختلاط درون سوسپانسیون، دی اکسید کربن محلول درون سوسپانسیون نیز با اعمال جریان گاز آرگون از ۳ ساعت قبل از شروع تیتراسیون تا انتهای آزمایش خارج. پس از آن، سوسپانسیون با محلول HCl ۰/۱ M تا pH=۲/۵ و به صورت معکوس با NaOH ۰/۱ M تا pH=۱۱/۵ تیتر شد. آب بدون یون به عنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت. بعد از هر بار افزودن تیترانته و با در نظر گرفتن نرخ نوسان (Drift Rate) کمتر از ۰/۴ mV/min به عنوان معیار حصول حالت تعادل، مقدار pH سوسپانسیون ثبت شد. از برنامه ProtoFit Version 2.1 برای تحلیل نتایج تیتراسیون استفاده و نتایج حاصل در جدول (۱) ارائه شد.

۲-۵ ارزیابی عملکرد جذب زیستی در ستون بستر ثابت

به منظور بررسی جذب زیستی در حالت پیوسته، آزمایش ها مطابق جدول (۲) و درون ستون بستر ثابت از جنس شیشه با قطر داخلی ۳۰ میلی متر و خوراک دهی از پایین ستون توسط میتترینگ پمپ (مدل 4b/Gamma، شرکت ProMinent، کشور کانادا) مطابق شکل (۱) انجام شد. برای توزیع بهتر جریان ورودی به بستر، در ورودی ستون از دانه های شیشه ای استفاده شد. شرایط عمومی اجرای آزمایش های حالت پیوسته به این صورت بوده است که، آزمایش ها در pH=۵ و در دمای آزمایشگاه انجام شد. خوراک دهی توسط میتترینگ پمپ تا زمان رسیدن به نقطه اشباع بستر و نمونه گیری از جریان خروجی از ستون در فواصل زمانی معین انجام شد. اندازه گیری غلظت اورانیم در نمونه ها به کمک دستگاه طیف سنج نشری اتمی-پلاسمای جفت شده ی القایی (مدل Liberty 150 AX Turbo، شرکت Varian، کشور آمریکا) صورت گرفت. منحنی شکست جذب زیستی اورانیم با ترسیم C_t/C_0 نسبت به t به دست آمد. کل حجم محلول آمایش شده (V_e) از رابطه (۱) و جرم ماده جذب شده درون ستون m_{ad} (mg) با محاسبه مساحت زیر منحنی شکست از طریق رابطه (۲) محاسبه شد [۱۶]:

$$V_e = Q t_e \quad (1)$$

$$m_{ad} = \frac{QA}{1000} = \frac{Q}{1000} \int_{t=0}^{t=t_{total}} C_{ads} dt \quad (2)$$

که در رابطه (۱)، Q (mL/min) و t_e (min) به ترتیب دبی خوراک ورودی به ستون و زمان اشباع شدن

شد. برای به دست آوردن باکتری آمایش شده، باکتری با محلول C_2H_5OH ۶۰٪ به مدت یک ساعت و در دمای اتاق آمایش شد. سپس سلول ها با بافر فسفات شستشو و در نهایت ۴۰ میلی لیتر سوسپانسیون ترکیبی درون آب مقطر به منظور افزودن به محلول کیتوسان تهیه شد [۱۴].

۲-۳ آماده سازی جاذب ها

برای تهیه جاذب ترکیبی، ۲ گرم پودر کیتوسان درون ۶۰ میلی لیتر محلول ۵٪ حجمی اسید استیک اضافه شده و با اعمال اختلاط، اجازه داده شد تا کل کیتوسان درون محلول اسیدی حل شود. به منظور انحلال کامل کیتوسان، عمل اختلاط به مدت یک شب اعمال شد. پس از انحلال کامل کیتوسان، ۴۰ میلی لیتر سوسپانسیون حاوی سلول ها به محلول اضافه و تا دستیابی به محلول کاملاً همگن، اختلاط ادامه پیدا کرد. سپس محلول با سرنگ به صورت قطره ای درون محلول ۰/۵ مولار NaOH چکانده شد. برای جلوگیری از چسبیدن ژل دانه ها، درون محلول اختلاط اعمال شد. همچنین برای استحکام مکانیکی ژل دانه ها اجازه داده شد تا آن ها حداقل نیم ساعت درون محلول بازی باقی بمانند. ژل دانه ها سپس از محلول بازی خارج و با آب مقطر شستشو داده شد تا تمام هیدروکسید سدیم آن حذف شود. سپس ژل دانه ها در دمای اتاق خشک شدند. برای سنتز ژل دانه کیتوسان فاقد باکتری، مرحله افزودن سوسپانسیون باکتری حذف شد [۱۵].

۲-۴ مشخصه یابی جاذب زیستی

به منظور بررسی کیفی طبیعت جایگاه های اتصال و گروه های عاملی حاضر بر روی سطح کیتوسان، بررسی تأثیر تثبیت سلول های باکتریایی درون جاذب ترکیبی و نیز گروه های عاملی درگیر در جذب زیستی اورانیم، جاذب های زیستی تهیه شده با استفاده از آزمون FTIR مورد تحلیل قرار گرفت. آزمون FTIR با استفاده از طیف نگار مدل (Bruker, VECTOR-22) با دقت 4 cm^{-1} و در محدوده 4000 و 1400 cm^{-1} انجام شد.

علاوه بر این، از تیتراسیون پتانسیومتری به منظور تأیید و بررسی مضاعف نتایج آزمون FTIR و نیز کسب اطلاعات تکمیلی در خصوص جایگاه های اتصال یون ها روی سطح جاذب ترکیبی استفاده شد. از داده های تیتراسیون پتانسیومتری برای شناسایی ثوابت اسیدیته (Acidity Constants-pKa) و چگالی گروه های عاملی معینی که بر روی سطح جاذب حضور دارند، استفاده شد. برای تیتراسیون پتانسیومتری، سوسپانسیونی از مقدار مشخصی از جاذب ترکیبی

سازی قرار گرفت [۱۲].

۳ نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از آزمون FTIR در شکل (۲)، آزمون تیتراسیون پتانسیومتری در جدول (۱) و جذب تک جزیی اورانیوم در جدول (۲) آورده شده است. در این جدول، t_b و t_e به ترتیب زمان شکست و زمان اشباع، q_b و q_e به ترتیب ظرفیت جذب در نقطه شکست و اشباع و V_e حجم محلول آمیخته شده است. در این تحقیق، زمانی که غلظت در جریان خروجی از ستون به ۵٪ غلظت در جریان ورودی برسد، به عنوان زمان شکست و زمان اشباع برابر با زمانی که غلظت در جریان خروجی از ستون به ۹۰٪ غلظت در جریان ورودی برسد، در نظر گرفته شد.

۳-۱ مشخصه یابی جاذب های زیستی

آزمون FTIR برای شناسایی گروه های عاملی موجود در سطح جاذب های زیستی که قادر به شرکت در اتصال به یون های فلزی هستند مورد استفاده قرار گرفت. به طوری که تغییر در شدت و فرکانس

ستون و در رابطه (۲)، t_{total} (min) کل زمان خوراک دهی و A مساحت زیر منحنی شکست است.

ظرفیت جذب تعادلی $q_{e(exp)}$ (mg/g) از رابطه (۳)، کل مقدار ماده جذب شونده عبوری از درون ستون W_{total} (mg) به صورت رابطه (۴) و درصد ماده ی جذب شده به کل مقدار ماده جذب شونده عبوری از درون ستون (بازده حذف) نیز از رابطه (۵) تعیین شد:

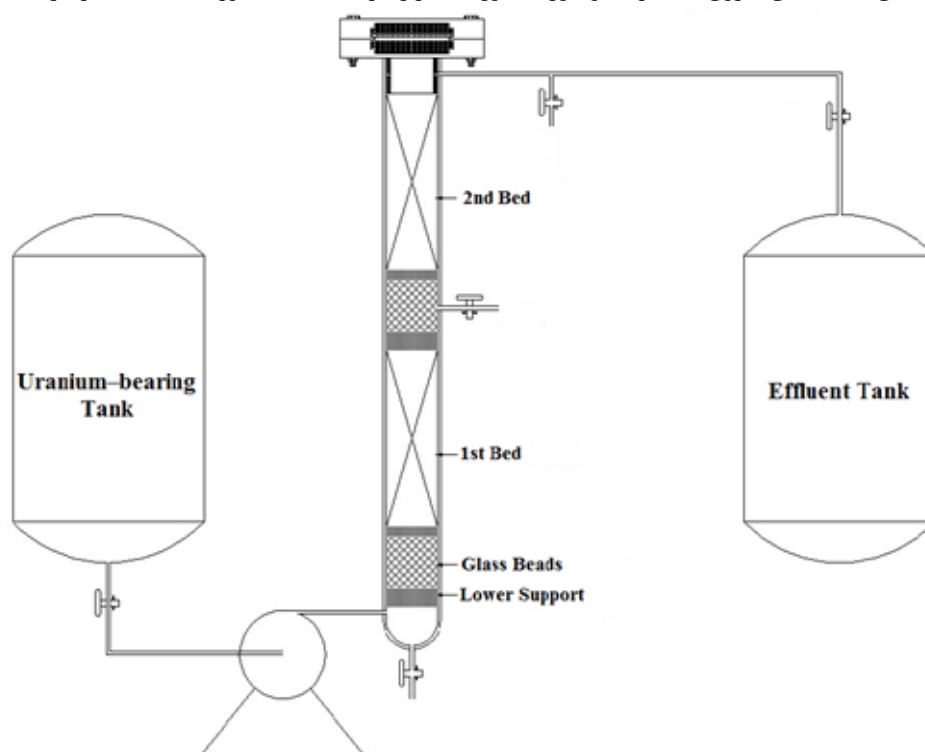
$$q_{e(exp)} = \frac{m_{ad}}{m} \quad (3)$$

$$W_{total} = \frac{C_0 Q t_{total}}{1000} \quad (4)$$

$$R\% = \frac{m_{ad}}{W_{total}} \times 100 \quad (5)$$

که در رابطه (۳)، m (g) جرم جاذب ترکیبی بارگذاری شده درون ستون است.

همچنین آزمایش های ناپیوسته انجام شده در کار قبلی گروه نویسندگان درون ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی لیتر حاوی ۱۰۰ میلی-لیتر محلول اورانیوم دار انجام شد. مخلوط تا رسیدن به تعادل، درون شیکر-انکوباتور با دور

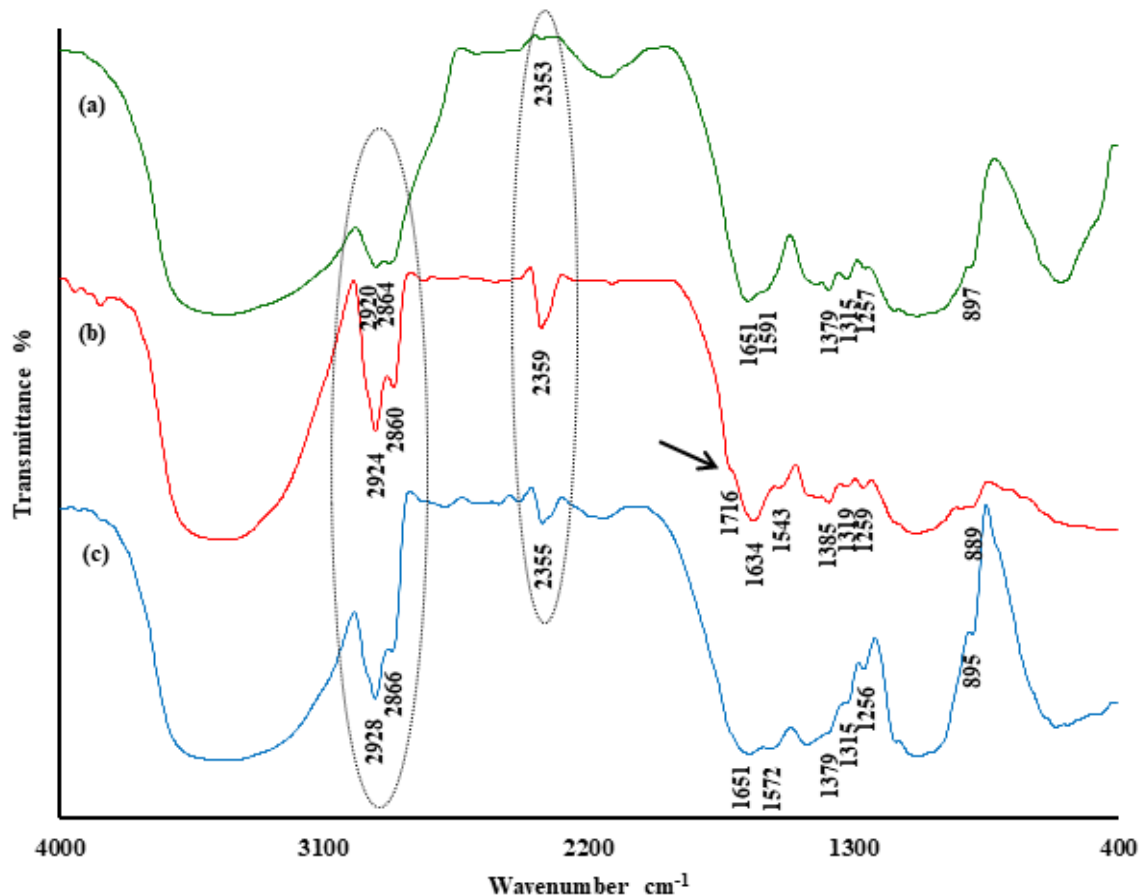


شکل ۱ طرح واره ستون بستر ثابت استفاده شده در آزمایش های جذب زیستی پیوسته

Fig. 1. Schematic of the fixed-bed column setup used in the continuous biosorption experiments

همزن ۱۵۰ rpm و در دمای آزمایشگاه انجام گرفت. در آن آزمایش ها، تأثیر مولفه های عملیاتی غلظت اولیه محلول، مقدار pH اولیه محلول، دُز جاذب و درصد وزنی باکتری درون جاذب زیستی مورد بررسی و بهینه

هر قله، مشارکت آن گروه عاملی در فرایند جذب را نشان می دهد. طیف های FTIR در محدوده cm^{-1} ۴۰۰-۴۰۰۰ برای سه جاذب زیستی: کیتوسان، جاذب ترکیبی قبل از جذب و جاذب ترکیبی بعد از جذب



شکل ۲ طیف های FTIR جاذب های زیستی (a) کیتوسان؛ (b) جاذب ترکیبی قبل از جذب زیستی؛ و (c) جاذب ترکیبی بعد از جذب-زیستی
 Fig. 2. FTIR spectra of biosorbents (a) chitosan; (b) the hybrid biosorbent before biosorption; and (c) the hybrid biosorbent after biosorption

کیتوسان، در طیف جاذب ترکیبی (شکل ۲) قسمت (b)) تغییراتی به صورت ظاهر شدن قله جدید هم زمان با تغییراتی در طول موج ها و شدت برخی قله ها مشاهده شد. شدت قله ها در 2920 ، 2864 و cm^{-1} 1651 ضمن افزایش، به ترتیب به مقادیر 2924 ، 2860 و 1634 cm^{-1} منتقل شدند. علاوه بر این، شدت پیوند $C=O$ [۳] می باشند، افزایش پیدا کرد. تغییرات فوق ثابت کرد که فرایند تثبیت، از طریق واکنش شیمیایی صورت می گیرد و گروه های عاملی هیدروکسیل، آمین و کربوکسیل درون جاذب ترکیبی حضور داشته اند.

طیف FTIR برای جاذب ترکیبی بعد از جذب زیستی اورانیم نیز در شکل (۲) قسمت (c) نشان داده شده است. در مقایسه با طیف شکل (۲) قسمت (b)، قله در 1716 cm^{-1} ناپدید و از شدت پیوند عریض $3200-3600$ cm^{-1} کاسته شد در حالی که شدت قله ها در 2924 ، 2860 ، 2359 و 1634 cm^{-1} ضمن کاهش به ترتیب به 2928 ، 2866 ، 2355 و 1651 cm^{-1} منتقل شدند. مجموع

اورانیم به ترتیب در شکل (۲) نشان داده شده اند. برای کیتوسان در شکل (۲) قسمت (a)، پیوند عریض و قوی در محدوده ی $3200-3600$ cm^{-1} ارتعاش کششی گروه های هیدروژن پیوندی در $-OH$ ، ارتعاش زیاد $-NH$ و پیوندهای درون مولکولی هیدروژن پلی ساکراید را نشان داد [۱۷]. قله های 2920 و 2864 cm^{-1} به ارتعاش های کششی متقارن و نامتقارن ساختارهای آلیفاتیکمانند $-CH_2$ و $-CH_2-CH_2-$ گروه های متیل نسبت داده شدند [۱۷، ۱۸]. وجود اثر در 1651 cm^{-1} مربوط به آمید شناخته شد [۱۹]. در حالی که قله در 1591 cm^{-1} مربوط به خمیدگی $-NH_2$ شناخته شد که به این مسئله اشاره دارد که کیتوسان دارای درجه بالایی از استیل زدایی (Deacetylation) بوده است [۲۰]. قله 1379 cm^{-1} به طریقه تغییر شکل متقارن $-CH_3$ منتسب شد [۱۹]. قله در 1315 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی $C-N$ دانسته شد [۱۸]. در حالی که قله در 1257 cm^{-1} از ارتعاش کششی $-OH$ ناشی شده بود [۲۱]. قله در 897 cm^{-1} نیز می توانست از ارتعاش متقارن حلقوی خارج از فاز ناشی شود [۱۷]. پس از به دام اندازی سلول های باکتریایی درون

جدول ۱ گروه های عاملی سطحی و غلظت های تعیین شده با استفاده از تیتراسیون پتانسیومتری

Table 1. Surface functional groups and their concentration evaluated with potentiometric titrations

داده های ProtoFit V 2.1

کیتوسان		جاذب ترکیبی		نوع جاذب
pKa	غلظت (meq/g)	pKa	غلظت (meq/g)	گروه عاملی
6.57±0.40	4.78±0.12	6.35±0.07	3.42±0.17	آمین پروتونه شده
-	-	11.00±0.01	2.58±0.06	آمین / هیدروکسیل آزاد
	4.78±0.11		6.00±0.11	کل

تغییرات طیف FTIR جاذب ترکیبی قبل و بعد از جذب، آمین و کربوکسیل را در جذب زیستی اورانیم تأیید کرد. نقش مهم تمامی گروه های عاملی شامل هیدروکسیل، در تکمیل مشخصه یابی جاذب های زیستی، تیتراسیون

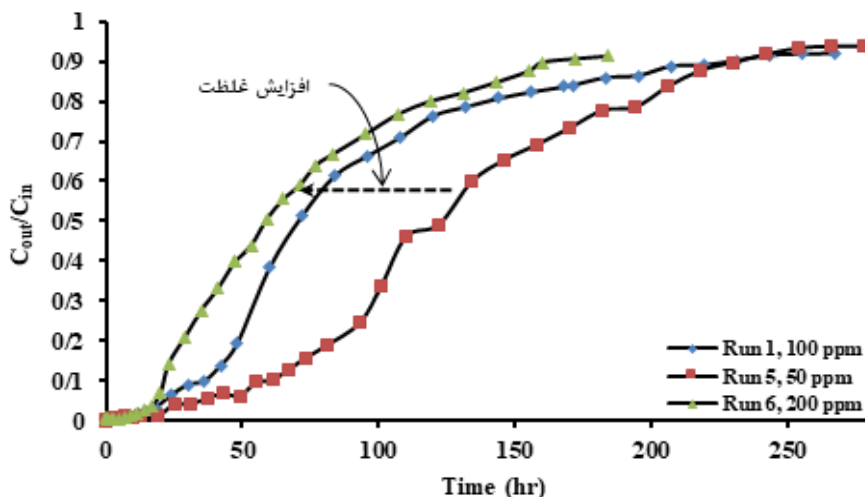
جدول ۲ مولفه های عملیاتی و نتایج جذب زیستی اورانیم درون ستون

Table 2. The operational parameters and uranium biosorption results in fixed-bed column

7	6	5	4	3	2	1	(واحد) نشانه	مولفه
100	200	50	100	100	100	100	Cin (mg/L)	غلظت ورودی
4	4	4	8	8	4	4	Q (mL/min)	دبی ورودی
5	5	5	10	5	10	5	H (cm)	ارتفاع بستر
1.5	1	1	1	1	1	1	Dp (mm)	قطر ذره
0.47	0.45	0.45	0.44	0.45	0.44	0.45	ϵ_b (-)	تخلخل بستر
0.0225	0.0225	0.0225	0.0225	0.0225	0.0225	0.0225	ϵ_p (-)	تخلخل جاذب
8.84	8.84	8.84	8.84	4.42	17.68	8.84	HRT (min)	زمان ماند
8.20	8.35	8.35	17	8.35	17	8.35	W (g)	جرم جاذب
10	19	34	28	0	87	21	t_b (hr)	زمان شکست
36.07	123.55	54.92	95.93	0	181.19	80.37	q_b (mg/g)	ظرفیت شکست
196	172	242	194	162	327	231	t_e (hr)	زمان اشباع
167.02	429.28	188.76	312.39	266.07	341.88	296.87	q_e (mg/g)	ظرفیت تعادلی
47.04	41.28	58.08	93.12	77.76	78.48	55.44	V_e (L)	حجم آمایش شده
29.11	43.42	54.28	57.03	28.57	74.06	44.71	R% (-)	بازده حذف

آمین پروتونه شده است. علاوه بر این، حضور گروه های فسفات پیش از این در نتایج FTIR نیز گزارش نشده بود. هم چنین، $pK_a = 11$ مربوط به گروه های آمین/هیدروکسیل ($-OH/-NH_3$) به شکل آزاد است که عمدتاً ناشی از سلول های باکتریایی است [۲۶]. کل چگالی (غلظت) جایگاه های فعال در کیتوسان و جذب ترکیبی به ترتیب $4/78 \text{ meq/g}$ و $6/0 \text{ meq/g}$ برآورد شد. علاوه بر این، چگالی جایگاه های آمین/هیدروکسیل آزاد قابل مقایسه با جایگاه های آمین پروتونه شده درون جذب ترکیبی بود (جدول (۱)). لذا ثابت شد که تثبیت موجب افزایش در چگالی جایگاه های اتصال فلزی به دلیل حضور گروه های عاملی متعدد در سلول های باکتریایی می شود. در مقایسه با کیتوسان، بهبود ظرفیت جذب جذب ترکیبی [۱۲] می تواند ناشی از همین افزایش در چگالی جایگاه های اتصال باشد.

پتانسیومتری برای تأیید آزمون FTIR و هم چنین ارائه اطلاعات دقیق تر از جایگاه های اتصال جاذب های زیستی انجام شد. برای این منظور، غلظت گروه های عاملی مهم و ثابت دیپروتونه شدن اسیدی برای هر یک از جایگاه های اتصال جهت تخمین میزان جذب فلز توسط جاذب زیستی باید شناسایی شود [۲۳]. داده های آزمایشگاهی به دست آمده از تیتراسیون پتانسیومتری کیتوسان و جاذب ترکیبی با استفاده از برنامه ProtoFit Version 2.1 مورد تحلیل قرار گرفت و pK_a و مقادیر چگالی جایگاه ها برای هر دو جاذب زیستی در جدول (۱) گردآوری شد. همان طور که در این جدول آورده شده است، کیتوسان تنها دارای یک pK_a در $6/57$ بود که مربوط به گروه های آمین پروتونه شده ($-NH_3^+$) است که از مرحله تهیه ژل دانه (رابطه (۶)) به دست آمده است. این نتایج ثابت کرد که غلظت آمین آزاد ($-NH_3$) در کیتوسان در مقایسه با نوع پروتونه شده آن قابل صرف نظر است. طبق



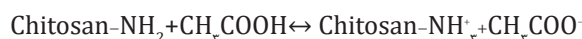
شکل ۳ تأثیر غلظت ورودی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/L) بر منحنی شکست (pH=۵، دبی جریان ۴ mL/min، ارتفاع بستر ۵ cm و اندازه جاذب ۱ mm)
Fig. 3. Effect of inlet concentration (100, 50 and 200 mg/L) on the breakthrough curve (pH 5, inlet flow rate 4 mL/min, bed height 5 cm and biosorbent size 1 mm)

۳-۲ تأثیر غلظت خوراک ورودی بر منحنی شکست

منحنی های شکست برای سه مقدار متفاوت از غلظت جریان خوراک ورودی به ستون (آزمایش های ۱، ۵ و ۶ در جدول (۲) و شکل (۳)) نشان داده شده است. از روی منحنی های شکست مشخص شد که افزایش غلظت جریان ورودی موجب وقوع زودتر زمان شکست شد. لذا، تأخیر در نقطه شکست و متعاقباً افزایش حجم محلول آمایش شده و مدت زمان سرویس دهی در غلظت های پایین تر مشاهده شد (جدول (۲)).

همان طور که پیش بینی می شد و در جدول (۲) نیز آورده شده است، افزایش غلظت جریان ورودی به صورت مستقیم با ظرفیت جذب زیستی جاذب در نقاط

مطالعات قبلی انجام شده [۲۴]، وجود گروه های آمین پروتونه شده در کیتوسان تأیید شده است.
(۶)



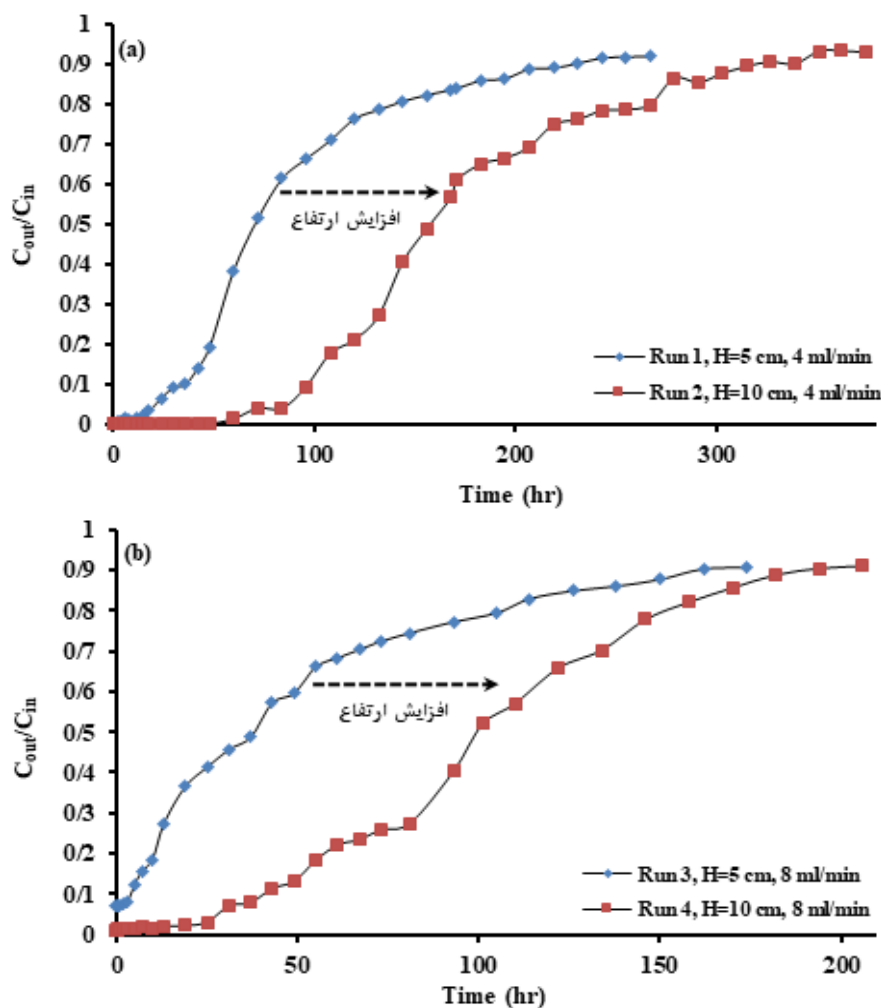
اما برای جاذب ترکیبی، دو مقدار pK_a متمایز و به ترتیب در $6/35$ و 11 شناسایی شد. مقادیر در محدوده $(pK_a 6,1-6,8)$ به گروه های فسفات و در محدوده های $(pK_a 8-11)$ و $(pK_a 9,5-13)$ به ترتیب به گروه های آمین و هیدروکسیل می توانند نسبت داده شوند [۲۵]. اما به دلیل غلظت پایین گروه های فسفات در سلول های باکتریایی [۲۶] تثبیت شده درون این جاذب، مقدار $pK_a = 6/35$ عمدتاً مربوط به گروه های

در داخل این حفره های جاذب شوند [۲۸]. بنابراین در مواردی که هدف، به کارگیری حداکثری از توان جاذب مدنظر باشد، افزایش غلظت می تواند انتخابی درست باشد. اما چنانچه هدف، آمایش هر چه بیشتر محلول های آلوده به فلزات و جنبه های زیست محیطی مدنظر باشد، عملیات در غلظت های پایین تر مناسب خواهد بود [۲۹، ۳۰].

ظرفیت جذب زیستی این جاذب زیستی در حالت ناپیوسته و در شرایط بهینه (pH=۵ و دُز جاذب ۶/۹۶ g/L) برای غلظت های اولیه ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/L به ترتیب برابر با ۳۶/۴۹، ۱۰۶/۰۳ و ۲۳۳/۴۷ mg/g بوده است [۱۲] که در مقایسه با جاذب های دیگر، از توانایی بالایی برای جذب زیستی اورانیم برخوردار بود. در حالی که در حالت پیوسته، این مقادیر به ترتیب ۱۸۸/۷۶، ۲۹۶/۸۷ و ۴۲۹/۲۸ mg/g بوده است که نشان دهنده این موضوع است که ستون های بستر ثابت بهترین استفاده را از اختلاف غلظت که در واقع، نیروی

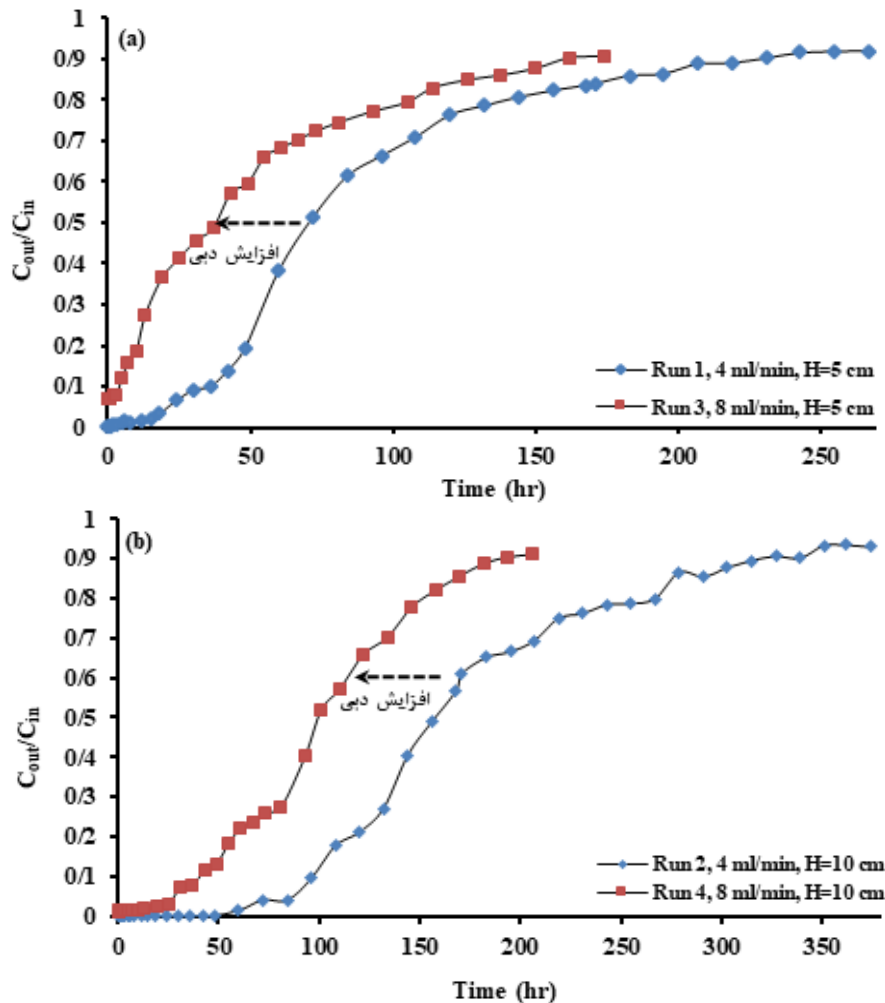
شکست و اشباع متناسب است. این رفتار به افزایش نیروی محرکه (اختلاف غلظتی یا انتقال جرمی) برای فرایند نسبت داده شده است [۲۷، ۲۸]، به طوری که در اثر افزایش غلظت جریان ورودی از ۵۰ به ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/L، به ترتیب ۵۷/۲۷٪ و ۱۲۷/۴۲٪ افزایش در ظرفیت جذب زیستی تعادلی حاصل شد.

با وجود بهبود ظرفیت جذب زیستی و برخلاف انتظارها، افزایش در غلظت جریان ورودی موجب کاهش ظرفیت حجمی ستون از ۶/۹۶ L/g جاذب برای غلظت ورودی ۵۰ mg/L به ۶/۶۴ و ۴/۹۴ L/g به ترتیب برای غلظت های ورودی ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/L شده و کاهش میزان پهن شدگی منحنی شکست و افت بازده حذف را به همراه داشت. این پدیده به این شکل قابل تفسیر است که، مولکول های اورانیم در غلظت های بالاتر می توانند به صورت متراکم درآمده و ضمن انسداد سطح و حفره های جاذب، موجب غیرقابل دسترس و متعاقباً غیرقابل استفاده شدن جایگاه های فعال موجود



شکل ۴ تأثیر ارتفاع بستر (۵ و ۱۰ cm) بر منحنی شکست (a) دبی جریان ورودی ۴ mL/min؛ و (b) دبی جریان ورودی ۸ mL/min (pH=۵، غلظت ورودی ۱۰۰ mg/L و اندازه جاذب ۱ mm)

Fig. 4. Effect of bed height (5 and 10 cm) on the breakthrough curve (a) inlet flow rate 4 mL/min; and (b) inlet flow rate 8 mL/min (pH 5, inlet concentration 100 mg/L and biosorbent size 1 mm)



شکل ۵ تأثیر دبی جریان ورودی (۴ و ۸ mL/min) بر منحنی شکست (a) ارتفاع بستر ۵ cm و (b) ارتفاع بستر ۱۰ cm (pH=۵، غلظت ورودی ۱۰۰ mg/L و اندازه جاذب ۱ mm)

Fig. 5. Effect of inlet flow rate (4 and 8 mL/min) on the breakthrough curve (a) bed height 5 cm; and (b) bed height 10 cm (pH 5, inlet concentration 100 mg/L and biosorbent size 1 mm)

در نتیجه ی افزایش ارتفاع بستر، ظرفیت جذب زیستی در شکل (۴) قسمت (a) از ۲۹۶/۸۷ به ۳۴۱/۸۸ mg/g و در شکل (۴) قسمت (b) از ۲۶۶/۰۷ به ۳۱۲/۳۹ mg/g افزایش پیدا کرد.

هم چنین بهبود موثر بازده حذف که نشان دهنده کاهش چشمگیر غلظت اورانیوم در محلول خروجی است، استفاده از ستون-هایی با ارتفاع بستر بلندتر را کاملاً توجیه پذیر می کند. این بهبود عملکرد می تواند به طور هم زمان ناشی از زمان اقامت کافی یون های اورانیوم برای نفوذ یا برهم کنش با جاذب زیستی در ناحیه جذب ستون و در دسترس بودن تعداد بیشتری از جایگاه-های اتصال جاذب زیستی برای یون های اورانیوم باشد [۱۲، ۲۸، ۳۱].

۳-۴ تأثیر دبی خوراک ورودی بر منحنی شکست

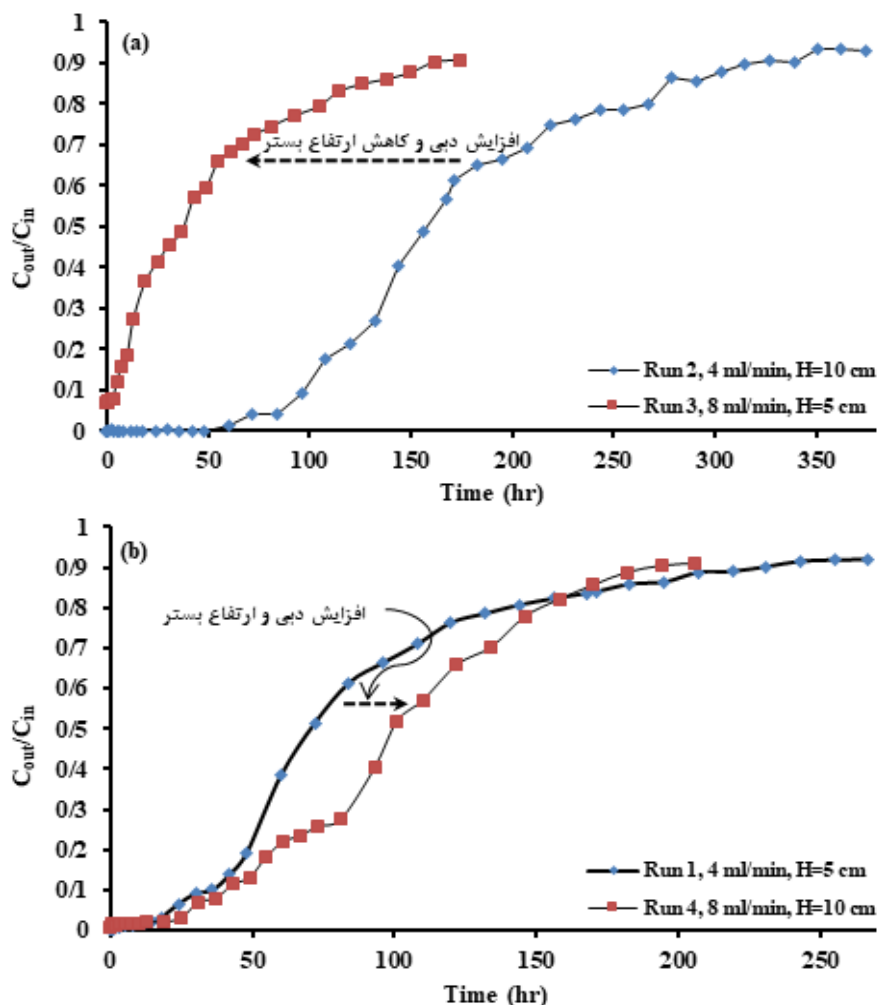
نتایج آزمایش های مربوط به تأثیر دبی جریان خوراک

محرکه جذب است، می برند و اجازه ی بهره برداری بسیار موثر از ظرفیت جاذب را فراهم می کنند [۲].

۳-۳ تأثیر ارتفاع بستر بر منحنی شکست

تأثیر تغییر ارتفاع بستر بر جذب زیستی اورانیوم در دو دبی خوراک ورودی مختلف (آزمایش های ۱ و ۲ در دبی ۴ mL/min و آزمایش های ۳ و ۴ در دبی ۸ mL/min) مورد بررسی قرار گرفت که نتایج در شکل (۴) آورده شده است.

مشخص شد که تمامی منحنی های شکست دارای قالب مشابهی هستند. اما، پس از نقطه شکست و برای ستون هایی با ارتفاع بیشتر (جرم بیشتر جاذب بارگذاری شده درون ستون در دبی خوراک ورودی یکسان) از میزان شیب منحنی شکست کاسته شد. تأخیر در ترم های زمان های شکست و اشباع و هم چنین افزایش میزان حجم محلول آمایش شده و مدت زمان سرویس دهی در ستون هایی با ارتفاع بستر بلندتر، محقق شد.



شکل ۶ تأثیر تغییر هم زمان دبی جریان ورودی و ارتفاع بستر بر منحنی شکست (a) افزایش دبی جریان ورودی (از ۴ به ۸ mL/min) و کاهش ارتفاع بستر (از ۱۰ به ۵ cm)، (b) افزایش دبی جریان ورودی (از ۴ به ۸ mL/min) و افزایش ارتفاع بستر ثابت (از ۵ به ۱۰ cm): pH=۵، غلظت ورودی ۱۰۰ mg/L و اندازه جاذب ۱ mm

Fig. 6. Effects of simultaneous changes of inlet flow rate and bed height on the breakthrough curve (a) increase in inlet flow rate (from 4 to 8 mL/min) and decrease in bed height (from 10 to 5 cm); and (b) increase in inlet flow rate (from 4 to 8 mL/min) and increase in bed height (from 5 to 10 cm) (pH 5, inlet concentration 100 mg/L and biosorbent size 1 mm)

نتایج به دست آمده، لازم است تا ابتدا تأثیر افزایش دبی بر دو مولفه شامل انتقال جرم خارجی و زمان ماند (Residence Time) معرفی شود. افزایش دبی جریان ورودی به ستون، موجب کاهش ضخامت فیلم مایع اطراف ذرات جاذب زیستی می شود که منجر به کاهش مقاومت انتقال جرم خارجی فرایند می شود (تأثیر مثبت بر فرایند). همچنین افزایش دبی جریان ورودی به ستون، موجب کاهش زمان ماند فرایند می شود که منجر به کاهش مدت زمان باقی ماندن یون های اورانیم در حالت تماس و برهم کنش با ذرات جاذب می شود

به طوری که یون های اورانیم فرصت کمی برای نفوذ به درون جایگاه های فعال یا حفرات از طریق نفوذ درون ذره ای (Intraparticle Diffusion) خواهند داشت (تأثیر منفی بر فرایند). به طور کلی، چنانچه

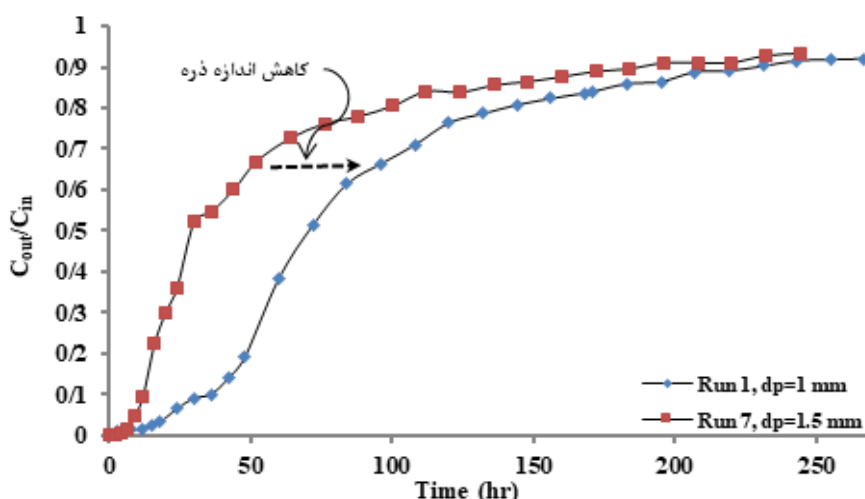
ورودی به ستون برای دو ارتفاع بستر مختلف (آزمایش های ۱ و ۳ در ارتفاع بستر ۵ cm و آزمایش های ۲ و ۴ در ارتفاع بستر ۱۰ cm) در شکل (۵) نشان داده شده و نتایج تحلیل منحنی ها در جدول (۲) آورده شده است. مشخص شد که در هر دو ارتفاع بستر، افزایش دبی جریان خوراک ورودی موجب افزایش شیب منحنی شکست و جابجایی آن ها به سمت مبدأ شده است. لذا، افزایش دبی خوراک ورودی باعث کاهش در زمان و ظرفیت نقطه شکست، زمان و ظرفیت نقطه اشباع ستون، حجم محلول آمایش شده و مدت زمان سرویس دهی ستون شده است.

در نتیجه ی افزایش دبی جریان خوراک ورودی، ظرفیت جذب زیستی ستون در شکل (۵) قسمت (a) از ۲۹۶/۸۷ به ۳۴۱/۸۸ mg/g و در شکل (۵) قسمت (b) از ۳۱۲/۳۹ به ۳۴۱/۸۸ mg/g کاهش پیدا کرد. به منظور تحلیل

هم چنین، در شکل (۶) قسمت (b) تأثیر افزایش هم زمان دبی جریان ورودی و ارتفاع بستر بر منحنی شکست آورده شده است. در این حالت، افزایش دبی و ارتفاع بستر به گونه ای تنظیم شده است که زمان ماند درون ستون برای هر دو آزمایش یکسان بوده است. به طوری که مشخص است، این افزایش ها موجب بهبود نسبی در عملکرد ستون شده است. این بهبود نسبی می تواند ناشی از تأثیر چندین عامل شامل، در دسترس بودن مقدار بیشتری از جایگاه های اتصال جاذب زیستی در اثر افزایش ارتفاع بستر [۲۸]، یا کاهش نسبی در مقاومت انتقال جرم خارجی و بهبود نرخ انتقال جرم خارجی در اثر افزایش دبی جریان [۱۲] یا بهبود در مشخصات پراکندگی محوری (Axial Dispersion) جریان در اثر افزایش ارتفاع بستر [۲۷] یا ترکیبی از آن ها باشد.

۵-۳ تأثیر اندازه ذرات جاذب زیستی بر منحنی شکست
نتایج آزمایش های مربوط به تأثیر اندازه ذرات جاذب

فرایند توسط انتقال جرم خارجی کنترل شود، افزایش دبی جریان موجب کاهش مقاومت کل و بهبود فرایند می شود در حالی که اگر فرایند توسط انتقال جرم داخلی کنترل شود، کاهش دبی جریان برای جذب زیستی در ستون مطلوب است [۱۲]. این که کدام یک از دو تأثیر متضاد حاصل از افزایش دبی جریان خوراک ورودی غالب است، از نتایج تجربی قابل شناسایی است. بررسی نتایج گزارش شده ی بالا نشان داد که با افزایش دبی، ظرفیت جذب زیستی ستون کاهش پیدا کرده است. لذا کاهش زمان ماند عامل غالب است و جذب زیستی یون های اورانیم توسط مرحله انتقال جرم داخلی (نفوذ درون ذره ای) کنترل شده است و نقش کم رنگ کنترل فرایند توسط انتقال جرم خارجی تأیید شده است [۳۱]. میتوان از طریق افزایش میزان تخلخل جاذب و کاهش طول مسیر نفوذ درون جاذب (کاهش اندازه ذرات جاذب) میزان مقاومت درون ذره ای را کاهش داد [۳۲، ۳۳]. در مطالعات مربوط به هیدرودینامیک ستون، مدت



شکل ۷ تأثیر اندازه جاذب زیستی (۱ و ۱/۵ mm) بر منحنی شکست (غلظت ورودی ۱۰۰ mg/L، دبی جریان ورودی ۴ mL/min و ارتفاع بستر ۵ cm)

Fig. 7. Effect of biosorbent size (1 and 1/5 mm) on the breakthrough curve (pH 1.5 and 1, inlet concentration 100 mg/L, inlet flow rate 4 mL/min and bed height 5 cm)

زیستی (آزمایش های ۱ و ۷) در شکل (۷) نشان داده شده است، و نتایج تحلیل منحنی شکست نیز در جدول (۲) آورده شده است. مشخص شد که اندازه ذره می تواند تأثیری بزرگ بر مولفه های عملیاتی فرایند درون ستون داشته باشد. به طوری که کاهش اندازه ذرات، موجب جابجایی منحنی شکست به سمت راست و بهبود عملکرد ستون شده است. در نتیجه ی کاهش ۳۳٪ در اندازه ذرات، ظرفیت جذب زیستی با افزایشی بیش از ۷۷٪ از ۱۶۷/۰۲ به ۲۹۶/۸۷ mg/g افزایش پیدا کرد که بیانگر تأثیر معنی دار اندازه ذرات بر فرایند جذب است. ذرات کوچک تر

زمان تماس بین فازهای مایع و جامد مولفه ای بسیار مهم است که توسط دبی جریان خوراک ورودی و ارتفاع بستر قابل تنظیم است. در شکل (۶) قسمت (a) مشخص شد که، افزایش دبی جریان خوراک و کاهش ارتفاع بستر (به صورت هم زمان)، موجب کاهش مضاعف زمان اقامت درون ستون می شود، در چنین شرایطی جاذب زیستی به دلیل زمان تماس کوتاه تر، کم تر اشباع می شود [۳۱]. بنابراین، کاهش زمان ماند از ۱۷/۶۸ در آزمایش ۲ به ۴/۴۲ min در آزمایش ۳، موجب کاهش شدید تمامی مولفه ها مانند زمان ها و ظرفیت های شکست و اشباع شده است.

• دستیابی به مقادیر بالای بازده حذف (۷۴/۰۶) و ظرفیت جذب زیستی (۴۲۹/۲۸ mg/g)، به کارگیری ستون هایی با ارتفاع بستر بلندتر را که موجب افزایش زمان ماند، تعداد جایگاه های اتصال و استفاده حداکثری از غلظت به عنوان نیروی محرکه جذب می شود، کاملاً توجیه پذیر کرد.

• بهبود ظرفیت جذب زیستی در اثر کاهش دبی جریان ورودی ثابت کرد که تأثیر مثبت افزایش زمان ماند ناشی از کم شدن دبی جریان، بیشتر از تأثیر منفی افزایش مقاومت انتقال جرمی فیلم مایع اطراف جاذب زیستی بوده است. لذا نفوذ درون ذره ای، مرحله کنترل کننده ی فرایند بود.

• با کاهش ۳۳٪ در اندازه ذرات، ظرفیت جذب زیستی بیش از ۷۷٪ افزایش پیدا کرد که تأیید کننده تأثیر بالای اندازه ذرات بر فرایند است. ثابت شد که کاهش اندازه ذرات، به دو روش کاهش ضخامت لایه موثر انتقال جرم خارجی و کوتاه تر شدن مسیر نفوذ درون ذره ای به صورت هم زمان منجر به کاهش مقاومت کلی انتقال جرم می شود. همچنین کاهش اندازه ذرات، از طریق افزایش سطح تماس و جایگاه های اتصال به ازای واحد جرم جاذب موجب بهبود تمامی مولفه های عملیاتی ستون شد.

• آزمون های FTIR و تیتراسیون ثابت کرد که جاذب ترکیبی به دلیل برخورداری از گروه های عاملی متنوع تر و چگالی جایگاه های اتصال بیشتر نسبت به کیتوسان، گزینه ای بهتر برای فرایند جذب زیستی اورانیم است.

دارای سطح تماس بیشتری هستند که متعاقباً جایگاه های اتصال بیشتری را به ازای واحد جرم خود در دسترس قرار می دهند. لذا انتظار می رود که ضمن افزایش ظرفیت جذب، زمان رسیدن به حالت اشباع در آن ها طولانی تر باشد. تأثیر زیاد اندازه ذره یک بار دیگر نقش مهم سازوکار نفوذ درون ذره ای بر عملکرد ستون تأیید کرد. به طوری که با کاهش اندازه ذرات، دو عامل، یکی کاهش ضخامت لایه موثر انتقال جرم خارجی و دیگری کوتاه تر شدن مسیر نفوذ درون ذره ای به صورت هم زمان منجر به کاهش مقاومت کلی انتقال جرم می شود [۳۱، ۳۴].

۴ نتیجه گیری

هدف پژوهش حاضر بررسی عملکرد جاذب زیستی ترکیبی *Pseudomonas putida* - Chitosan در جذب زیستی اورانیم از محلول های آبی در حالت پیوسته بود. یافته های ما نشان داد که تثبیت ریز اندام واره هایی با قابلیت مناسب در جذب فلزات سنگین درون ژل دانه ها می تواند به شکلی موثر برای حذف یون های فلزی درون ستون های بستر ثابت مورد استفاده قرار گیرد. نتایج مهم حاصل از مطالعه حاضر به شرح زیر است:

• افزایش غلظت جریان ورودی از ۵۰ تا ۲۰۰ mg/L، موجب افزایش ۱۲۷/۴۲٪ ظرفیت جذب زیستی شد. این مولفه از طریق افزایش نیروی محرکه، موجب بهبود ظرفیت جذب زیستی شد اما سایر مولفه های عملیاتی مانند مدت زمان سرویس دهی، حجم محلول آمایش شده و بازده حذف دچار افت شدند.

مراجع

- [1] Hayati B., Maleki A., Najafi F., Gharibi F., McKay G., Gupta V.K., Puttaiah S.H. and Marzban N., Heavy Metal Adsorption Using PAMAM/CNT Nanocomposite from Aqueous Solution in Batch and Continuous Fixed Bed Systems, *Chemical Engineering Journal*, 346 2018 ,270–258.
- [2] Vijayaraghavan K. and Yun Y.-S., Bacterial Biosorbents and Biosorption, *Biotechnology Advances*, 2008 ,291–266 ,26.
- [3] Huang W. and Liu Z.-m., Biosorption of Cd(II)/Pb(II) from Aqueous Aolution by Biosurfactant-Producing Bacteria: Isotherm Kinetic Characteristic and Mechanism Studies, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105 2013 ,119–113.
- [4] Merroun M.L. and Selenska-Pobell S., Bacterial Interactions with Uranium: An Environmental Perspective, *Journal of Contaminant Hydrology*, 2008 ,295–285 ,102.
- [5] Pacheco P.H., Gil R.A., Cerutti S.E., Smichowski P. and Martinez L.D., Biosorption: A New Rise for Elemental Solid Phase Extraction Methods, *Talanta*, 2300–2290 ,85 2011.
- [6] Xiao G., Zhang X., Su H. and Tan T., Plate Column Biosorption of Cu(II) on Membrane-Type Biosorbent (MBS) of *Penicillium* Biomass: Optimization Using Statistical Design Methods, *Bioresource Technology*, -490 ,143 2013 ,498.
- [7] Zhang X., Su H., Tan T. and Xiao G., Study of Thermodynamics and Dynamics of Removing Cu(II) by Biosorption Membrane of *Penicillium* Biomass, *Journal of Hazardous Materials*, 193 2011 ,9–1.
- [8] Yelebe Z.R., Yelebe B.Z. and Samuel R.J., Design of Fixed Bed Column for the Removal of Metal Contaminants from Industrial Wastewater, *Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2013 ,77–68 ,5.
- [9] Wang J. and Chen C., Chitosan-based biosorbents: Modification and Application for Biosorption of Heavy Metals and Radionuclides, *Bioresource Technology*, 160 2014 ,141–129.
- [10] Bulgariu D. and Bulgariu L., Sorption of Pb(II) onto a Mixture of Algae Waste Biomass and Anion Exchanger Resin in a Packed-Bed Column, *Bioresource Technology*, -374 ,129 2013 ,380.
- [11] Zheng M., Hu H., Ye Z., Huang Q. and Chen X., Adsorption Desulfurization Performance and Adsorption-Diffusion Study of B2O3 Modified Ag-CeO_x/TiO₂-2SiO₂, *Journal of Hazardous Materials*, 2019 ,435–424 ,362.
- [12] Sohbatzadeh H., Keshtkar A.R., Safdari J. and Fatemi F., U(VI) Biosorption by bi-Functionalized *Pseudomonas Putida* @ Chitosan Bead: Modeling and Optimization Using RSM, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016 ,658–647 ,89.
- [13] Sohbatzadeh H., Keshtkar A.R., Safdari J., yousefi T. and Fatemi F., Insights Into the Biosorption Mechanisms of U(VI) by Chitosan Bead Containing Bacterial Cells: A Supplementary Approach Using Desorption Eluents, Chemical Pretreatment and PIXE-RBS Analyses, *Chemical Engineering Journal*, 323 2017 ,501–492.
- [14] Choi J., Lee J.Y. and Yang J.-S., Biosorption of Heavy Metals and Uranium by Starfish and *Pseudomonas Putida*, *Journal of Hazardous Materials*, 2009 ,162-157 ,161.
- [15] Wan Ngah W.S., Hanafiah M.A.K.M. and Yong S.S., Adsorption of Humic Acid from Aqueous Solutions on Crosslinked Chitosan-Epichlorohydrin Beads: Kinetics and isotherm studies, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008 ,24–18 ,65.
- [16] Podder M.S. and Majumder C.B., Fixed-bed Column Study for As(III) and As(V) Removal and Recovery by Bacterial Cells Immobilized on Sawdust/MnFe₂O₄ Composite, *Biochemical Engineering Journal*, 2016 ,135–114 ,105.
- [17] Izquierdo M., Marzal P., Gabaldon C., Silvetti M. and Castaldi P., Study of the Interaction Mechanism in the Biosorption of Copper(II) Ions onto *Posidonia Oceanica* and Peat, *Clean – Soil, Air, Water*, 437–428 ,(4)40 2012.
- [18] Peng Q., Liu Y., Zeng G., Xu W., Yang C. and Zhang J., Biosorption of Copper(II) by Immobilizing *Saccharomyces Cerevisiae* on the Surface of Chitosan-coated Magnetic Nanoparticles from Aqueous Solution, *Journal of Hazardous Materials*, 2010 ,682–676 ,177.
- [19] Vakili M., Rafatullah M., Hakimi Ibrahim M., Zuhairi Abdullah A., Salamatinia

- B. and Gholami Z., Chitosan Hydrogel Beads Impregnated with Hexadecylamine Forimproved Reactive Blue 4 Adsorption, *Carbohydrate Polymers*, 2016 ,146–139 ,137.
- [20] Ahmed Mohamed N. and Yahya Al-mehbad N., Novel Terephthaloyl Thiourea Cross-linked Chitosan Hydrogels as Antibacterial and Antifungal Agents, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013 ,117–111 ,57.
- [21] Liu Q., Zhang L., Yang B. and Huang R., Removal of Fluoride from Aqueous Solution Using Zr(IV) Immobilizedcross-linked Chitosan, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015 ,23–15 ,77.
- [22] Arief V.O., Trilestari K., Sunarso J., Indraswati N. and Ismadji S., Recent Progress on Biosorption of Heavy Metals from Liquids Using Low Cost Biosorbents: Characterization, Biosorption Parameters and Mechanism Studies, *Clean – Soil, Air, Water*, –937 ,(12)36 2008 ,962.
- [23] Chojnacka K., Chojnacki A. and Gorecka H., Biosorption of Cr+3, Cd+2 and Cu+2 Ions by Blue–green Algae *Spirulina* sp.: Kinetics, Equilibrium and the Mechanism of the Process, *Chemosphere*, 2005 ,84–75 ,59.
- [24] Wang Q.Z., Chen X.G., Liu N., Wang S.X., Liu C.S., Meng X.H. and Liu C.G., Protonation Constants of Chitosan with Different MolecularWeight and Degree of Deacetylation, *Carbohydrate Polymers*, 2006 ,201–194 ,65.
- [25] Kotrba P., Mackova M. and Macek T., *Microbial Biosorption of Metals*, Springer, 2011 ,58–19.
- [26] Zhao W., Yang S., Huang Q. and Cai P., Bacterial Cell Surface Properties: Role of Loosely Bound Extracellularpolymeric Substances (LB-EPS), *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015 ,607–600 ,128.
- [27] García-Mateos F.J., Ruiz-Rosas R., Marqués M.D., Cotoruelo L.M., Rodríguez-Mirasol J. and Cordero T., Removal of Paracetamol on Biomass-derived Activated Carbon: Modeling the Fixed Bed Breakthrough Curves Using Batch Adsorption Experiments, *Chemical Engineering Journal*, 2015 ,30–18 ,279.
- [28] Auta M. and Hameed B.H., Chitosan–clay Composite as Highly Effective and Low-cost Adsorbent for Batch and Fixed-bed Adsorption of Methylene Blue, *Chemical Engineering Journal*, 2014 ,361–352 ,237.
- [29] Volesky B., *Sorption and Biosorption*, BV Sorbex Inc., 2003.
- [30] Hethnawi A., Manasrah A.D., Vitale G. and Nassar N.N., Fixed-bed Column Studies of Total Organic Carbon Removal from Industrial Wastewater by Use of Diatomite Decorated with Polyethylenimine-functionalized Pyroxene Nanoparticles, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2018 ,42–28 ,513.
- [31] Barron-Zambrano J., Szygula A., Ruiz M., Sastre A.M. and Guibal E., Biosorption of Reactive Black 5 from Aqueous Solutions by Chitosan: Column studies, *Journal of Environmental Management*, ,2675–2669 ,91 2010.
- [32] Kavand M., Fakoor E., Mahzoon S. and Soleimani M., An Improved Film-Pore-Surface Diffusion Model in the Fixed-bed Column Adsorption for Heavy Metal Ions: Single and Multi-component Systems, *Process Safety and Environment Protection*, 2018 ,342–330 ,113.
- [33] Esquerdo V.M., Quintana T.M., Dotto G.L. and Pinto L.A.A., Kinetics and Mass Transfer Aspects about the Adsorption of Tartrazine by a Porous Chitosan Sponge, *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, ,117–105 ,(1)116 2015.
- [34] Sulaymon A.H., Yousif S.A. and Al-Faize M.M., Competitive Biosorption of Lead Mercury Chromium and Arsenic Ions onto Activated Sludge in Fixed Bed Adsorber, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, ,(2)45 2014 ,337–325.