

الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة باستعمال الكتلة الحيوية الحية والميتة للعزلة الفطرية *Aspergillus niger*

الهام إسماعيل الشمري
قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة،
جامعة بغداد، العراق.
elhamfadhil@yahoo.com

احمد صباح محمد
قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة،
جامعة بغداد، العراق.

تاريخ استلام البحث: 2017/03/21
تاريخ القبول: 2017/11/15
تاريخ النشر: 2018/10/25

الخلاصة: قدرت الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe باستعمال الكتلة الحيوية الحية والميتة والمعاملة بالقاعدة NaOH(0.1M) مرة والحامض HCL(0.1M) مرة اخرى للعزلة المحلية *Aspergillus niger*، حيث بلغت النسبة المئوية للازالة بالخلايا الحية (93,92,98,90,96,97,99) %، والميتة (95, 93, 100, 92, 98, 99, 100) %، وتم الحصول على ازالة تامة للعناصر Fe, Ni, Zn, Pb, Cu ونسبة ازالة 96 و97% للعناصر Cr, Cd على التوالي باستعمال الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة و نسبة ازالة 90,87,95,90,94,92,98,99% للعناصر Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe على التوالي باستخدام الكتلة الحيوية المعاملة بالحامض. اثبتت العزلة مقدرتها على الازالة التامة لغالبية العناصر الثقيلة قيد الدراسة من محاليلها بتركيز منخفضة (1 ملغم / لتر) بصورة منفردة او مجتمعة، كما اثبتت العزلة مقدرتها على ازالة المعادن مجتمعة بتركيز 100 ملغم / لتر، اذ بلغت نسبة الازالة للمعادن Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe بتركيز 1 ملغم/لتر بصورة منفردة (100,90,100,80,90,99,100) % على التوالي، و بلغت نسبة الازالة للمعادن Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe بتركيز 1 ملغم/لتر بصورة مجتمعة (100,99,100,90,99,100,100) على التوالي. اثبتت العزلة *Aspergillus niger* كفاءة عالية في المعالجة الحيوية لمياه الصرف الصناعي لمصفاى الدورة وفضلة مياه معمل البان ابو غريب باستعمال الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة حيث بلغت نسبة الازالة للأول (100,97.2,100,94.4,100,97.8,100) وللثاني (100,95,100,90,100,97.5,100) للمعادن (Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe) على التوالي.

الكلمات المفتاحية: العناصر الثقيلة، الازالة، الكتلة الحية.

Bio Removal of Heavy Metals by *Aspergillus niger* Dead and Live Biomass

Abstract: The determination of heavy minerals removal Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe achieved by using the dead and alive biomass and the pretreated biomass by NaOH 0.1 M and HCL 0.1. The percentages of removal in alive cells were 99, 97, 96, 90, 98, 92, 93 % and in dead cells were 100, 99, 98, 92, 100, 93, 95 % consequently, and the pretreated biomass by NaOH 0.1 M showed complete removal for the minerals Fe, Ni, Zn, Pb, Cu and 96,97 % for the minerals Cd, Cr and the pretreated biomass by NaOH 0.1 M showed 90,87,95,90,94,92,98 % for the minerals Fe, Ni, Zn, Cd, Pb, Cr, Cu consequently. The isolate have proved it's fully removal ability for the most studied heavy elements by their analyze at low concentrations (1 mg/l) individually (100,99,90,80,100,90,100)% or combined (100,100,99,90,100,99,100)% for the minerals Fe, Ni, Zn, Cd, Pb, Cr, Cu consequently. *Aspergillus niger* isolate has proved a high efficiency in biological treatment for the industrial waste water of Al-Daura refinery and the waste water of the Abu-Ghraib Dairy factory using pretreated dead biomass by NaOH 0.1 M, the mineral removal percentage reached (97.5,96.6,95.87.5,98.9,88.8,90.9) % and (97.5,96.6,95.4,85.7,98,88.8,89.7)% for the minerals Fe, Ni, Zn, Cd, Pb, Cr, Cu consequently. *Aspergillus niger* mutant isolate has proved a high efficiency in biological treatment for the industrial waste water of Al-Daura refinery and the waste water of the Abu-Ghraib Dairy factory by using the Pretreated biomass with NaOH 0.1M, the mineral removal percentage reached (100,97.8,100,94.4,100,97.2,100)% and (100,97.5,100,90,100,95,100) for the minerals Fe, Ni, Zn, Cd, Pb, Cr, Cu consequently.

Key words: Heavy metals, removal, biomass.

كيف تستشهد بهذه المقالة: الشمري، الهام إسماعيل، "الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة باستعمال الكتلة الحيوية الحية والميتة للعزلة الفطرية *Aspergillus niger*" مجلة الهندسة والتكنولوجيا، المجلد 36، العدد الخاص 3، 2018، 222-228.

1. المقدمة

تدخل العناصر الثقيلة الى جسم الكائن الحي اما عن طريق المياه او عن طريق السلسلة الغذائية، وفي حال دخولها الى جسم الكائن فأنها سوف تتراكم في انسجة وأعضاء هذا الكائن مسببة بمرور الوقت اضراراً جسيمة قد تصل في بعض الأحيان لحد التسمم [1,2]. يعود سبب سمية هذه العناصر الى قابليتها على تكوين معقدات عضوية ولا عضوية، أذ تتفاعل مع مجاميع السلفاهيدريل (-SH) Sulfhydryl في البروتينات والتي تعتبر بدورها مواقع فعالة لعمل بعض الانزيمات وبالتالي تثبيط عمل هذه الانزيمات [3]. تلعب المعادن الثقيلة ادواراً مهمة في استنساخ الجينات وتخليق الحوامض النووية، وعند التراكيز العالية تظهر تأثيرات غير متخصصة وبالتالي تسمم الخلايا، ومن الايونات السامة للأنظمة الحيوية بشكل كبير ايونات الفضة Ag^+ وايونات الكاديوم Cd^{++} وايونات الزئبق Hg^{++} لذلك وجب ان تكون الخلايا خالية من معظم الايونات الثقيلة واحتوائها على البعض بتركيز واطئة جدا لغرض ان تبقى حية دون اجهاد [4]. تختزل الاحياء المجهرية او تغير من سمية المعادن الثقيلة من خلال عمليتين وهما التراكم الحيوي والادمصاص الحيوي [5] هناك تداخل في الفهم ما بين مصطلحي التراكم الحيوي Bioaccumulation والامتصاص الحيوي Biosorption فبالاعتماد على الكتلة الحيوية فان التراكم الحيوي يعتمد على الخلايا الحية اما الادمصاص فيعتمد على الخلايا الميتة [6]، كما اشار المصدر ذاته الى ان الادمصاص الحيوي يمتاز بالعديد من الفوائد مثل الكفاءة العالية في ازالة السمية في العديد من السوائل المخففة وبتكاليف منخفضة، والدراسات الموجودة على المستوى الصناعي تشير الى استعمال الادمصاص الحيوي بصورة اوسع، لان الانظمة الحية تحتاج الى اضافة مغذيات ومن ثم زيادة في BOD و COD في السوائل او الفضلات السائلة، اضافة الى ان المعادن المدمصة تكون مفيدة بتداخلها مع الجدار الخلوي بارتباطات داخلية، وربما تكون معقدات مع المعادن والاحتفاظ بها في المحاليل، كما اشار [7,8] الى ان ازالة المعادن بالكتلة الحية تعتمد على النمو وتأثره بالعوامل البيئية، فالأحياء المجهرية بصورة عامة تمتلك مدى من الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة ملائمة للنمو والاداء للوظائف الحيوية وخارج هذا المدى اما تقتل او تثبط، وتتكيف الاحياء المجهرية في مثل هذه الظروف بصورة مختلفة وتؤثر حسب قدرتها في ازالة المعادن. كما اشار [9] الى تأثير مرحلة النمو الفسيولوجي والظروف الفيزيائية في ادمصاص العناصر الثقيلة، كما بين انه على الرغم من ان الطرق البيولوجية توفر بدائل مناسبة مع تكاليف منخفضة اضافة لأنها صديقة للبيئة، الا ان الحاجة تبقى ضرورية لتحسين العملية وتطوير التجارب في هذا المجال.

هدفت الدراسة الحالية الى زيادة كفاءة الازالة الحيوية لبعض المعادن الثقيلة استعمال بالفطر *Aspergillus niger* المعزول محليا من خلال:

- 1- استعمال الكتلة الحيوية الحية والميتة في الازالة الحيوية لمعادن الرصاص والنحاس والكوبلت والنيكل والكروم والحديد والخراسين.
- 2- استعمال الكتلة الحيوية الحية والميتة والمعاملة بالحامض مرة وبالقاعدة مرة اخرى لزيادة كفاءة الازالة.
- 3- اختبار كفاءة العزلة على ازالة المعادن مجتمعة وعلى ازلتها بتركيز منخفضة.
- 4- استعمال الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة في الازالة الحيوية للمعادن في مياه الصرف الصناعي لمصفاى الدورة وفضلة مياه معمل البان ابو غريب.

2. المواد وطرائق العمل

اولاً: تحضير الكتلة الحيوية الحية

تم الحصول على الكتلة الحيوية لفطر *A. niger* حسب الطريقة التي أوردتها [10]، بتلقيح الوسط السائل المعقم PDB والموزع بواقع 500مل في دوارق زجاجية سعة 1 لتر و لقت باللقاح السبوري بواقع 5 مل /لتر اذ يحتوي على 1×10^6 خلية / مليلتر، حضنت في حاضنة هزازة وبسرعة تحريك بلغت 150 دورة / دقيقة ولمدة 5 ايام . بعدها تم جمع الكتلة الحيوية الناتجة ورشحت بواسطة ورق ترشيح وغسلت عدة مرات بماء مقطر معقم لاستعمالها في التجارب اللاحقة.

1- تحضير الكتلة الحيوية الميتة

حضرت الكتلة الحيوية بنفس الطريقة المذكورة في الفقرة اعلاه مع معاملة الكتلة الحيوي المتحصل عليها حرارياً بواسطة الفرن الحراري لمدة 12 ساعة وعلى درجة حرارة 80م [10].

2- تحضير الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة

عملت الكتلة الحيوية الناتجة من الفقرة (1) بمحلول (0.1M) NaOH لمدة نصف ساعة وحسب الطريقة المذكورة من قبل [11]. بعدها تم غسل ما تبقى من قاعده بماء مقطر لا ايوني عدة مرات لضمان التخلص من اثارها تماماً.

3- تحضير الكتلة الحيوية المعاملة بالحامض

عملت الكتلة الحيوية الناتجة من الفقرة (1) بمحلول (0.1M) HCL لمدة نصف ساعه وحسب الطريقة المذكورة من قبل [11] بعدها تم غسل ما تبقى من قاعده بماء مقطر لا ايوني عدة مرات لضمان التخلص من اثارها تماماً.

4- تحضير محاليل املاح المعادن الثقيلة

حضرت محاليل من املاح المعادن قيد الدراسة بتركيز 100 ملغم /لتر باستعمال الماء المقطر اللا ايوني في دوارق زجاجيه سعة 250 مل وبواقع 100 مل في كل دورق وبرقم هيدروجيني 6. أضيف لكل دورق 1 غم من الكتلة الحيوية المحضرة في الفقرات اعلاه كلا على انفراد وحضنت الدوارق في حاضنه هزازة بدرجة حرارة 30م وبسرعة تحريك بلغت 150 دورة/دقيقة لمدد زمنية (24) ساعة وحسب الطريقة المتبعة من قبل [11].

قدر تركيز المعادن المتبقية في النموذج باستعمال جهاز مطياف الامتصاص الذري، وقدرت النسبة المئوية للإزالة حسب المعادلة التالية: النسبة المئوية للإزالة (%) = (تركيز العنصر قبل الازالة - تركيز العنصر بعد الإزالة) / (تركيز العنصر قبل الازالة) × 100

ثانياً: تقدير كفاءة العزلة *A.niger* في ازالة التراكيز المنخفضة من المعادن الثقيلة

1- قدرت كفاءة الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للعزلة *A.niger* في ازالة التراكيز المنخفضة من المعادن الثقيلة، اذ حضرت محاليل من املاح المعادن قيد الدراسة بتركيز 1 ملغم /لتر باستعمال الماء المقطر اللايوني في دوارق زجاجيه سعة 250 مل وبواقع 100 مل في كل دورق وبرقم هيدروجيني 6. أضيف لكل دورق 1 غم من الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة كلا على انفراد وحضنت الدوارق بدرجة حرارة 30م مدة 24 ساعة في حاضنة هزازة 150 دورة/ دقيقة، وقدرت النسبة المئوية للإزالة حسب الطريقة المذكورة في اعلاه.

2- قدرت كفاءة الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للعزلة *A.niger* في ازالة التراكيز المنخفضة من المعادن الثقيلة الموجودة بتركيز 1ملغم/لتر بصورة مجتمعة وبنفس الطريقة المذكورة في الفقرة اعلاه.

ثالثاً: تقدير كفاءة الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للعزلة *A.niger* في ازالة المعادن الثقيلة مجتمعة

قدرت النسبة المئوية لإزالة العناصر المعدنية الموجودة بتركيز 100 ملغم/لتر مجتمعه في الماء المقطر اللايوني برقم هيدروجيني 6، وباستعمال 1غم /لتر من الكتلة الحيوية للفطر *A.niger*، والحضن بدرجة حرارة 30م في حاضنة هزازة 150 دورة /دقيقة لمدة 24 ساعة. قدرت النسبة المئوية للإزالة حسب الطريقة المذكورة في اعلاه.

رابعاً: دراسة قابلية استخدام الكتلة الحيوية للعزلة *A.niger* المعاملة بالقاعدة في ازالة المعادن الثقيلة من مياه الصرف الصناعي لمصفي الدورة وفضلة مياه معمل البان أبو غريب.

حضر نموذجاً مياه الصرف الصناعي لمصفي الدورة وفضلة مياه معمل البان أبو غريب، بأجراء الترشيح باستعمال وحدة الترشيح الميكروبي (0.45 µm) وعدل الرقم الهيدروجيني الى 6، واطيف 1غم من الكتلة الحيوية الميتة المحضرة المعاملة بالقاعدة الدوارق تحوي على 100مل من النماذج كلا على انفراد وحضنت الدوارق بحاضنة هزازة بسرعة 150 دورة/دقيقة لمدة 24 ساعة وبعدها اجري طرد مركزي بسرعة 6000 دورة/دقيقة ولمدة 15دقيقة واخذ الراشح وتم تحضيره لتقدير التركيز المتبقي من العناصر الثقيلة قيد الدراسة.

3. النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج جدول (1) ان صنف الشعير الأبيض ازداد معنوياً بمقدار 88.16% مقارنة بالصنف الأسود المحلي كما حدث انخفاض معنوي في متوسط وزن السنبله وبنسبة 22.87% بالتركيز 10% من بيروكسيد الهيدروجين كما بين الجدول وجود زيادة معنوية وبنسبة 75.5% مقارنة بالتركيز صفر نتيجة للرش بالتركيز 100 ملغم. لتر-1 من فيتامين C، كما اعطى صنف الشعير الأبيض المحلي اعلى متوسط في هذه الصفة مقارنة بصنف الشعير الأسود المحلي، اما بالنسبة للتداخل الثنائي لكلا العاملين فلم تظهر فروق معنوية في هذه

واشار [11] الى ان المعاملات الاولية للكتلة الحيوية للفطريات قد تعزز من قدرتها على الازالة الحيوية للمعادن من خلال التغيير في كيمياء الجدار الخلوي (التداخل للمجاميع الكيميائية المهمة والمختلفة). بين [12] انه من الممكن ان تزيد المعاملة القاعدية من مواقع ارتباط المعادن بواسطة الكتلة الحيوية، في حين أشار [13] الى انه من الممكن ان تؤدي بقايا القاعدة الى تحلل معادن معينة مما يزيد من مدى امتزاجه الكتلة الحيوية للمعادن.

تختلف النتائج المتحصل عليها في المعاملة الحامضية عن النتائج التي توصل لها [4] الذي اشار الى زيادة كفاءة الإزالة للمعادن الثقيلة عند المعاملة الحامضية للكتلة الحيوية واوز السبب في ذلك الى احتمالية اذابة الحامض للمركبات السكرية المتعددة الموجودة في الطبقة الخارجية للجدار الخلوي مما ينتج عنه زيادة في مواقع الارتباط. كما اشار [4] الى ان المعاملة القاعدية بهيدروكسيد الصوديوم تعزز من الامتزاز الحيوي للكتلة الحيوية للفطر *A.terreus* مقارنة بالكتلة الحيوية غير المعاملة.

2. الإزالة الحيوية للمعادن الثقيلة مجتمعة أو على انفراد بتراكيز عالية أو منخفضة من قبل الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للعزلة الفطرية *A.niger*

يوضح جدول (3) تميز الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للعزلة *A.niger* في ازالة المعادن الثقيلة في حال تواجدها مجتمعة في محلولها بتركيز 100 ملغم/لتر، حيث بلغت نسبة الإزالة ارقاماً مرتفعة تمثلت بالإزالة التامة لعنصري النحاس والرصاص في حين بلغت نسبة الإزالة 99% لعنصري الحديد والخراسين وبلغت 94% الكروم و86% لعنصر الكاديوم.

كما يوضح الجدول كفاءة هذه العزلة في ازالة هذه المعادن مجتمعة وبتركيز منخفض لا يزيد عن 1 ملغم/لتر، اذ يلاحظ عدم تأثير كفاءة الإزالة للمعادن من قبل العزلة الفطرية في حال تواجد جميع العناصر المعدنية قيد الدراسة في المحلول، حيث بلغت نسبة الإزالة 100, 99, 100, 90, 99, 100, 100% للمعادن Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe مما يعطي اشارته الى امكانية استعمال الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للفطر *A.niger* في معالجة مياه الصرف الصحي الصناعي ومياه معامل الأغذية من المعادن الثقيلة في حال تواجدها مجتمعة سواء بتركيز منخفض او مرتفع. و اشار [14] الى ان الانظمة التي تحتوي على اكثر من معدن تتأثر بالخواص الفيزيوكيميائية الخاصة بالمعادن مثل القوة الأيونية وثباتيتها مما يؤدي الى ممارسة تأثيرات اضافية على التنافس التفاضلي للمعادن على مواقع الارتباط على الكتلة الحيوية لفطر *A.niger*.

ولاحظ [15] نمو العزلة *A.niger* في وسط حاوي على عناصر الرصاص والكروم والنيكل وتميزت نسبة ازلتها لعنصري الرصاص والكروم، حيث كانت الكمية المزالة 0.70 ملغم/غم و0.66 ملغم/غم للمعدنين على التوالي في حين كانت الإزالة لعنصر النيكل منخفضة، وتميزت العزلة *A.flavus* بقدرتها العالية على ازالة النيكل والبالغة 0.63 ملغم/غم بالمقارنة بعنصري الرصاص والكروم في خلال تواجدهم سوياً في محاليلهم بتركيز 125 ppm لكل عنصر من العناصر، مع ملاحظة كثافة في نمو الفطر *A.niger* بوجود هذه المعادن مقارنة بالأنواع الأخرى من الفطريات، ورغم ارتفاع نسب الإزالة هذه الا انها تعد منخفضة بالمقارنة لو كانت موجوده بصوره مفردة في محاليلها وقد يعزى السبب في ذلك الى التنافس بين المعادن على نفس مواقع الارتباط المحدودة المتواجدة على الجدار الخلوي للفطر، كما أشار [16] الى كفاءة فطري *A.niger* و *penicillium spp*. في ازاله معادن Cd, Cr, Ni سواء كانت مفردة او مجتمعة في محاليلها.

الجدول 3: الإزالة الحيوية للمعادن الثقيلة مجتمعة أو على انفراد من قبل الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للعزلة الفطرية *A.niger*

المعادن	كفاءة الازالة %			
	المعادن كلاً على انفراد بتركيز 100 ملغم/لتر	المعادن مجتمعة بتركيز 100 ملغم/لتر	المعادن بتراكيز منخفضة كلاً على انفراد 1 ملغم/لتر	المعادن بتراكيز منخفضة بصورة مجتمعة (ملغم/لتر)
Fe	98	99	100	100
Ni	92	94	99	100
Zn	91	99	90	99
Cd	87	86	80	90
Pb	96	100	100	100
Cr	90	94	90	99
Cu	92	100	100	100

3. استعمال الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للعزلة *A.niger* في المعالجة الحيوية لمياه الصرف الصناعي لمصفي وفضلة مياه معمل البان ابو غريب

يوضح جدول (4) نتائج المعالجة الحيوية لمياه الصرف الصناعي لمصفي الدورة وفضلة مياه معمل البان ابو غريب، اذ يلاحظ كفاءة الازالة للكتلة الحيوية للفطر المعامل بالقاعدة، اذ يلاحظ الازالة التامة لعناصر الحديد والخراسين والرصاص والنحاس في نموذجي مياه الصرف الصناعي لمصفي الدورة وفضلة مياه معمل البان ابو غريب، مع ملاحظة ارتفاع نسبة الازالة بالنسبة للمعادن الأخرى والتي تواجدهت بنسب مختلفة. اشار [17] الى اتساع استعمال الفطريات الخيطية في التخمرات الصناعية

والمعالجة الحيوية، واعتماديتها اكثر في المعالجة الحيوية بالمقارنة مع الاحياء المجهرية الاخرى وذلك لسهولة ازلتها من المواد السائلة، وادوا على كفاءة الفطر *A.niger* بالمقارنة مع الانواع الاخرى من الفطريات في ازالة معدي النحاس والزنك من فضلة مياه معامل الاصباغ والدباغة ونسبة 91% للأول و 70% للثاني على التوالي. ووضح [15] بأن خلايا الفطريات الحية والميتة منها استعملت لأزالة المعادن من الجداول المائية باستعمال نظام الوجبة او النظام المستمر مع الإشارة الى افضلية الخلايا الميتة للفطر في عملية الازالة بالمقارنة مع الخلايا الحية وهذا يتطابق مع النتائج المتحصل عليها، ويعود السبب في ذلك الى عدم وجود حدود للسمية في الخلايا الميتة اضافة الى انه لا تحتاج الى متطلبات نمو و وسط للتغذية و سهولة عملية الامتزاز فيها لأتساع المساحة السطحية للإزالة.

جدول (4) نتائج المعالجة الحيوية لمياه الصرف الصناعي لمصفاى الدورة وفضلة مياه معمل البان ابو غريب باستعمال

الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة للفطر *A.niger*

النسبة المئوية لأزالة المعادن الثقيلة من مياه المعادن	النسبة المئوية لأزالة المعادن الثقيلة من مياه الصرف الصناعي لمصفاى الدورة باستعمال الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة لفطر <i>A.niger</i>	معمل البان أبو غريب باستعمال الكتلة الحيوية المعاملة بالقاعدة لفطر <i>A.niger</i>
Fe	100.00	100,00
Ni	97.83	97.50
Zn	100.00	100.00
Cd	94.44	90.00
Pb	100.00	100.00
Cr	97.22	95.00
Cu	100.00	100.00

المصادر (References)

- [1] G. Siasu, K.J. Martillano, T.P. Al-Cantara, E. Rragio, J. De Jesus, A. Hallare and G. Ramos, "Assessing Heavy Metals in the Waters, Fish and Macroinvertebrates in Manila Bay, Philippines," Journal of Applied Science in Environmental Sanitation, 4, 3, 187- 195, 2009.
- [2] A.C. Gradinaru, O. Popescu, G.Solcan, "Variation analysis of heavy metal residues in milk and their incidence in milk products from Moldavia, Romania," Environmental Engineering and Management Journal, 10, 1445-1450, 2011.
- [3] M.X. Loukidou, A.I. Zouboulis, T.D. Karapantsions and K.A. Matis, "Equilibrium and kinetic modeling of Cr (VI) biosorption by *Aeromonas caviae*," Colloids and Surfaces A:Physicochemical and Engineering. 242, 93-104, 2004.
- [4] L. Simeonov, M. Kolhubovski and Simeonov, "Environmental heavy metal pollution and effects on child mental development. Dordrecht," Netherlands: Springer, 114-115, 2010.
- [5] S.M. Sekhar, "Identification and Characterization of Predominant heavy metal resistant bacteria isolated from industrial effluents," Society of Sci, Dev.in Agric. and Tech., 8(special), 315-318, 2013.
- [6] S.A. Asbchin, "Comparison of Biosorption of Cadmium(II) from Aquous Solution, by *Bacillus* sp. and *pseudomonas aeruginosa*," Iranian Journal of Chemical Engineering, 10, 2, 2013.
- [7] L.M. Prescott, J.P. Harley and D.A. Klein, "Microbiology, Fifth Edition," New York, US. McGraw-Hill Higher Education. 95-112, 2002.
- [8] H. Brandl and M.A. Famarzi, "Microbe-metal-interactions for the biotechnological treatment of metal-containing soild waste," China Particulogy, 4, 2, 93-97, 2006.
- [9] H.K. Alluri, R.S. Ronda, S.V. Settalluri, S.J. Bondili, V. Suryanarayana and P. Venkateshwar, Biosorption: An eco-friendly alternative for heavy metal removal. African Journal of Biotechnology, 6, 25, 2924-2931, 2007.
- [10] P. Jaeckel, G.J. . Krauss GJ, Krauss, "Cadmium and zinc response of the fungi *Heliscus lugdunensis* and *Verticillium cf. alboatrum* isolated from highly polluted water," Sci Total Environ., 15, 346, 1-3, 274-9, 2005.
- [11] A. Javaid, R. Bajwa, T. Manzoor, "Biosorbtion of heavy metals by pretreated biomass of *Aspergillus niger*. Institute of Plant Pathology, University of the Punjab, Quaid-e-Azam Campus, Lahore-54590, Pakistan. Pak. J. Bot., 43, 1, 419-425, 2011.

- [12] G. Yan and T. Viraraghavan, "Heavy metal removal in a biosorption column by immobilized *M. rouxii* biomass," *Bioresource Technology*, 78, 3, 243-249, 2001.
- [13] Brierly, Metal immobilization using bacteria. In: *Microbial Mineral Recovery*, (Eds.): H.L. Ehrlich and C.L. Brierly. pp. 303-323. McGraw-Hill Publishing, New York, 1990.
- [14] P. Rao, P. Raja and Ch. Bhargavi. Studies on Biosorption of Heavy Metals Using Pretreated Biomass of Fungal Species. *International Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 3, 4, 171- 180, 2013.
- [15] S. Dwivedi1, A. Mishra and D. Saini, "Removal of Heavy Metals in Liquid Media through Fungi Isolated from Waste Water, *International Journal of Science and Research*, 1, 3, 181-185, 2012.
- [16] S. Dwivedi1, A. Mishra and D. Saini, "Removal of Heavy Metals in Liquid Media through Fungi Isolated from Waste Water, *International Journal of Science and Research*, 1, 3, 181-185, 2012.
- [16] M. Ahmed, A. and Malik, "Bioaccumulation of Heavy Metals by Zinc Resistant Bacteria Isolated from Agricultural Soils Irrigated with Waste water," *Bacteriology Journal*. ISSN 2153-0211, 2011.
- [17] M.S. Price, J.J. Classen, G.A. Payne, "Aspergillus niger absorbs copper and zinc from swine wastewater," *Bioresour Technol.*, 77, 1, 41-9, 2001.