

برآورد تأثیر پارامترهای مهم در جذب بیولوژیکی مس و منگنز توسط باکتری باسیلوس تورنجینسیس

مهسا صدیقی^۱، حمید خسروی^۲، آرش رمدانی^۳

^۱ کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، گروه مهندسی علوم زیستی دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
^۲ کارشناسی ارشد مهندسی اکتشاف معدن، دانشگاه صنعتی شهرورد، شهرورد، ایران.
^۳ کارشناسی ارشد مهندسی پزشکی-بیومتریال، گروه بیومتریال دانشکده علوم و فنون، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: میزان اهمیت پارامترهای مؤثر در جذب یون های مس و منگنز از پساب اسیدی معدن با استفاده از آنالیز رگرسیونی تعیین گردید.

مواد و روش ها: گونه های باکتری به نام باسیلوس تورنجینسیس از پساب اسیدی معدن جداسازی و خالص و پارامترهای جذب یون های مس و منگنز موجود در همان پساب با استفاده از باکتری مذکور بررسی گردید.

یافته ها: میزان همبستگی مقدار جاذب و میزان جذب یون های مس ($0/99$) بیشتر از میزان همبستگی جرم جاذب و میزان جذب یون های منگنز ($0/98$) می باشد و همواره با افزایش مقدار جاذب میزان جذب یون ها بیشتر می شود. با افزایش pH، میزان جذب یون منگنز تا ۹ برابر و میزان جذب یون مس تا ۱۹ برابر افزایش نشان می دهد. این در حالی است که با افزایش مدت زمان تماس میزان جذب یون های منگنز و مس نسبت به مقادیر اولیه شان به ترتیب $۱/۵$ و $۴/۸۳$ برابر افزایش نشان می دهد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که پارامترهای غلظت جاذب، pH، دما و زمان به ترتیب بیشترین اهمیت را در جذب یون های مس و منگنز داشته و تغییرات پارامترهای مؤثر تأثیر بیشتری بر میزان جذب یون های مس نسبت به منگنز دارد.

کلمات کلیدی: جذب بیولوژیک، یون های مس و منگنز، باسیلوس تورنجینسیس، تحلیل رگرسیونی

غیرآلی جای می گیرند از جمله بزرگترین مشکلات محیط زیست محسوب می شوند. صنایعی مانند معدن کاری، کانه آرایی، تولید کود شیمیایی، دباغی، باتری سازی تولید کاغذ و تولید آفتکش ها از جمله مهم ترین تولید کنندگان فلزات سنگین هستند. حضور این فلزات که به صورت محلول در پساب و خروجی های صنایع یاد شده می باشند بسیار نامطلوب بوده چرا که مدت زمان ماندگاری آن ها در طبیعت بالاست و همچنین تمایل بسیار زیادی به جمع شدن در بافت های موجودات زنده داشته و سبب انواع ناتوانی ها و بیماری ها می گرددن (۱۷). تاکنون روش های فیزیکی و شیمیایی فراوانی برای حذف این فلزات مورد استفاده قرار گرفته است که از میان آن ها می توان به تبادل یونی، فیلتراسیون، تصفیه شیمیایی (۱۵)، رسوب

مقدمه

آمروزه بیوتکنولوژی نقش بسیار مهمی در حذف یون های فلزات سنگین موجود در آب و خاک بر عهده دارد. باکتری، قارچ، مخمر و جلبک دریایی از جمله جاذب های بیولوژیک مناسبی هستند که برای فرایند جذب زیستی مورد استفاده قرار می گیرند. آلدگی آب یکی از مهم ترین چالش های زیست محیطی پیش روی بشر در دهه های اخیر بوده و از این رو توجه بسیاری از محققین و دانشمندان را به خود جلب کرده است. یون های فلزی محلول که در گروه آلدگی های

آدرس نویسنده مسئول : گروه مهندسی علوم زیستی دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
Email : m.sedighi67@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله : ۹۱/۲/۱۱
تاریخ پذیرش : ۹۱/۳/۶

که کمتر مورد توجه قرار گرفته اند، ضروری به نظر می رسد. این مطالعه با هدف حذف یون های مس و منگنز با استفاده از نوعی باکتری به عنوان جاذب انجام گرفت. باکتری استفاده شده گونه های باسیلوس به نام باسیلوس تورنجینسیس بود که از خود پساب معدن جداسازی و خالص گردید.

مواد و روش ها

آماده سازی جاذب

با انتقال قسمتی از پساب معدن تحت شرایط کاملاً استریل به آزمایشگاه میکروبیولوژی و کشت آن در محیط مغذی، باکتری باسیلوس تورنجینسیس جداسازی و خالص گردید. برای تولید بیومس، باکتری خالص شده در پلیت های حاوی محیط کشت نوترين آگار به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکر با دمای C ۳۰° کشت داده شد. به منظور تولید بایومس خشک، به ۲۰ گرم از محیط نوترين برات ۵۰۰ میلی لیتر آب قطر اضافه گردید. پس از اتوکلاو باکتری در محیط تلقیح شده، به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکر با دمای C۳۰° برای تولید بایومس قرار گرفت. باکتری ها در شرایط مناسب شروع به تکثیر نمودند. سپس با استفاده از سانتریفوژ باکتری ها از محیط کشت جدا شده، در آون قرار گرفتند تا خشک گردند.

مطالعات جذبی

مطالعات جذبی برای بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر میزان جذب یون های فلزی توسط جاذب بیولوژیک (باسیلوس تورنجینسیس) انجام گرفت. در تمامی آزمایش ها ۲۰۰ میلی لیتر از پساب داخل ارلن های ۵۰۰ میلی لیتری ریخته و پس از قرار گرفتن جاذب در آن ها با دور ۱۰۰ دور بر دقیقه تکان داده شد (۹). شایان ذکر است برای بررسی تأثیر مدت زمان تماس، pH، غلظت جاذب و دما بر میزان جذب از پساب شماره یک که غلظت اولیه آلدگی در آن به ترتیب ۵/۵ و ۸ میلی گرم بر لیتر برای مس و منگنز بود، استفاده گردید. سپس با کاغذ صافی پساب از جاذب جدا گردیده و غلظت یون های Mn و Cu باقیمانده در پساب با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد.

تأثیر مدت زمان تماس بر میزان جذب بیولوژیک
برای بررسی تأثیر مدت زمان تماس بر میزان جذب بیولوژیک

شیمیایی و اسمز معکوس (۵)، اکسیداسیون و احیا، الکترو دیالیز و اولترافیلتراسیون (۱۷)، جدایش غشایی، واکنش های الکتروشیمیایی و تبخیر (۱) اشاره نمود. این روش ها با وجود برخی مزایا، اشکالات فراوانی دارند. واکنشگرهای زیاد مورد نیاز، غیر قابل پیش بینی بودن فرایند حذف فلزات، تولید لجن های سمی که عموماً انهدام آن ها نیز با مشکلات فراوان همراه است (۵)، کارایی کم، شرایط عملیاتی حساس (۱۷) و کم اثر بودن برای آلدگی با غلظت های پائین (۱) از جمله مهم ترین این مشکلات می باشد. فناوری قدرتمند دیگری که استفاده می شود جذب به وسیله کربن فعال برای پاک سازی پساب های محلی و صنعتی است. با این حال هزینه بسیار بالای آن سبب شده چندان مورد توجه قرار نگیرد و استفاده از آن با محدودیت هایی همراه باشد (۱۷). جذب بیولوژیک یک روش جایگزین است که از مواد طبیعی مختلف با منشاء بیولوژیک برای حذف آلدگی های با غلظت کم استفاده می کند. در این روش میتوان به راحتی یون های حل شده را از محلول های پیچیده کم غلظت حذف نمود. بنابراین جذب بیولوژیک یک کاندیدای ایده آل برای پاک سازی پساب های بیولوژیک با غلظت پایین آلدگی می باشد (۱۵). جلیک (۲۰، ۱۰، ۲۱)، باکتری (۱۳، ۴) قارچ (۱۸، ۱۷) و مخمر (۱۶) از انواع جاذب هایی هستند که تاکنون برای جذب بیولوژیک مورد استفاده قرار گرفته اند. پادمایوتی در سال ۲۰۰۷ جذب یون های نیکل را توسط مخمر نانوایی مورد بررسی قرار داد (۱۰). همچنین چن و همکارانش در سال ۲۰۰۸ یون های مس و نیکل را به کمک جلبک حذف نمودند (۲). پارک و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۴ حذف یون های کروم ۶ طرفیتی را با استفاده از توده قارچی آسپریلیوس نایجر بررسی کردند (۱۲). از اوایل دهه ۱۹۸۰، با شدت گرفتن استفاده از جاذب های بیولوژیک، باکتری ها نیز مورد توجه قرار گرفتند. اکثر کارهایی که محققان در زمینه جذب بیولوژیک انجام داده اند بر روی پساب مصنوعی بوده است (۴، ۱۸). همچنین بیشتر مطالعات تنها برای حذف یک یون و با استفاده از قارچ ها و جلبک ها صورت گرفته است. بنابراین مطالعه بر روی پساب های طبیعی، به خصوص پساب اسیدی معدن که حاوی انواع یون های فلزات سنگین می باشد، با استفاده از جاذب هایی

تحلیل رگرسیونی

در بسیاری از مسائل، دو یا چند متغیر وجود دارند که به طور ذاتی بهم مرتبطند و لازم است ماهیت این اعتبار مشخص شود. تحلیل رگرسیون، یک فن آماری برای مدل سازی و بررسی ارتباط بین دو یا چند متغیر است. این مدل رگرسیون به مجموعه داده ها برازنده می شود. در بعضی موارد، شکل دقیق صورت تابع معلوم است، ولی $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$ با y ارتباط واقعی در بیشتر موارد رابطه تابعی واقعی محظوظ بوده و آزمایشگر انتخاب کند. معمولاً از یک ϕ باید تابع تجربی مناسبی را برای مدل چند جمله ای برای این تقریب استفاده می شود. تحلیل رگرسیون در سطح وسیعی مورد استفاده قرار گرفته ولی در موارد زیادی نیز از آن بد استفاده شده است. بایستی در انتخاب متغیرهای مدل و در تعیین شکل تابع تقریب دقت لازم به کار بردش شود. بسیار امکان دارد که بین متغیرها، رابطه آماری بددست آید در حالی که از نظر عملی و واقعی کاملاً بی ارتباط باشند. علاوه بر محاسبه رابطه آماری بین متغیرها، به کمک (می توان همبستگی R^2) و ضریب تبیین (R مقدار رگرسیون) همبستگی همواره بین بین دو متغیر را نیز محاسبه کرد (۳).

$R = 1$ باشد همبستگی مستقیم و کامل است. بدين معنی که اگر متغیر مستقل افزایش یابد متغیر وابسته به صورتی کاملاً قابل پیش بینی افزایش خواهد یافت و بالعکس اگر متغیر مستقل کاهش یابد متغیر وابسته به صورتی کاملاً قابل پیش بینی کاهش خواهد یافت.

$R < 1$ باشد همبستگی مستقل افزایش یابد متغیر وابسته به صورتی قابل پیش بینی افزایش خواهد یافت و بالعکس اگر متغیر مستقل کاهش یابد متغیر وابسته به صورتی قابل پیش بینی کاهش خواهد یافت و هر چه ضریب همبستگی به یک نزدیکتر باشد صحت و دقت پیش بینی افزایش خواهد یافت.

اگر $R > 1$ - باشد، همبستگی معکوس و ناقص خواهد بود. بدين معنی که اگر متغیر مستقل افزایش یابد متغیر وابسته به صورتی قابل پیش بینی کاهش خواهد یافت و اگر متغیر مستقل کاهش یابد متغیر وابسته به صورت قابل پیش بینی افزایش خواهد یافت.

یون های Cu و Mn توسط باکتری پارامترهای pH، غلظت جاذب و دما، ثابت و به ترتیب برابر با، gr/L ۱۶ و K° ۳۰.۸ در نظر گرفته شد. مدت زمان تماس متغیر و بین ۵ تا ۱۸۰ دقیقه بود.

تأثیر غلظت جاذب بر میزان جذب بیولوژیک

در این قسمت غلظت جاذب متغیر و بین ۱ تا ۱۰ گرم بر لیتر در نظر گرفته شد. سایر عوامل مؤثر در جذب ثابت بودند. $pH = 6$ ، زمان تماس $180^\circ K$ و دما $30.8^\circ K$.

تأثیر PH پساب بر میزان جذب

در این قسمت pH متغیر و در محدوده ۲ تا ۶ انتخاب گردید. مقدار عوامل مؤثر دیگر ثابت و به این شرح در نظر گرفته شد. غلظت جاذب L جاذب gr/L ، دما K° ۳۰.۸، مدت زمان تماس 180° دقیقه.

تأثیر دما بر میزان جذب

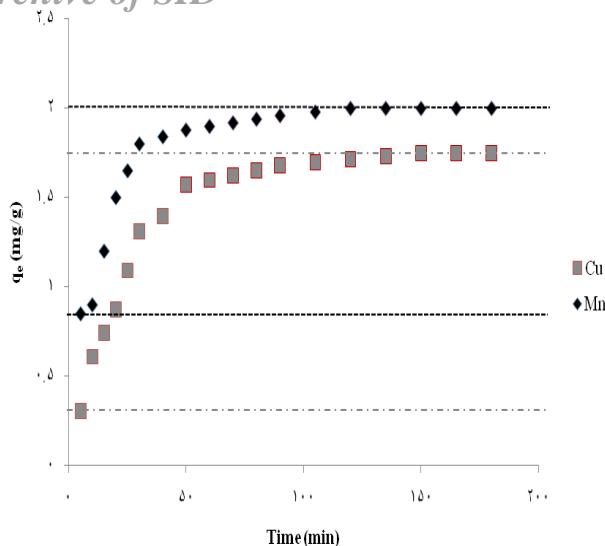
در این مرحله اثر دما بر میزان جذب یون های Cu و pH موجود در پساب پرداخته شد. غلظت جاذب pH ۱، gr/L ۱، پساب ۶ و مدت زمان تماس 180° دقیقه بود. این مرحله از آزمایش در دماهای 298° ، 303° ، 313° و 318° درجه کلوین انجام گرفت.

تأثیر غلظت اولیه آلودگی بر میزان جذب

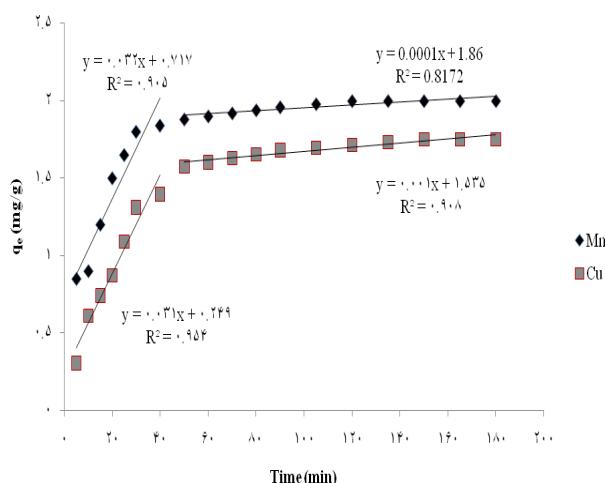
برای بررسی تأثیر غلظت اولیه آلودگی بر میزان جذب یون های مس و منگنز از ۴ نمونه پساب تهیه شده از معدن مس استفاده گردید. غلظت اولیه یون های مذکور در جدول ۱ آمده است. غلظت جاذب gr/L ، $pH = 0.1$ ، مدت زمان تماس 180° دقیقه و دما $30.8^\circ K$ بود.

جدول ۱ - غلظت یون های مس و منگنز در نمونه های پساب

غلظت یون ها (ppm)				یون فلزی
نمونه پساب	نمونه پساب	نمونه پساب	نمونه پساب	
شماره چهار	شماره سه	شماره دو	شماره یک	
۲/۲۵	۳	۴/۵	۵/۵	Cu-(II)
۷	۵/۲۵	۹/۵	۸	Mn



شکل ۱- تأثیر مدت زمان تماس بر میزان جذب. نقطه چین ها محدوده جذب Mn و خط نقطه چین ها محدوده جذب Cu را نشان می دهند.



شکل ۲- تأثیر مدت زمان تماس بر میزان جذب. معادلات خطی برآورد شده برای میزان جذب براساس تغییرات زمان.

تأثیر غلظت جاذب

تأثیر تغییرات غلظت جاذب بر میزان جذب در شکل ۳ نشان داده شده است. با افزایش غلظت جاذب میزان q_e برای هر دو یون افزایش یافت. بنابراین می توان این پارامتر را یکی از پارامترهای موثر در جذب یون های مس و منگنز دانست. با افزایش غلظت جاذب نقاط فعال که توانایی جذب یون های آلودگی را دارند افزایش می یابند. همان طور که در شکل ۴ دیده می شود ضریب معادله خطی و ضریب تبیین (R^2) برای جذب یون های مس به ترتیب $0/031$ و $0/905$ و برای جذب یون های منگنز به ترتیب $0/032$ و $0/905$ می باشد و همچنین ضریب معادله خطی و ضریب تبیین (R^2) از دقیقه 40 به بعد برای جذب یون های مس به ترتیب $0/001$ و $0/908$ و برای جذب یون های منگنز به ترتیب

اگر $R=1$ باشد همبستگی معکوس و کامل خواهد بود. بدین معنی که اگر متغیر مستقل افزایش یابد متغیر وابسته به صورتی قابل پیش بینی کاهش خواهد یافت. و اگر متغیر مستقل کاهش یابد متغیر وابسته به صورت کاملاً قابل پیش بینی افزایش خواهد یافت.

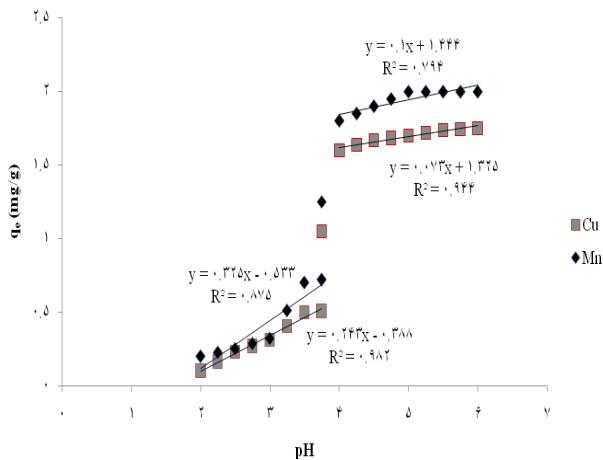
اگر $R=0$ باشد نشان دهنده عدم همبستگی خواهد بود. بدین معنی که اگر متغیر مستقل افزایش یابد، متغیر وابسته به گونه های تغییر نمی کند که قابل پیش بینی باشد. لازم به توضیح است که هر چه ضریب همبستگی به $+1$ نزدیکتر باشد بدین معنی است که همبستگی شدید (از نوع مستقیم) بین متغیر مستقل و وابسته وجود دارد و هر چه ضریب همبستگی به -1 نزدیکتر باشد بدین معنی است که همبستگی شدیدی (از نوع معکوس) بین متغیر مستقل و وابسته وجود دارد (۱۴).

یافته ها

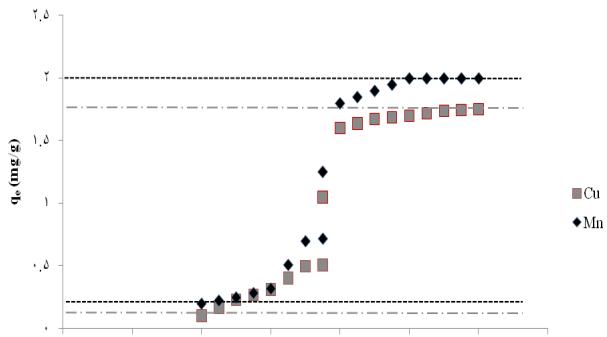
تأثیر مدت زمان تماس

تأثیر مدت زمان تماس بر میزان جذب مس و منگنز توسط باکتری در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور از این شکل بر می آید با افزایش مدت زمان تماس، میزان جذب هر دو فلز توسط جاذب افزایش می یابد. جذب یون های مس و منگنز در 40 دقیقه اول بسیار سریع صورت گرفت و پس از حدود 120 دقیقه اول سیستم به حالت تعادل رسید. با توجه به محدوده نقطه چین ها (میزان جذب 2 mg/g) نسبت به مقدار اولیه به میزان $1/5$ برابر و همچنین با توجه به محدوده خط نقطه چین ها (میزان جذب $1/75\text{ mg/g}$) $1/8$ ، طی افزایش مدت زمان تماس، جذب یون های منگنز نسبت به مقدار اولیه به میزان $1/5$ برابر و همچنین با مقدار اولیه به میزان $4/83$ برابر جذب یون های مس نسبت به مقدار اولیه به میزان جذب با گذشت افزایش یافته است. دلیل اصلی افزایش میزان جذب با زمان را میتوان در افزایش احتمال برخورد یون های فلزی با نقاط فعال روی جاذب دانست. همان طور که در شکل 2 دیده می شود ضریب معادله خطی و ضریب تبیین (R^2) تا دقیقه 40 برای جذب یون های مس به ترتیب $0/031$ و $0/905$ و برای جذب یون های منگنز به ترتیب $0/032$ و $0/905$ می باشد و همچنین ضریب معادله خطی و ضریب تبیین (R^2) از دقیقه 40 به بعد برای جذب یون های مس به ترتیب $0/001$ و $0/908$ و برای جذب یون های منگنز به ترتیب

یون های منگنز نسبت به مقدار اولیه ۹ برابر و همچنین با توجه به محدوده خط نقطه چینها (میزان جذب ۲ mg/g) ۰/۱- جذب یون های مس نسبت به مقدار اولیه ۱۹ برابر شده است. همانطور که در شکل ۶ دیده می شود، ضریب معادله خطی و ضریب تبیین (R^2) تا ۰/۷۵ برای جذب یون های مس به ترتیب ۰/۲۴۳ و ۰/۹۸۲ و برای جذب یون های منگنز به ترتیب ۰/۳۲۵ و ۰/۸۷۵ میباشد و همچنین ضریب معادله خطی و ضریب تبیین (R^2) از PH=۴/۶۴ برای جذب یون های مس به ترتیب ۰/۰۷۳ و ۰/۰۹۴۴ و برای جذب یون های منگنز به ترتیب ۰/۰۷۹۴ و ۰/۰۷۹۴ می باشد.



شکل ۵- تأثیر pH پساب بر میزان جذب. نقطه چینها محدوده جذب و خط نقطه چینها محدوده جذب Cu و Mn را نشان می دهد.

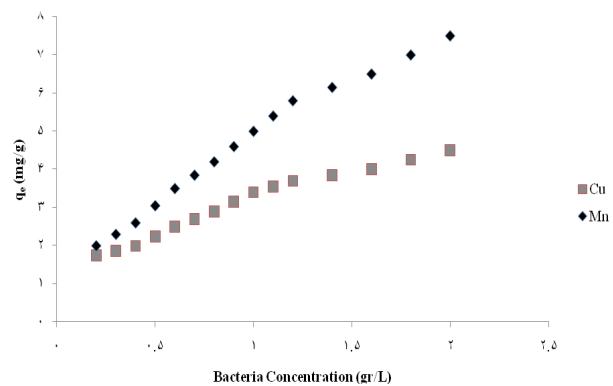


شکل ۶- تأثیر pH پساب بر میزان جذب. معادلات خطی برآورده شده برای میزان جذب براساس تغییرات pH

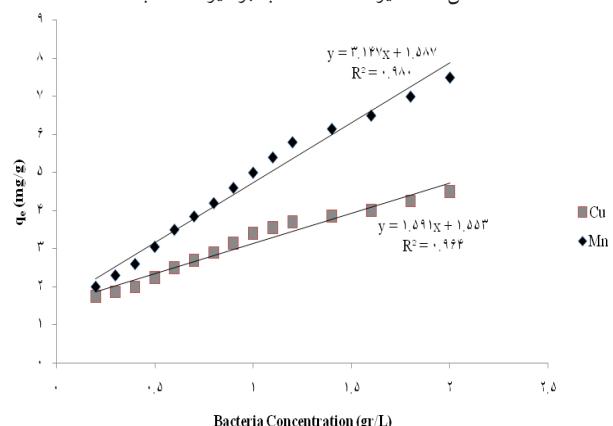
اثر دما

همان طور که از شکل ۷ بر می آید، با افزایش دما، به میزان جذب هر دو یون Cu و Mn افزوده می شود. از این رومی توان فرایند جذب هر دو یون Cu و Mn را گرمایش دانست. با توجه به محدوده نقطه

یون های منگنز به ترتیب ۳/۱۴۷ و ۰/۹۸۰ می باشد.



شکل ۳- تأثیر غلظت جاذب بر میزان جذب



شکل ۴- تأثیر غلظت جاذب بر میزان جذب. معادلات خطی برآورده شده برای میزان جذب براساس تغییرات غلظت جاذب.

تأثیر pH پساب

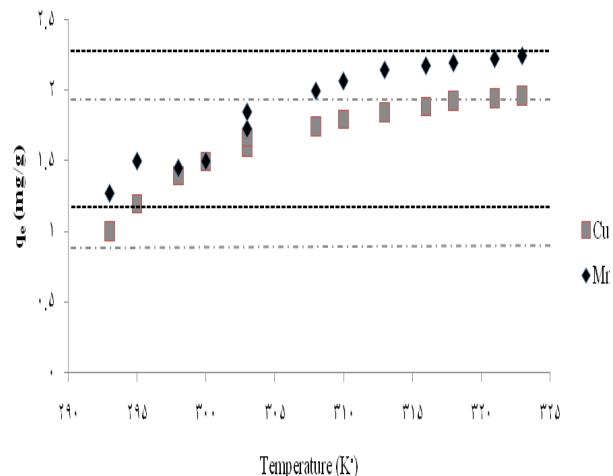
pH یکی از مهم ترین عوامل مؤثر در جذب می باشد. باز الکتریکی روی جاذب و ماده جذب شده با pH پساب ارتباط مستقیم دارد. تأثیر pH پساب بر جذب در شکل ۵ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش pH، میزان جذب نیز افزایش می یابد. در pH بالا، باز منفی خالص بر روی اجزای دیواره سلولی حضور دارد و حالت یونی لیگاند هایی چون کربوکسیل، فسفات و گروه های آمینه واکنش با یون های فلزی را افزایش می دهد. با کاهش pH باز سطحی کلی بر روی سلولها مثبت می شود که از نزدیک شدن یون ها به سطح سلولی جلوگیری می نماید(۲). با توجه به شکل ۵، در pH بین ۳ و ۴ افزایش سریع میزان جذب مشاهده می شود و در pH=۵ میزان جذب ثابت گردیده است. با توجه به محدوده نقطه چین ها (میزان جذب pH، ۰/۲-۲ mg/g)، جذب

مقوله جذب بیولوژیک استفاده نمود. عواملی همچون pH پساب، مدت زمان تماس جاذب و پساب، غلظت جاذب و دما در میزان جذب مؤثر بوده و بررسی پارامترهای موثر برای رسیدن به جذب حداکثر بسیار با اهمیت است. میزان همبستگی مقدار جاذب و میزان جذب یون های مس ($0/99$) بیشتر از میزان همبستگی مقدار جاذب و میزان جذب یون های منگنز ($0/98$) می باشد و همواره با افزایش غلظت جاذب میزان جذب یون ها بیشتر می شود. با افزایش pH، جذب یون های منگنز به میزان 9 برابر و جذب یون های مس به میزان 19 برابر افزایش نشان میدهد. این در حالی است که با افزایش مدت زمان تماس میزان جذب یون های منگنز و مس به ترتیب $1/5$ و $4/83$ برابر افزایش داشته است. همچنین طی افزایش دما جذب یون های منگنز $0/8$ برابر و جذب یون های مس 2 برابر میگردد. با توجه به تأثیر پارامترهای غلظت جاذب، pH، دما و زمان می توان بیان کرد میزان جذب یون های مس نسبت به یون های منگنز بیشتر می باشد.

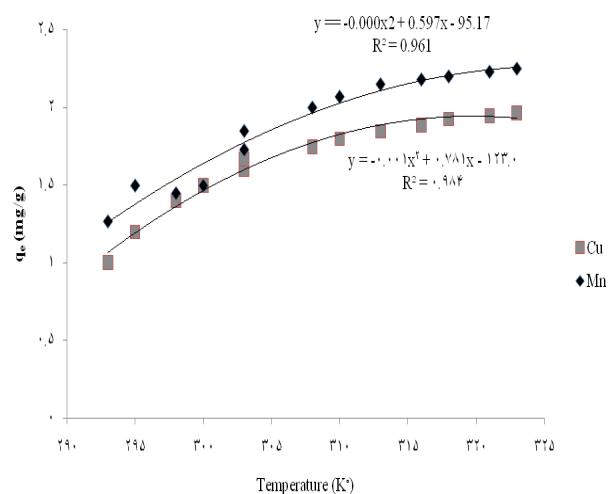
تشکر و قدردانی

شایان ذکر است، این مطالعه با همکاری آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال صورت گرفت و نویسندها بر خود لازم می دانند تا از همکاری علمی خانم مهندس سیده فلور مظہر صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

چین ها (میزان جذب mg/g) $1/25$ - $2/25$ طی افزایش دما، جذب یون منگنز نسبت به مقدار اولیه $0/8$ برابر و همچنین با توجه به محدوده خط نقطه چین ها (میزان جذب $1-2 mg/g$) جذب یون های مس نسبت به مقدار اولیه 2 برابر شده است. همان طور که در شکل ۸ دیده می شود ضریب تبیین (R^2) برای جذب یون های مس $0/984$ و برای جذب یون های منگنز $0/961$ می باشد.



شکل ۷- تأثیر دما بر میزان جذب. خط چین ها محدوده جذب Mn و خط نقطه چین ها محدوده جذب Cu را نشان می دهد.



شکل ۸- تأثیر دما بر میزان جذب. معادلات خطی برآورد شده برای میزان جذب براساس تغییرات دما.

بحث

ارزان قیمت و کارا بودن دو خصوصیت اصلی جاذب استفاده شده در این مطالعه می باشد و از آن می توان برای استفاده بیشتر در

- (1) Ahmady-Asbchin S, Yves A, Ge'rente C, Le Cloirec P. Biosorption of Cu(II) from aqueous solution by *Fucus serratus*:Surface characterization and sorption mechanisms. *J. of. Biores. Technol.*, 2008, 99(14):6150-6155.
- (2) Chen Z, Ma V, Han M. Biosorption of nickel and copper onto treated algae (*Undaria pinnatifida*): Application of isotherm and kinetic models. *J. of. Hazard. Mater.*, 2008, 155(1-2):327-333.
- (3) Douglas C.M.. Design and analysis of experiment. 5th ed, john wiley & sons, 2001.
- (4) Ghasemi M, Keshtkar A, Dabbagh R, Safdari J. Biosorption of uranium(VI) from aqueous solutions by Ca-pretreated *Cystoseira indica* alga: Breakthrough curves studies and modeling. *J. of. Hazard. Mater.*, 2011, 189(1-2):141-149.
- (5) Kshama A, Varsha K. Kinetics and equilibrium studies on biosorption of nickel from aqueous solution by dead fungal biomass of *Mucor hiemalis*. *Chem. Eng. J.*, 2011, 171(3): 1234-1245.
- (6) López M, Navarrete E. R., Carrillo F, Palet C. Bioseparation of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution using cork waste biomass. Modeling and optimization of the parameters of the biosorption step. *Chem. Eng. J.*, 174(1):2011, 9-17.
- (7) Montazer-Rahmati M. M, Rabbani P, Abdolali A, Keshtkar A. Kinetics and equilibrium studies on biosorption of cadmium, lead, and nickel ions from aqueous solutions by intact and chemically modified brown algae, *J. of. Hazard. Mater.* 2011, 185(1):401-407.
- (8) Mao Y, Hu H, Yan Y. Biosorption of cesium(I) from aqueous solution by a novel exopolymers secreted from *Pseudomonas fluorescens* C-2: Equilibrium and kinetic studies. *J. Environ. Sci.*, 2011, 23(7): 1104-1112.
- (9) Ozturk A. Removal of nickel from aqueous solution by the bacterium *bacillus thurengiensis*. *J. of. Hazard Mater.*, 2007, 147(1-2): 518-523.
- (10) Padmavathy V. Biosorption of nickel(II) ions by baker's yeast: Kinetic, thermodynamic and desorption studies. *J. of. Biores. Technol.*, 2007, 99(8): 3100-3109.
- (11) Pahlavanzadeh H, Keshtkar A.R, Safdari J, Abadi Z. Biosorption of nickel(II) from aqueous solution by brown algae: Equilibrium, dynamic and thermodynamic studies. *J. of. Hazard Mater.*, 2010, 175(1-3): 304-310.
- (12) Park D, Yun Y. S, Jo J. H, Park J. M. Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*. *J. of. Water Res.*, 2005, 39(4): 533–540.
- (13) Ramrakhiani L, Majumder R, Khowala S. Removal of hexavalent chromium by heat inactivated fungal biomass of *Termitomyces clypeatus*: Surface characterization and mechanism of biosorption. *Chem. Eng. J.*, 2011, 171(3): 1060-1068.
- (14) Rodgers J. L, Nicewander W. A. Thirteen ways to look at the correlation coefficient. *The American Statistician*, 1988, 42(1): 59–66.
- (15) Sud D, Mahajan G, Kaur M.P. Agricultural waste material as potential adsorbent for sequestering heavy metal ions from aqueous solutions – A review. *Biores. Technol.*, 2008, 99(14): 6017-6027.
- (16) Tian Y, Ji C, Zhao M, Xu M, Zhang Y, Wang R. Preparation and characterization of baker's yeast modified by nano-Fe3O4: Application of biosorption of methyl violet in aqueous solution. *Chem. Eng. J.*, 2010, 165(2): 474-481.
- (17) Vijayaraghavan K, Yun YS, Bacterial biosorbents and biosorption. *J. of. Biotechadv.*, 2008, 26(3): 266-291.
- (18) Witek-Krowiak A, Szafran R. G, Modelska S. Biosorption of heavy metals from aqueous solutions onto peanut shell as a low-cost biosorbent. *Desal.*, 2011, 265(1-3): 126-134.
- (19) Yang Y, Jin D, Wang G, Wang S, Jia X, Zhao Y. Competitive biosorption of Acid Blue 25 and Acid Red 337 onto unmodified and CDAB-modified biomass of *Aspergillus oryzae*. *Biores. Technol.*, 2011, 102(16):7429-7436.
- (20) Zhang Y, Liu W, Xu M, Zheng F, Zhao M. Study of the mechanisms of Cu²⁺ biosorption by ethanol/caustic-pretreated baker's yeast biomass. *J. of. Hazard Mater.*, 2010, 178(1-3): 1085-1093.
- (21) Zhang X, Su H, Tan T, Xiao G. Study of thermodynamics and dynamics of removing Cu(II) by biosorption membrane of *Penicillium* biomass. *J. of. Hazard Mater.*, 2011, 193(1-9): 1085-1093.