نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

حذف فلزات سنگین به روش جذب بیولوژیکی از محلولهای آبی

رضا فولادی فرد*[۱]، حسین کمانی[۱]، مهران خائفی[۱]
۱.دانشجوی کارشناسی ارشد عمران، محیط زیست دانشگاه تهران
۲.دانشجوی کارشناسی ارشدمهندسی بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. کارشناسی ارشدمهندسی محیط زیست، آب وفاضلاب
rezafd@yahoo.com
hossein kamani@yahoo.com

چکیده

فلزات سنگین یکی از آلاینده های پایدار غیر قابل تجزیه بیولوژیکی است که می‌تواند همراه پساب تصفیه شده یا فاضلاب صنایع مختلف به محیط زیست وارد شوند.

یکی از راههای جلوگیری از ورود این مواد به محیط زیست تصفیه و حذف آنها از پساب ،روش رسوب دهی شیمیایی است که این روش به دلیل داشتن هزینه بالا و تولید لجن شیمیایی مسئله ساز می باشد. در نتیجه روش حذف بیولوژیکی به عنوان گزینه‌ای که هم اقتصادی بوده و هم سازگار با محیط زیست می باشد مورد توجه قرار گرفته است.

تصفیه بیولوژیکی که توسط جرم بیولوژیکی(قارچ،مخمر،باکتری،جلبک) انجام می‌شود دارای مکانیزمهای جذب، کمپلکس با سطح سلول، تعویض یونی و رسوب میکرونی است و دارای مزایایی از قبیل پائین بودن هزینه راهبری، پائین بودن حجم لجن بیولوژیکی و شیمیایی دفعی، راندمان بالا، قابلیت احیا جرم بیولوژیکی و بازیافت فلزات سنگین است.

کلمات کلیدی: جذب بیولوژیکی ، فلزات سنگین، جرم بیولوژیکی ، تصفیه پساب

مقدمه

فلزات سنگین یکی از آلاینده‌های پایدار غیرقابل تجزیه بیولوژیکی است که می‌تواند در محیط زیست به آب و خاک وارد شود و از آنجا جذب گیاه شود و بدین ترتیب وارد زنجیره غذایی شود، بنابراین برای هر کدام از فلزات سنگین حدی تعیین شده است که بالاتر از آن می‌تواند سمی و خطرناک باشد [۳ ، ۲، ۱]. امروزه سازمانهایی که حفاظت از محیط زیست را بر عهده دارند با وضع قوانینی از ورود بی رویه این عناصر به طرق مختلف به محیط زیست جلوگیری می کنند.

یکی از راههای ورود این عناصر به محیط زیست پساب فاضلاب تصیفه شده یا تصفیه نشده بعضی از صنایع که در پروسه خود با این عناصر کار می‌کنند دیده می‌شود. روشهای معمولی جهت حذف فلزات سنگین از چنین پساب هایی، رسوب دهی شیمیایی هیدروکسید و یا سولفید، و تعویض یونی می‌باشد که این روشها علاوه بر هزینه بالا که سبب خودداری صاحبان صنایع از کاربرد چنین روشهایی می‌شود مشکل تولید لجن حاصله از رسوبات شیمیای را نیز به دنبال دارند چرا که مشکل موجود در محیط آبی تبدیل به یک مشکل جدید در قمست مواد زاید می‌شود که سازگار با محیط زیست نی‌ستند [۶، ۵، ۴] . چنین مشکلاتی سبب شده است که روش حذف بیولوژیکی به عنوان گزینه ای که هم اقتصادی بوده و هم سازگار با محیط زیست است مورد توجه قرار گیرد [۷].

تلاش در راستای استفاده از روش های حذف بیولوژیکی منجر به تولید جاذب های بیولوژیکی تجاری قوی مانند Alga SORB^{TM} (با استفاده از جلبک آب شیرین Chlorella Vulgaris)، Fix–Bio (با استفاده از منابعی چون سیانو باکتری‌ها، مخمز و جلبک) و AMT - BIOCLAIM^{TM}(MAR) (با استفاده از باسیلوس) شده است که به صورت گرانول جهت تصفیه فاضلاب و بازیاف فلزات به کار برده می‌شوند [۸].

جذب بیولوژیکی

روش حذف بیولوژیکی که توسط جرم بیولوژیکی صورت می‌گیرد، به دو روش انجام می‌شود وقتی که فلزات سنگین روی جرم بیولوژیکی زنده و غیر زنده باند می شود بدون اینکه ضرری برای جرم بیولوژیکی داشته باشد. جذب بیولوژیکی نامیده می شود [۱۰ و ۹] و زمانیکه حذف فلزات سنگین در زمان تماس طولانی جرم بیولوژیکی زنده با محلول فلزی از طریق داخل سلولی صورت گیرد تجمع بیولوژیکی (Accumulation) نامیده می شود.

به علت اینکه تجمع بیولوژیکی فرآیندی است که به رشد سلول وابسته بوده بنابراین مشخص کردن مقادیر حذف در این روش متفاوت از جذب بیولوژیکی بوده و کمکی پیچیده‌تر به نظر می‌رسد [۱۱].

مزایایی از قبیل پائین بودن هزینه راهبری، پائین بودن لجن بیولوژیکی و شیمیای دفعی، راندمان حذف بالای فلزات از پساب و همچنین عدم نیاز به مواد مغذی سبب شده است که جاذب های بیولوژیکی به عنوان یک روش جدید جهت حذف فلزات سنگین از پساب های صنعتی مورد استفاده قرار گیرند چنانچه ظرفیت مربوط به حذف یک جاذب بیولوژیکی با ظرفیت جذب یک رزین کاتیونی سنتتیک تجاری برابر می‌باشد [۱۲].

مکانیسم جذب

مکانیزم باند شدگی فلزات به علت پیچیدگی ماهیت جرم بیولوژیکی به آسانی قابل تصور نیست، بنابراین محل تجمع فلزات توسط میکروسکوپ الکترونی و اشعه ایکس و آنالیزهای دیگر مشخص می‌شود [۱۳]. مکانیزم جذب اصولاً شامل کمپلکس با سطح سلول، تعویض یونی و رسوب های ریز (در حد میکرون) است [۱۴ و ۵]. جاذب های بیولوژیکی نسبت به فلزات سنگین مختلف تمایلات جذب متفاوتی دارند و لذا در ظرفیت جذب خود متفاوت عمل می‌کنند. کارآیی جاذب بیولوژیکی بستگی به حالت یونی میکروارگانیزم داشته و همانند رزین های سنتتیک این جاذب می‌بایست با فرمهای یونی متفاوتی همچون حالت پروتونی (H^+) و یا کاتیونی (Mg^{++}, Ca^{++}, Na^+) اشباع شوند به همین خاطر باتوجه به نوع میکروارگانیزم و فلز سنگین به کمک اسیدهای معدنی، باز و یا نمک یک املاح اولیه‌ای بر روی جرم بیولوژیکی انجام می‌شود. از دیگر عوامل موثر در پدیده جذب نقش گروههای مختلف جرم بیولوژیکی در حذف و بازیافت فلزات سنگین توسط پدیده جذب است چرا که جرم های بیولوژیکی مختلف همچون باکتریها، قارچها، مخمرها، سیانو باکتری‌ها و جلبک‌ها انواع گوناگونی از فلزات سنگین با مقادیر مختلف را می‌توانند جذب کنند [۱۷، ۱۶، ۱۵، ۴، ۱].

درجاذب‌های بیولوژیکی تمام یونهای فلزی قبل از دسترسی به غشای پلاسمایی و سیتوپلاسم می‌بایست از میان دیواره سلولی بگذرند که خود این دیواره سلولی حاوی پلی ساکارید و پروتئینهای مختلفی بوده و لذا سایت های فعالی که قابلیت باند کردن یون فلزات را داشته در اختیار دارند [۱۳]. فرآیند جذب در باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی نیز متفاوت است چرا که دیواره سلولی باکتریهای گرم منفی از دیواره سلولی گرم مثبت‌ها نازک تر بوده و لذا لینک های عرضی محکمی ندارند اما دارای غشاء بیرونی متشکل از لیپوپلی ساکارید (LPS)، فسفولیپید و پروتئین می‌باشند [۱۸]. در حالیکه دیواره سلولی باکتریهای گرم مثبت با داشتن گلیکو پروتئین بیشتر در سطح خارجی خود نسبت به باکتریهای گرم منفی پتانسیل جذب بیشتری برای جذب بیولوژیکی فلزات سنگین از جمله Cd^{++} داشته که این مسئله باعث بروز اختلاف در ظرفیت جدید آنها شده است [۲۰، ۱۹].

مواد پلیمری خارج سلولی نیز به صورت انتخابی یونهای فلزی را با پتانسیل تجمعی بالا می‌توانند باند کنند. این پلیمرها پتانسیل آنیونی داشته که فلزات کاتیونی را باند کرده و اغلب به صورت کپسولها و یا به صورت مجموعه‌های متراکمی در اطراف دیواره شکل می‌گیرند [۲۱، ۸].

بنابراین اختلاف در خصوصیات دیواره سلولی میان جرمهای بیولوژیکی مختلف همچون جلبک‌ها، باکتریها، سیانو باکتریها و قارچها و نیز اختلاف در خود تقسیمات بین گونه‌ای تفاوت قابل ملاحظه‌ای را در نوع و مقدار فلز جذب شده بوجود می آورد [۲۲]. از آنجایی که جذب بیولوژیکی مربوط به جداسازی توسط سطح سلول می‌باشد لذا تغییر در دیواره سلول می‌تواند به طور قابل توجهی در باند کردن یونهای فلزی تأثیر بگذارد، بدین منظور روشهایی جهت تغییر دیواره سلولی برای افزایش ظرفیت باند فلزات سنگین توسط جرم بیولوژیکی بکار گرفته می‌شود [۱۴].

به عنوان مثال باکتریهای گرم مثبت با اضافه کردن نوترنیتها و قرار دادن آنها در انکوباتور به مدت ۲ ساعت، ۱۴ درصد قابلیت جذب Cd^{++} آنها افزایش می‌یابد.

بنابراین برای جرم های بیولوژیکی که قبلاً رشد کرده‌اند می‌بایست تصفیه های فیزیکی مانند، گرما دادن، بخار دادن، فریز کردن، خشک کردن، لیوفیلیزاسیون و یا تصفیه شیمیایی مانند شستن جرم بیولوژیکی با دترجنت، ایجاد پلهای عرضی با حلالهای آلی و... صورت گیرد[۲۵، ۲۴، ۲۳، ۳].

قارچها و مخمرها

در میان جرمهای بیولوژیکی، قارچها به دلیل دارا بودن دیواره سلولی ویژه، خصوصیات جذب قابل ملاحظه‌ای را از خود نشان می دهد [۲۷، ۲۶، ۱۴].

جذب بیولوژیکی توسط قارچها در دو مرحله صورت می‌گیرد، جذب سریع سطحی در ساعت اول و دیفیوژن داخل سلولی در ۲ ساعت دوم که به صورت آهسته صورت می‌گیرد[۲۸].

در مطالعه‌ای که روی مخمر فعال و غیر فعال Pichia guilliea mondii برای جذب مس از لجن فاضلاب انجام گرفته مشخص شده که در ابتدا غلظت مس روی مورفولوژی و فیزیولوژی مخمر تأثیر گذاشته و بعد از گذشت مدت زمانی و تطابق آنها با محیط تأثیر غلظت کاهش یافته است [۲۹].(شکل شماره۱)

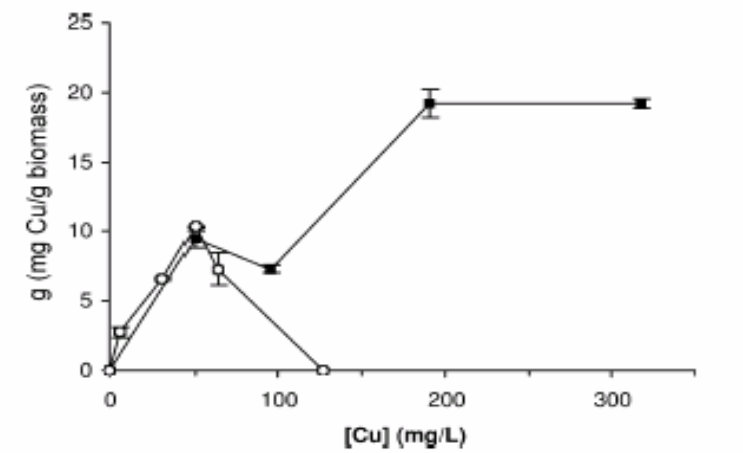

Fig. 4. Copper uptake of *P. guilliermondii* measured at different concentrations of copper. o, nonadapted cells; ■, copper-adapted cells.

شکل شماره۱

در مطالعه دیگری که بر روی قارچهای زنده و غیر زنده در pH های تنظیم شده بوسیله NaoH برای جذب فلزات pb، Cd ,Ni ,Cu انجام شده است نشان داده است که در حالت تک یونی بودن محلول فلز، جذب بیشتری برای هر یون نسبت به چند یونی بودن محلول فلزی در قارچها وجود دارد اما در کل جذب بیشتر همه یونها در محلول چند یونی نسبت به محلول تک یونی بیشتر است. در مطالعه دیگری که بر روی جلبک قهوه‌ای دریایی Eckloria Maxima این نتیجه بدست امده که جذب Ni^{++} توسط این جلبک، یون Ca^{++} آزاد

می‌شود بنابراین چنین جاذب‌های بیولوژیکی می‌توانند به عنوان مواد تعویض کننده یونی طبیعی که شام گروههای اسیدی و باز ضعیف می‌باشند در نظر گرفته شوند [۳۰].

باکتریها

در مورد جذب بیولوژیکی باکتریها تحقیقات زیادی انجام شده و در حال انجام می‌باشد چرا که اثبات شده است باکتریها بخصوص گونه های باکتریایی Bacillus sp. پتانسیل بالایی جهت جداسازی فلزات سنگین داشته و در مصارف تجاری مورد استفاده واقع شده‌اند [۳۱].

در مطالعه ای که بر روی ۳ گونه OGUBOO 1, OGUBOO 2, OGUBOO 3 در سیستم Batch در pH های مختلف و غلظت های مختلف فلزی انجام شده است pH های اپتیمم برای فلزات Cr = ۲ pb = ۴/۵ و ۴ Cu = بدست آمده است [۳۲]

جدول شماره۱

Effect of initial values of pH and concentration on biosorption of Cr^{6+}, Pb^{2+} and Cu^{2+} ions ($T = 27\,^{\circ}C$, 20 g wet cells l^{-1})[a]

Co = 96.83 mg Cr^{6+} l^{-1}		Co = 100 mg Pb^{2+} l^{-1}		Co = 70 mg Cu^{2+} l^{-1}	
pH	Adsorption (mg Cr^{6+} l^{-1})	pH	Adsorption (mg Pb^{2+} l^{-1})	pH	Adsorption (mg Cu^{2+} l^{-1})
1.1	38.83	3.5	21	3.0	49
1.5	51.83	4.0	25	3.5	64
2.0	56.83	4.5	35	4.0	52
2.5	28.83	5.0	33	4.5	70
				5.0	58

[a] Co: Initial metal ion concentration.

جلبک‌ها

در میان اتوتروف ها جلبک‌ها به علت توانایی ایجاد توده ضخیم مورد توجه قرار گرفته‌اند. در دهۀ اخیر جاذبهای کم هزینه‌ای بررسی و پیدا شده اما جلبک قهوه‌ای بسیار مفید بوده و به عنوان یک جاذب بسیار خوب مطرح شده است. علت جذب توسط این جلبک خصوصیت دیواره سلولی است که دارای Alginic Acid و Fucuidan Acid می‌باشد و به طور عمده‌ای مسئول چلاته کردن فلزات سنگین می باشد، اسید آلجینیک در pH خنثی ایجاد سایت‌های آنیونی کربوکسیلات و سولفات می‌کند. فرمهای آب شرین این جلبک ها دارای اسید گالاکترونیک (galacturonic) و پلیمر پکتین بوده که سایت های آنیونی داشته و توسط جذب الکترو استاتیک فلزات به آنها باند می‌شوند [۲۳ و ۲۲].

تثبیت جرم بیولوژیکی

جاذب‌های بیولوژیکی زمانی می‌توانند به عنوان جاذب صنعتی بکار روند که علاوه بر داشتن پتانسیل بالا در باند کردن فلزات بصورت بستر ثابت یا متحرک مورد استفاده واقع شوند و افت زیادی را در سیستم ایجاد نکنند که برای این منظور می‌توان فرآیندهایی چون سایزبندی، دانه بندی، اصلاح شیمیایی و یا تثبیت استفاده کرد که این موارد به ایجاد یک ساختار مناسب جهت بهره‌وری از آن در راکتور و جهت بالا بردن ظرفیت جذب کمک می‌کند.

جهت نگه داشتن توانایی جرم بیولوژیکی برای حذف فلزات در طول پروسه یکنواخت صنعتی استفاده از یک روش مناسب تثبیت سازی مهم است. جرم بیولوژیکی تثبیت شده امتیازات زیادی چون قابلیت بازیابی، بالا بار میکروبی و کمترین حالت انسداد در سیستم جریان مداوم را دارند [۳۴، ۲۳]. مواد گوناگونی جهت تثبیت سلولها به کار می‌رود که از آنها می‌توان Ca- alginate و سیلیکا را نام برد که استفاده از سیلیکا به لحاظ پایداری و قابلیت بازیافت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. جلبک تثبیت شده با سیلیکا که به صورت تجاری هم استفاده می‌شود، حتی بعد از استفاده طولانی مدت (بیشتر از ۱۸ ماه) می‌تواند کارآیی حذف ۹۰درصد فلز را داشته باشد و یا تثبیت Citrobacter در ماتریس پلی سولفون ظرفیت بار فلزی آن را جهت جذب سرب، کادمیم و روی افزایش می‌دهد [۳۵]. جدول زیر ماتریس های تثبیت کننده جهت انواع جرم بیولوژیکی و فلزات جذب شده را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲

Immobilization matrices used for the study of metal adsorption

Immobilization matrix	Biomass type	Metals adsorbed
Calcium alginate	*Chlorella vulgaris* *Spirulina platensis* *Chlorella salina* *Rhizopus arrhizus*	Au, Cu, Fe, Zn,
Polyacrylamide gel	*Citrobacter,* *Rhizopus arrhizus*	U, Cd, Pb, Cu, Co, Cd
Silica	*Algasorb*	Cu, Ni, U, Pb, Hg, Cd, Zn, As, Ag
Polyurethane Polysulfone	*Pseudomonas aeruginosa* *Phormidium laminosum* *Citrobacter*	U Pb, Cd, Zn

فیکس کردن جاذب‌ها

در برخی از مطالعات جرمهای بیولوژیکی را در حضور محیطی از مواد جامد بی اثر تثبیت می‌کنند تا حالتی شبیه به بیوفیلم به خود بگیرند. این مواد بی اثر شامل پلی وینیل کلراید (PVC)، شیشه، ورقه‌های آهن،

پلاستیک، صفحات ناهموار همانند: براده های چوب، رس، ماسه، سنگهای خرد شده و مواد متخلخل مثل اسفنج است [۳۷، ۳۶].

احیا و بازیابی

فرآیند بازیافت و احیا به منظور استفاده مجدد از فلزات و جرم بیولوژیکی بدست آمده در مراحل جذب بعدی فرآیند مهمی بشمار می‌رود.

بازیافت فلزات سنگین پس از جذب توسط جاذب های بیولوژیکی بستگی به کارآیی فرآیند احیا بر روی جاذب های بیولوژیکی بعد از اتمام ظرفیت جذب دارد. کارآیی عوامل جداکننده یا شوینده اغلب یا نسبت S/L (جامد به مایع) نشان داده می‌شود. که S وزن خشک ماده جاذب و L مقدار ماده شوینده مورد استفاده برحسب میلی لیتر است و بالا بودن مقدار این نسبت از نظر اقتصادی و کامل بودن فرآیند مهم می‌باشد. در برخی موارد شستشوی اتنخابی فلز مطلوب بوده که باتوجه به مکانیزم جذب فلز تعیین می‌شود. بعنوان مثال برای یونهای فلزی که جهت باند شدن با سلولها به pH وابسته‌اند جداسازی باندهای فلزی را براحتی می‌توان با تنظیم pH انجام داد که در این مورد اسیدهای رقیق در موارد بسیاری جهت حذف فلزات از جرم بیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. [۲۱، ۱۳، ۵]. در استفاده از شوینده‌ها عدم تغییر در ساختار و شکل جرم بیولوژیکی حائز اهمیت است و شوینده ها نباید تغییری در ساختار جرم بیولوژیکی بوجود آورند. کلرید کلیسم (۰/۰۵ M) در اسید کلریدریک به عنوان بهترین شوینده قادر است که حدود ۹۶ درصد کبالت را در pH حدود ۳ – ۲ از جرم بیولوژیکی جدا کند و هیچ تغییری در ساختار و شکل سلول ایجاد نکند [۳۸].

نتیجه گیری و پیشنهادات

پروسه جذب بیولوژیکی جذابییتهای زیادی از قبیل حذف انتخابی فلزات در یک رنج وسیع از پی اچ ،دما، سینتیک سریع جذب ، هزینه اولیه و راهبری پایین می باشد وا با توجه به اینکه این جاذبها مزایا و کارایی خوبی داشته و تکنولوژی جدیدی در زمینه محیط زیست می باشد جهت تشویق از این روش باید تمهیدات خاصی را قائل شد و نیز به همکاری بین رشته ای نیاز داشته تا ترکیبی از تخصص های متالوژی ، محیط زیست ، بیولوژی ، و... در کنار یکدیگر علیه آلودگی های ناشی از صنایع با هم همکاری داشته باشند .

منابع ومراجع

1. Stratton, G. W., in *Review in Environmental Toxicology* (ed. Hodgson, E.), Elsevier, Amsterdam, 1987, pp. 85–94.
2. Gadd, G. M., in *Encyclopedia of Microbiology* (ed. Lederberg, J.), Academic Press Inc., Harcourt Brace Javanovich Publishers, San Diego, 1992, vol. 2, pp. 351–360.
3. Gadd, G. M., *FEMS Microbiol. Lett.*, 1992, **100**, 197–204.
4. Gadd, G. M. and Griffiths, A. J., *Microbial. Ecol.*, 1978, **4**, 303–317.
5. Volesky, B., *TIBS*, 1987, **5**, 96–101.
6. Volesky, B., in *Biosorption of Heavy Metals*, CRC Press, Boca Raton, 1990.
7. Ting, V. P., Lawson, F. and Prince, I. G., *Biotechnol. Bioeng.*, 1988, **34**, 990–999.
8. Garnham, G. W., Codd, G. A. and Gadd, G. M., *Environ. Sci. Technol.*, 1992, **26**, 1764–1770.
9. McHale, A. P. and McHale, S., *Biotechnol. Adv.*, 1994, **12**, 647–652.
10. Tsezos, M. and Volesky, B., *Biotechnol. Bioeng.*, 1982, **24** 385–401.
11. Garnham, G. W., Codd, G. A. and Gadd, G. M., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1992, **37**, 270–276.
12. Kratochivil, D. and Volesky, B., *TIBTECH*, 1998, **16**, 291–300.
13. Kuyucak, N. and Volesky, B., *Biotech. Lett.*, 1989, **33**, 823–831.
14. Gadd, G. M., *Experientia*, 1990, **46**, 834–840.
15. Wase, J. and Foster, C., in *Biosorbents for Metal Ions*, Taylor and Francis Ltd., London, 1997.
16. Greene, B. and Darnall, D. W., in *Microbial Mineral Recovery* (eds Ehrlich, H. L. and Brierley, C. L.), McGraw Hill, 1990, pp. 277–301.
17. Gadd, G. M., in *Biotechnology – A Comprehensive Treatise, Special Microbial Processes* (eds Rehm, H. J. and Reed, G.), VCH, VerlagsgesellSchaft, Weinheim, Germany, 1988, vol. 6b, pp. 401–433.
18. Remacle, J., in *Biosorption of Heavy Metals* (ed. Volesky, B.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, pp. 83–92.

19. Norberg, A. and Persson, H., *Biotechnol. Bioeng.*, 1984, **26**, 239–246.
20. Norberg, A. and Rydin, S., *Biotechnol. Bioeng.*, 1984, **26**, 265–268.
21. Greene, B., McPherson, R. and Darnall, D., in *Metals Speciation Separation and Recovery* (eds Patterson, J. W. and Passion, R.), Lewis Publishers, Chelsea, MI, 1987, vol. 9, pp. 315–338.
22. Crist, R. H., Oberholser, K., Shank, N. and Nguyen, M., *Environ. Sci. Technol.*, 1981, **15**, 1212–1217.
23. Holan, Z. R. and Volesky, B., *Biotechnol. Bioeng.*, 1994, **43**, 1001–1009.
24. Puranik, P. R. and Paknikar, K. M., *J. Biotechnol.*, 1997, **55**, 113–124.
25. Kapoor, A. and Viraraghavan, T., *Biores. Technol.*, 1998, **63**, 109–113.
26. Rosenberger, R. F., in *The Filamentous Fungi* (eds Smith, J. E. and Berry, D. R.), Edward Arnold, London, 1975, vol. 2, pp. 328–342.
27. Paknikar, K. M., Palnitkar, U. S. and Puranik, P. R., in *Biohydrometallurgical Technologies* (eds Torma, A. E., Apel, M. L. and Brierely, C. L.), The Minerals, Metals and Materials Society, TMS Publications, Wyoming, USA, 1993, vol. II, pp. 229–236.

28. Yetis ulku,et ,all, "the removal of pb(11) by phanerocaete chrysporriom(2000)
, j, wat. Res. Vol.34, No16, pp. 4090-4100
29. Isabel de Siloniz, et,all,"Feasibility of copper uptake by the yeast prchia guilliermondii isolated from sewage sludge. Research in Microbiology.
153(20002) 173-180
30. Yan, Guangyn, et,all,"heavy metal removing from aqueous solution by fungus Mucur rouxii, j, Water research 37(2003)4486-4496

31. Brierley, J. A., Brierley, C. L. and Goyak, G. N., in *Fundamentals and Applied Biohydron Metallurgy* (eds Lawerence, R. W., Branion, R. M. R. and Edner, H. G.), Elsevier Science, Amsterdam, 1986, pp. 291–304.

32. Norbakhsh. Nurbas.M. ,et,all,"Biosorption of Cr^{6+} pb2+ and Cu2+ ions in Industrial waste water on bacilluss sp. " CHEMICAL Eng. J.,85(2002)-3512-355

33. Crist, R. H., Oberholser, K., Schwartz, D., Marzoff, J., Ryder, D. and Crist, D. R., *Environ. Sci. Technol.*, 1988, **22**, 755–760.

34. Gourdon, R., Bhende, S., Rus, E. and Sofer, S. S., *Biotechnol. Lett.*, 1990, **12**, 839–842.

35. Puranik, P. R. and Paknikar, K. M., *Biotechnol. Prog.*, 1999, **15**, 228–237.

36. Macaskie, L. E. and Dean, A. C. R., in *Biological Waste Treatment*, Alan, A. and Liss, R., New York, 1989, pp. 159–201.

37. Kuhn, S. P. and Pfister, R. M., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1989, **31**, 613–618.

38. Kuyucak, N. and Volesky, B., *Biotech. Lett.*, 1989b, **33**, 815–822.