

키토산/폴리감마글루탐산 나노입자의 제조 및 중금속 제거에의 응용

성익경 · 송재용 · 김범수[†]

충북대학교 화학공학과
361-763 충북 청주시 흥덕구 성봉로 410
(2010년 12월 1일 접수, 2010년 12월 28일 채택)

Preparation of Chitosan/Poly- γ -glutamic Acid Nanoparticles and Their Application to Removal of Heavy Metals

Ik-Kyoung Sung, Jae Yong Song and Beom Soo Kim[†]

Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Chungbuk National University,
410 Seongbong-ro, Heungdeok-gu, Cheongju-si, Chungbuk 361-763, Korea
(Received 1 December 2010; accepted 28 December 2010)

요 약

키토산은 천연고분자 물질로 다양한 물리화학적(다중양이온, 반응성 수산화기와 아미노기 그룹), 생물학적(생리활성, 생체적합성, 생분해성) 특성을 가지고 있다. 본 연구에서는 겔형성제로 폴리감마글루탐산을 이용하여 키토산 나노입자를 제조하였다. 나노입자는 폴리감마글루탐산의 카복실기(-COO⁻)와 키토산의 아미노기(-NH₃⁺) 사이의 이온 상호작용에 의해 형성되었다. 키토산(0.1~1 g)을 100 ml 아세트산 용액(1% v/v)에 첨가한 후 상온에서 충분히 용해되도록 하룻밤 동안 교반하였다. 폴리감마글루탐산(0.1 g)은 상온에서 90 ml 증류수에 용해시켰다. 교반되고 있는 폴리감마글루탐산 용액에 키토산 용액을 주사바늘을 통해 상온에서 적가하였다. 입자의 평균 크기는 80~300 nm 범위에서 형성되었다. 키토산/폴리감마글루탐산 나노입자는 중금속 이온들(Cd²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺)의 제거를 위해 콜로이드 상태의 흡착 물질로 사용되었다. 나노입자의 중금속 제거 능력은 Cu²⁺ > Pb²⁺ > Cd²⁺ > Ni²⁺ > Zn²⁺의 결과를 보였다.

Abstract – Chitosan is a natural polymer that has many physicochemical(polycationic, reactive OH and NH₂ groups) and biological(bioactive, biocompatible, and biodegradable) properties. In this study, chitosan nanoparticles were prepared using poly- γ -glutamic acid(γ -PGA) as gelling agent. Nanoparticles were formed by ionic interaction between carboxylic groups in γ -PGA and amino groups in chitosan. Chitosan(0.1~1 g) was dissolved in 100 ml of acetic acid (1% v/v) at room temperature and stirred overnight to ensure a complete solubility. An amount of 0.1 g of γ -PGA was dissolved in 90 ml of distilled water at room temperature. Chitosan solution was dropped through needle into beaker containing γ -PGA solution under gentle stirring at room temperature. The average particle sizes were in the range of 80~300 nm. The prepared chitosan/ γ -PGA nanoparticles were used to examine their removal of several heavy metal ions(Cd²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺ and Ni²⁺) as adsorbents in aqueous solution. The heavy metal removal capacity of the nanoparticles was in the order of Cu²⁺ > Pb²⁺ > Cd²⁺ > Ni²⁺ > Zn²⁺.

Key words: Nanoparticles, Chitosan, Poly- γ -glutamic Acid, Heavy Metal Removal

1. 서 론

키토산(poly[β -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucan])은 계와 새우 등 갑각류의 껍질의 주성분인 키틴의 N-아세틸기를 탈아세틸화하여 아미노기로 치환시켜 얻어지는 양이온의 생분해성 천연고분자 물질이다. 키토산은 D-glucosamine과 N-acetyl-D-glucosamine을 단위체로 β (1-4) glycoside 결합으로 구성되어 있다[1].

키토산을 포함한 키틴 유도체들은 유기용매에 대한 용해성이 양호하여 화학적 변형과 성형 가공성이 용이할 뿐만 아니라 무독성, 무

공해성, 생분해성, 중금속 제거성 등의 특성을 가지고 있다. 이와 같은 성질을 이용하여 최근 키토산은 약물전달체, 혈액응고제 등의 약품과 기능성 식품, 이온교환체 등에 널리 사용되고 있다[2,3]. 특히 키토산은 금속이온이나 유기물을 제거시키는 능력이 키틴에 비해 뛰어나므로 염료공장에서 폐기되는 색소를 제거하여 폐수를 정화하거나, 카드뮴, 구리, 니켈, 납, 아연 등의 중금속물질과 방사성원소인 우라늄 제거용 흡착제로도 활용이 가능한 소재로 판단된다[4-6].

폴리감마글루탐산(poly- γ -glutamic acid, γ -PGA)은 α -아미노기와 γ -카복실기가 아마이드 결합된 글루탐산의 단위체로서 호모 폴리 아마이드의 형태로 자연적으로 발생하는 음이온성 고분자이다[7]. 1937년 Ivánovics 등에 의해 *Bacillus anthracis*에서 처음 발견된 이

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: bskim@chungbuk.ac.kr

후[8], 일본의 Sawamura가 콩밭효식품인 낫토에서 분리한 *Bacillus natto* Sawamura가 생산하는 끈적한 점진물로 잘 알려져있다[9].

γ -PGA는 수용성, 음이온성, 생분해성 및 식용의 아미노산 고분자소재로 인체 및 환경에 무독하며, 기능성식품, 화장품, 의약품, 수질 처리제로서 산업분야에서 연구 및 기술개발이 진행되고 있는 바이오 신소재이다[10,11]. 키토산 나노입자를 제조하여 항암제 및 유전자 치료를 위한 약물전달 시스템, 항암제를 포함하는 나노진단시약 등에 활용한 예가 보고되었다[12-14]. 키토산 나노입자의 중금속 흡착 및 제거에 관한 연구로는 tripolyphosphate를 겔화제로 이용, 키토산 나노입자를 제조하여 수용액으로부터 납 흡착에 활용하거나[15], 구리이온 제거를 위한 키토산-자성나노입자를 제조한 예는 있으나[16], 아직까지 γ -PGA를 겔화제로 이용하여 제조된 키토산 나노입자를 중금속 흡착 및 제거에 활용한 예는 보고되지 않았다.

일반적으로 나노입자는 그 크기가 100 nm 이하이며, 덩어리 형태 또는 마이크론 이상의 큰 입자가 나노화되면 나노입자의 크기, 분포, 모양과 같은 특성들이 전혀 다른 새로운 특성을 나타내거나 개량된 성질을 보일 수 있으며, 입자의 크기가 작아지면서 생기는 비표면적 증가 효과나 침투 효과(또는 모세관 효과)를 이용하여 새로운 응용분야를 만들어낼 수 있다[17,18].

본 연구에서는 독성이 없고 생분해성이 좋으며 환경오염의 염려가 없는 키토산과 γ -PGA를 이용하여 키토산/ γ -PGA 나노입자를 제조하였고 이를 이용하여 5가지 중금속(Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+})의 제거 능력을 비교하였다. 또한 중금속 흡착 후 키토산의 회수를 용이하게 하기 위해 키토산 나노입자를 포함하는 alginate 비드를 제조하여 이의 중금속 제거 능력을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. 실험재료 및 기기

실험에 사용된 키토산(분자량 1,000,000 이상, 탈아세틸화도 80% 이상)은 (주) 키토라이프 분말을 구매하여 사용하였으며, γ -PGA (분자량 200,000~500,000, 순도 80% 이상)는 (주)바이오리더스 제품을 사용하였다. 키토산을 용해시키기 위한 용매로 acetic acid(Junsei Co.)를 사용하였으며, 비드 소재로는 sodium alginate(DC Chem. Co.)를 사용하였다. 가교제로는 CaCl_2 (Junsei Co.)를 사용하였다. 중금속은 카드뮴 [$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$], 납 [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$], 아연 [$\text{Zn}(\text{SO}_4)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$], 구리 [$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$], 니켈 [$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]을 1.0 M의 모액을 제조한 다음 필요에 따라 일정한 농도로 희석하여 사용하였다. 측정 및 정량분석에는 유도쌍 플라즈마 분광분석기(ICP, JY38 Plus)를 이용하여 중금속 이온의 농도를 측정하였고, 고해상도 투과 전자 현미경(HR-TEM, JEOL-2010)을 이용하여 나노입자의 크기와 형태를 확인하였다.

2-2. 용액의 제조

양이온 다당류로서 키토산 분말 0.1~1 g을 1% 초산 수용액 100 ml에 용해시켜, 키토산 농도가 0.1~1%(w/v)인 키토산 용액을 제조하였다. 용액 제조 후 24 시간 동안 실온에서 충분히 교반하여 키토산이 완전히 용해될 수 있도록 하였다. 음이온 고분자로는 γ -PGA 분말 0.1 g을 증류수 90 ml에 용해시켜 키토산 용액과 반응시 사용하였다.

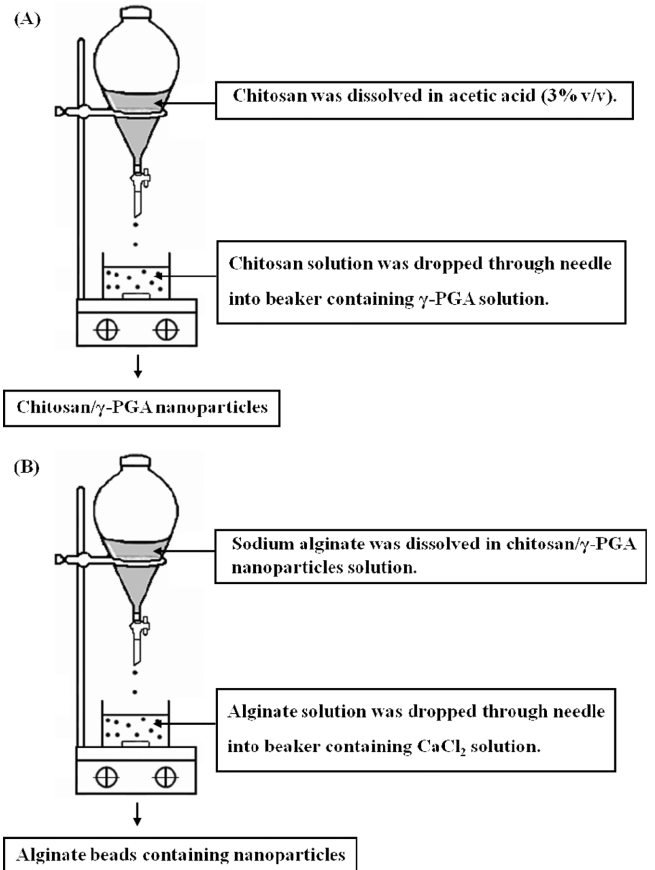


Fig. 1. Preparation of (A) chitosan/ γ -PGA nanoparticles and (B) alginate beads containing nanoparticles.

2-3. 키토산/ γ -PGA 나노입자의 제조 및 비드의 제조

키토산 나노입자를 제조하기 위해 Fig. 1A에 나타난 바와 같이 0.1~1%(w/v) 키토산 용액(10 ml)을 방울지게 분사해 주면서 γ -PGA 용액(90 ml)이 담긴 비커에 떨어뜨려 상온에서 교반시키면서 키토산/ γ -PGA 나노입자를 제조하였다.

키토산/ γ -PGA 나노입자가 함유된 비드를 제조하기 위해 Fig. 1B에 나타난 바와 같이 키토산/ γ -PGA 나노 콜로이드 용액 50 ml에 sodium alginate를 첨가하여 40 °C로 가열 교반하면서 용해하여 키토산/ γ -PGA 나노입자가 첨가된 sodium alginate(0.5 wt%) 용액을 제조하였다. 이 용액의 온도를 상온으로 낮춘 후 CaCl_2 (100 mM) 용액이 담긴 비커에 적가하여 비드를 제조하였다. 비드의 크기는 바늘의 직경과 유속에 의해 조절 가능하며, 비드의 크기는 1~5 mm로 조절하였다. 키토산 비드는 증류수로 중성이 될 때까지 몇 차례 세척하여 사용하였다.

2-4. 중금속 흡착 실험

중금속 제거실험은 회분식으로 하였으며, 250 ml 비커에 각각 100 ppm의 카드뮴, 납, 아연, 구리, 니켈 중금속 용액을 준비한 뒤 키토산/ γ -PGA 나노 콜로이드 용액(50 ml)과 키토산/ γ -PGA 나노입자를 함유한 비드(6 g)를 중금속 수용액 200 ml에 넣은 뒤 실온에서 150 rpm으로 교반시키면서 0, 5, 30, 60, 120분 간격으로 1회에 10 ml 씩 채취하여 원심분리 후 0.20 μm 시린지 필터로 여과한 후 분석에 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 키토산/γ-PGA 나노입자의 합성

키토산 분말의 농도가 나노입자의 형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 γ-PGA의 양을 0.1 wt%로 고정하고 키토산의 농도를 0.1, 0.5, 1 wt%로 변화시켜 나노입자를 제조하였다. TEM을 이용하여 나노입자의 형태를 관찰한 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2에서 볼 수 있듯이 구형의 나노입자를 제조할 수 있었으며, 키토산의 농도가 낮을수록 입자크기(약 80 nm)는 작았고(Fig. 2A), 키토산 농도가 높을수록 입자가 뭉치는 현상을 볼 수 있었다(Fig. 2B). 또한 키토산의 농도가 1 wt%인 경우 입자의 크기는 약 300 nm로 입자의 크기가 증가하였으며 입자의 수는 줄어들었다(Fig. 2C). 이는 사용된 γ-PGA에 비해 키토산의 양이 많아 γ-PGA를 둘러싸는 키토산이 γ-PGA의 표면에 더 많이 흡착되었기 때문으로 보인다.

3-2. 수용액상 중금속 농도의 변화

키토산 나노입자와 비드의 중금속 흡착 특성을 조사하기 위하여 초기 중금속의 농도를 100 ppm으로 일정하게 하여 시간에 따른 중금속의 농도변화를 관찰하였다. Fig. 3을 보면 구리 이온 수용액상에서 나노입자의 구리 이온 흡착으로 인해 투명했던 용액의 색이 반응과 동시에 푸르게 변하고, 구리 이온이 결합된 나노입자가 가라앉으면서 용액의 색이 다시 맑아짐을 알 수 있다. 마찬가지로 구리용액

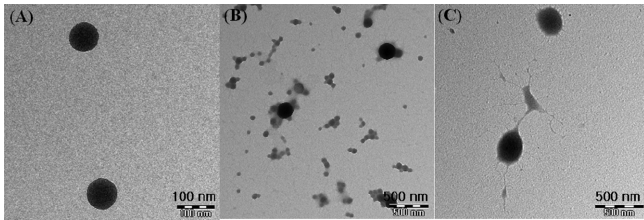


Fig. 2. TEM photographs of chitosan/γ-PGA nanoparticles with various concentrations of chitosan; (A) 0.1 wt%, (B) 0.5 wt%, and (C) 1 wt%.

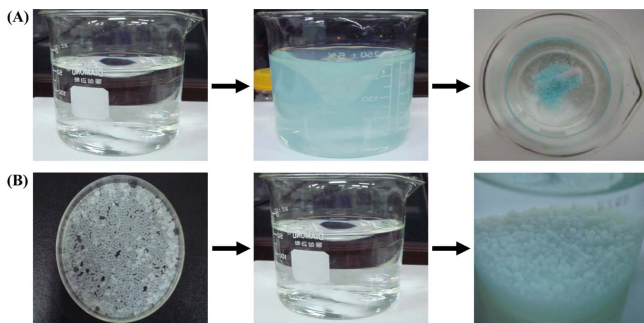


Fig. 3. Photographs of (A) chitosan/γ-PGA nanoparticles and (B) alginate beads containing nanoparticles in heavy metal solution.

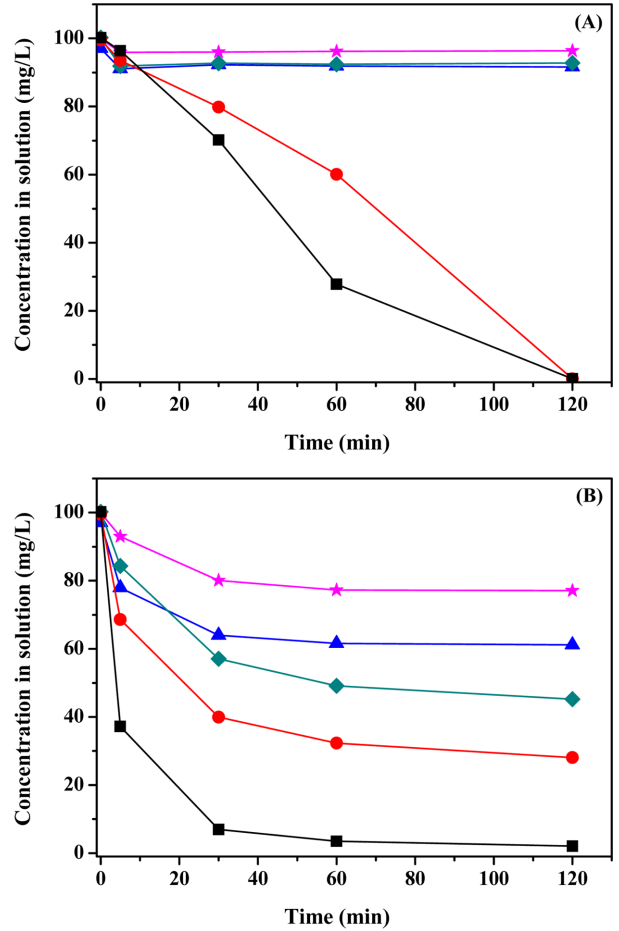


Fig. 4. Comparison of residual Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Ni^{2+} concentrations using (A) chitosan/γ-PGA nanoparticles and (B) alginate beads containing nanoparticles (◆: Cd^{2+} , ■: Pb^{2+} , ★: Zn^{2+} , ●: Cu^{2+} , ▲: Ni^{2+}).

과 반응한 비드의 경우도 구리용액의 흡착으로 인해 비드의 색이 변하면서 구리이온이 제거되었음을 알 수 있었다. Table 1과 Fig. 4A에 나타난 바와 같이 나노입자의 중금속 흡착 실험에서 납과 구리 이온의 경우 반응과 동시에 중금속을 계속적으로 제거하여 반응 시작 후 120분 내에 99% 이상의 중금속 제거율을 보였으며, 카드뮴, 니켈, 아연 이온의 경우 매우 낮은 중금속 제거율을 보였다. Table 1과 Fig. 4B를 보면 비드의 중금속 흡착 실험에서 반응 시작 후 5분 내에 급속한 중금속 제거율을 보이다가 60분 내에 평형에 도달하였다. 비드의 경우 반응 시작 후 빠른 중금속 제거율을 보인 이유는 alginate가 β-D-mannuronate와 α-L-guluronate unit들이 α-1-4 glycosidic linkage에 의해 결합된 고분자 중합체로서, Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} 등과 같은 2가 이온들과 강한 친화력을 나타내어 2가 이온이 함유된 수용액 내에서

Table 1. Removal of heavy metal ions on chitosan/γ-PGA nanoparticles and alginate beads containing nanoparticles

Heavy metals	Nanoparticles			Beads		
	Initial conc. (ppm)	Residual conc. (ppm)	Removal (%)	Initial conc. (ppm)	Residual conc. (ppm)	Removal (%)
Pb^{2+}	100	0.06	99.9	100	2.09	97.9
Cu^{2+}	99.5	0.01	100	99.5	28.1	71.8
Cd^{2+}	100	92.8	7.38	100	45.2	54.9
Ni^{2+}	97.0	91.6	5.56	97.0	61.2	36.9
Zn^{2+}	99.9	96.4	3.50	99.9	77.1	22.8

결합을 하는 특성을 가지고 있어[19], 내부에 함유된 키토산 나노입자와 함께 중금속을 흡착하기 때문이라고 판단된다. 키토산 나노입자의 경우 큰 비표면적으로 인해 적은 양으로도 중금속 흡착능력이 뛰어나지만 실제 중금속 흡착 공정 적용에 있어 흡착 후 분리를 위한 공정이 추가되어 비용이 증가된다는 단점을 지니고 있다. 반면에 비드의 경우 취급이 간편하고 공정이 간소해질 뿐만 아니라 중금속 이온의 회수도 쉽다는 장점이 있어 중금속 흡착제로써 역할을 할 수 있을 것으로 판단된다. 비드의 중금속 흡착에 있어 납 이온의 경우 제거율이 97% 이상으로 가장 높은 중금속 제거율을 보였으며 $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+}$ 순으로 제거가 잘 되었다. 전체적으로 납과 구리 이온의 경우 제거가 잘 되었으나, 카드뮴, 니켈, 아연 이온의 경우 제거율이 떨어졌다. 2가 금속의 경우에는 전기음성도와 이온반경의 함수로 표현되는 covalent index에 비례하여 $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+}$ 의 순서로 중금속 제거율이 좋다고 보고된 바가 있다[20]. 그러나 흡착제의 종류, pH, 온도 등과 같은 반응상태에 따라 중금속 제거 결과가 바뀔 수 있다고 보고된 바가 있어[21-23], 중금속 제거 순서 차이의 명확한 결론은 아직 내려져 있지 않아 이에 대한 정밀한 연구가 추후 실행되어야 하겠다.

본 연구의 결과, 키토산 나노입자와 비드를 이용한 처리시스템은 중금속 폐수 또는 중금속으로 오염된 지하수 처리 등에 활용이 가능할 것으로 기대되며, 제거효율이 높고, 에너지 절약, 처리장의 소형화, 경비 절감 등의 특성을 갖는 처리공정에 응용이 가능할 것으로 판단된다.

4. 결 론

본 연구에서는 인체에 유해한 계면활성제를 사용하지 않고 간단한 공정을 통해 제조할 수 있는 키토산 나노입자 제조방법으로 종래부터 식품첨가제로 사용하고 있는 인체에 무해한 γ -PGA를 사용하여 키토산의 양이온으로 충전된 아미노 그룹과 음이온으로 충전된 γ -PGA 사이의 이온 상호작용에 의해 키토산의 나노입자를 제조할 수 있음을 확인하였다. 나노입자 크기의 경우 키토산의 농도가 낮을수록 작았고, 농도가 높을수록 입자가 뭉침을 확인할 수 있었다. 나노입자의 크기는 평균 80-300 nm 범위에서 형성되었으며, 키토산의 농도는 크기가 작고 고른 0.1 wt%가 적당하였다. 또한, 이렇게 제조한 γ -PGA/키토산 나노입자와 비드에서의 중금속 제거능력을 확인할 수 있었고, 나노입자의 중금속 제거 능력은 $Cu^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+}$ 의 결과를 보였다. 본 연구에서 제조한 키토산 나노입자와 비드는 구리와 납 등의 중금속이온을 효과적으로 제거할 수 있는 흡착제로 활용 가능한 소재로 판단된다.

감 사

본 연구는 2010학년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Rinaudo, M., "Chitin and Chitosan: Properties and Applications," *Prog. Polym. Sci.*, **31**, 603-632(2006).
2. Ieva, E., Trapani, A., Cioffi, N., Ditaranto, N., Monopoli, A. and

- Sabbatini, L., "Analytical Characterization of Chitosan Nanoparticles for Peptide Drug Delivery Applications," *Anal. Bioanal. Chem.*, **9**, 207-215(2009).
3. Kataoka, T. and Yoshida, H., "Adsorption of $HgCl_2$ on Cl^- Form Anion Exchangers-Equilibrium Isotherm," *Chem. Eng. J.*, **8**, 107-114(1988).
4. Akkaya, G., Uzun, I. and Güzel, F., "Adsorption of Some Highly Toxic Dye-stuffs from Aqueous Solution by Chitin and Its Synthesized Derivatives," *Desalination*, **9**, 1115-1123(2009).
5. Guibal, E., Saucedo, I., Jansson-Charrier, M., Delanghe, B. and Le Cloirec, P., "Uranium and Vanadium Sorption by Chitosan and Derivatives," *Water Sci. Technol.*, **9**, 183-190(1994).
6. Leusch, A., Holan, Z. and Volesky, B., "Biosorption of Heavy Metals(Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) by Chemically-Reinforced Biomass of Marine Algae," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **10**, 279-288(1995).
7. Poo, H., Park, C., Kwak, M.-S., Choi, D.-Y., Hong, S.-P., Lee, I.-H., Lim, Y. T., Choi, Y. K., Bae, S.-R., Uyama, H., Kim, C.-J. and Sung, M.-H., "New Biological Functions and Applications of High-Molecular-Mass Poly- γ -glutamic Acid," *Chemistry Biodiversity*, **7**, 1555-1562(2010).
8. Ivánovics, G. and Erdős, L., "Ein Beitrag zum Wesen der Kapselsubstanz des Milzbrandbazillus," *Z. Immunitätsforsch.* **90**, 5-19(1937).
9. Sawamura, S., "On *Bacillus natto*," *J. Coll. Agric. Tokyo*, **5**, 189-191(1913).
10. Shih, I.-L. and Van, Y.-T., "The Production of Poly- $(\gamma$ -glutamic acid) from Microorganisms and Its Various Applications," *Biores. Technol.*, **79**, 207-225(2001).
11. Sung, M.-H., Park, C., Kim, C.-J., Poo, H., Soda, K. and Ashiuchi, M., "Natural and Edible Biopolymer Poly- γ -glutamic Acid: Synthesis, Production, and Applications," *Chemical Record*, **5**, 352-366(2005).
12. Grenha, A., Seijo, B., Serra, C. and Remuñán-López, C., "Chitosan Nanoparticle-Loaded Mannitol Microspheres: Structure and Surface Characterization," *Biomacromol.*, **8**, 2072-2079(2007).
13. Kawashima, Y., "Nanoparticulate Systems for Improved Drug Delivery," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **47**, 1-2(2001).
14. Mao, H.-Q., Roy, K., Truong-Le, V. L., Janes, K. A., Lin, K. Y., Wang, Y., August, J. T. and Leong, K. W., "Chitosan-DNA Nanoparticles as Gene Carriers: Synthesis, Characterization and Transfection Efficiency," *J. Control. Rel.*, **70**, 399-421(2001).
15. Qi, L. and Xu, Z., "Lead Sorption from Aqueous Solutions on Chitosan Nanoparticles," *Colloid Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, **251**, 183-190(2004).
16. Chang, Y.-C. and Chen, D.-H., "Preparation and Adsorption Properties of Monodisperse Chitosan-bound Fe_3O_4 Magnetic Nanoparticles for Removal of Cu(II) Ions," *J. Colloid Interf. Sci.*, **283**, 446-451(2005).
17. Seo, W.-S., Kim, T.-H., Sung, J.-S. and Song, K.-C., "Synthesis of Silver Nanoparticles by Chemical Reduction Method," *Korean Chem. Eng. Res.(HWAHAK KONGHAK)*, **42**, 78-83(2004).
18. Kim, B. S. and Song, J. Y., in: C. T. Hou and J.-F. Shaw(Ed.) *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, CRC Press, 399-407(2009).
19. Kang, M. K. and Kim, J.-C., "Preparation and Release Property of Alginate Beads Immobilizing Poly(N-isopropylacrylamide-co-dimethylamino ethyl methacrylate)," *Polym.(Korea)*, **34**, 79-

- 83(2010).
20. Brady, J. M. and Tobin, J. M., "Binding of Hard and Soft Metal Ions to *Rhizopus arrhizus* Biomass," *Enzyme Microb. Technol.*, **17**, 791-796(1995).
21. Bhattacharyya, K. G. and Gupta, S. S., "Pb(II) Uptake by Kaolinite and Montmorillonite in Aqueous Medium: Influence of Acid Activation of the Clays," *Colloid Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, **277**, 191-200(2006).
22. Singh, S. P., Ma, L. Q. and Hendry, M. J., "Characterization of Aqueous Lead Removal by Phosphatic Clay: Equilibrium and Kinetic Studies," *J. Hazard. Mater.*, **36**, 654-662(2006).
23. Srinivasa Rao, P., Vijaya, Y., Boddu, V. M. and Krishnaiah, A., "Adsorptive Removal of Copper and Nickel Ions from Water Using Chitosan Coated PVC Beads," *Biores. Technol.*, **100**, 194-199(2009).