المجلة العراقية
لبحوث السوق وحماية المستهلك

المجلد (9) العدد (1)
لسنة 2017

# دراسة الظروف المثلى لازالة العناصر المعدنية الثقيلة باستعمال الفطر *Aspergillus niger* المعزول محلياً

احمد صباح محمد*[1] ، أ.م.د. الهام اسماعيل الشمري[2]
[1]قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة بغداد، بغداد، العراق، Hamadasabah91@gmail.com
[2]قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة بغداد، بغداد، العراق، Elhamfadhil@gmail.com

تاريخ استلام البحث: 2017/1/2 تاريخ قبول النشر: 2017/2/5

## الخلاصة

درست تأثير بعض الظروف البيئية لإزالة العناصر المعدنية الثقيلة بأستعمال الفطر *Aspergillus niger* لتعين الظروف المثلى للإزالة، حيث وجد ان افضل درجة حرارة للإزالة 30م، في حين كان الرقم الهيدروجيني لأعلى ازالة 6، وافضل تركيز اولي للمعادن بلغ 100 ملغم / لتر، في حين كانت اعلى معدل ازالة لجميع العناصر تم الحصول عليها بعد 8 ساعة من وقت التماس واعلى كفاءة ازالة تم الحصول عليها بعد 24 ساعة من التماس واثبتت النتائج ان افضل تهوية لأعلى نسبة ازالة تم الحصول عليها عند سرعة دوران 150دورة/ دقيقة، في حين اعطى حجم لقاح 5 مل/100مل (يحوي المل الواحد على $10^6$ خلية/ مل) افضل نسبة ازالة.

**الكلمات المفتاحية:** *Aspergillus niger* ، العناصر المعدنية الثقيلة، التلوث البيئي، الامتزاز الحيوي.

# STUDY OF OPTIMUM CONDITIONS FOR REMOVAL OF HEAVY METAL ELEMENTS BY LOCALLY ISOLATED FUNGI *Aspergillus niger.*

***Ahmed S. Mohammed* [*1], *D. Elham I. Al-Shamary* [2]**
[1]Food Science Department, College of Agriculture, University of Baghdad, Baghdad, Iraq, Hamadasabah91@gmail.com
[2]Food Science Department,College of Agriculture,University of Baghdad, Baghdad, Iraq, Elhamfadhil@yahoo.com

## ABSTRACT

**The best optimum temperature for the isolate was 30°C while the pH for the maximum mineral removal was 6. The best primary mineral removal was 100mg/L, while the maximum removal for all minerals was obtained after 8 hrs, and the maximum removal efficiency was obtained after 24 hrs. The results have proved that the best aeration for maximum removal was obtained at rotation speed of 150 rpm/ minute. Inoculums of 5ml/ 100ml which contained $10^6$ cell/ ml showed maximum removal for the isolate.**

**Keywords** : *Aspergillus niger*, Heavy metal elements, Environmental pollution, Biosorbtion.

## المقدمة

يعد التلوث البيئي من اكثر المشاكل التي تواجهها البيئة في الوقت الحاضر، لا بل وأخطرها. وهي بحاجة إلى تظافر الجهود كافة للحد منها، وازالتها، أو معالجتها. ومما يزيد المشكلة تعقيداً إن للإنسان نفسه الدور الواضح في زيادة خطورتها من خلال النشاطات المختلفة التي يمارسها والتي أصبحت في الوقت الحالي تهدد الحياة البشريةعلى هذا الكوكب بشكل كبير . فضلاً عن تأثيرها في الكائنات الحية الأخرى سواء الحيوانات او النباتات او الاحياء المجهرية، مما يحدث تغيرا في التوازن الطبيعي للبيئة ومكوناتها المختلفة الحية منها وغير الحية **(Gupta *et al*., 2000)**، وتمثل زيادة التلوث بالعناصر الثقيلة مثل الزئبق والرصاص والكاديوم والكروم والنحاس والزنك وغيرها في الوقت الحاضر احد المشاكل البيئية المقلقة للنظام البيئي وللأنسان وصحته وللكائنات الحية جميعها، ويمكن تعريفها على انها العناصر الواقعة ما بين الزمرة الثانية والزمرة السادسة من الجدول الدوري، وهي في الغالب عناصر شبه فلزية لكنها تظهر خواص فلزية تتواجد بصورة ضئيلة في الطبيعة، ضرورية للحياة لكن بتراكيز واطئة جداً، موصلات جيدة للحرارة والكهرباء ويبلغ عددها في

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

الجدول الدوري للعناصر الى أكثر من 90 عنصراً منها 21 عنصراً من العناصر اللأمعدنية و 16عنصراً من المعادن. أما المعادن الثقيلة فهي 53 عنصراً والتي أغلبها عناصر انتقالية، غلافها الخارجي غير ممتلئ بالإلكترونات، وهذا ما يعطي المعادن الثقيلة قابلية تكوين المركبات المعقدة **(Hill, 2010)** و**(Pouls and Payne, 2005)**.

هناك العديد من العوامل المؤثرة في فعالية الإمتزاز مثل المعاملة الأولية والأس الهيدروجيني وظروف الحضن وتركيب وسط النمو وعمر الخلية ومدة التماس وتركيز الكتلة الحيوية ودرجة الحرارة والتنافس بين الأيونات وغيرها **(Ilhan *et al*., 2004)**، ويلعب الاس الهيدروجيني دور مهم في عمليات الإمتزاز الحيوي للعناصر المعدنية من خلال تأثيره في الحالة الكيميائية للموقع الفعال أو حالة أو(نوعية الايون المتكون) أو ذائبية ايونات العناصر المعدنية وتنافس هذه الايونات أو الروابط الموجودة ضمن جدار الخلية **(Volesky, 2004)**، وأشار **Sepehr *et al*. (2007)** الى إن درجة الحرارة تؤثر في ذائبية العناصر ومن ثم في إمتزازها، أذ تكون عملية الإمتزاز في أغلب الأحيان عملية باعثة للحرارة ما لم ترافقها عملية امتصاص أوانتشار بإتجاه داخل الخلية، لذا فأن زيادة درجة الحرارة تؤدي الى النقصان في كمية الإمتزاز وذلك لأن زيادة درجة الحرارة تعمل على زيادة الطاقة الحركية للجزيئات الممتزة على الخلية مما يزيد من إحتمالية إنفصالها ورجوعها الى المحلول، أما إذا كانت عملية الإمتزاز من النوع الماص للحرارة، فسوف يلاحظ أن إرتفاع في درجة الحرارة يؤدي الى زيادة ألفة المواقع الفعالة للأيونات وبالتالي سرعة إختراق المادة الممتزة بنسبة اكبر وزيادة سرعة انتشارها في الخلية **(Israa, 2010)**، كما تتأثر عملية الإمتزاز بطبيعة المادة الممتزة تأثراً كبيراً من حيث خصائصها الكيميائية بالإعتماد على وجود المجاميع الفعالة على سطوح المادة الممتزة من عدمها، إذ يزداد الامتزاز بزيادة المساحة السطحية بسبب زيادة عدد المواقع الفعالة وما يمتلك من قطبية **(Adamson and Gast, 2001)**، ويرى **Selatnia *et al*. (2004)** أن زيادة تركيز الكتلة الحيوية تقلل من عملية إزالة العناصر المعدنية بسبب ارتباط الخلايا مع بعضها وتجمعها بشكل يؤدي الى تقليل المساحة السطحية للخلايا، كما تشكل مدة التماس، أي معاملة العناصر المعدنية الثقيلة مع الخلايا لغرض إزالتها، عاملاً هاماً يحدد كفاءة عملية الإمتزاز الحيوي، إذ تحدث أعلى سعة امتزازية للعناصر المعدنية في المراحل الأولى من التماس، ويمكن أن تصل الى حالة التوازن خلال 50 دقيقة **(Liu *et al*., 2004)**، وتؤدي زيادة تركيز أيون العنصر المعدني الى زيادة التراكيز الممتزة من العناصر المعدنية، ويعود ذلك الى زيادة الجذب الكهربائي المستقر للأيونات المتنافسة على المواقع الرابطة المتوافرة على سطح الخلايا وصولاً لحالة التشبع والتي يتوقف عندها الإمتزاز، بغض النظر عن زيادة التركيز أو المادة المازة أو الوقت **(Mahvi *et al*., 2007)**، وفي هذا السياق اشار **Shen and Duvnjak (2005)** الى ان سرعة التحريك بزيادة إنتشار أيونات العناصر المعدنية الثقيلة وجعلها بتماس مباشر مع الكتلة الحيوية وبالتالي زيادة الارتباط، نتيجة الإحتكاك المباشر مابين الأيونات المعدنية والمجاميع الفعالة المتواجدة على سطح الخلية، **لذا فقد هدفت الدراسة الى تحديد الظروف المثلى لازالة العناصر المعدنية الثقيلة Cd ، Cu ، Pb ، Fe ، Zn ، Ni ، Cr بأستعمال العزلة الفطرية المحلية *Aspergillus niger* لزيادة كفاءة الازالة.**

## المواد وطرائق العمل

- الفطر*Aspergillus niger*: تم الحصول على الفطر *Aspergillus niger* المقاوم للتراكيز العالية من المعادن Cd وCu وPb وFe وZn وNi وCr من مختبرات كلية الزراعة/ جامعة بغداد/ الجادرية.

- استعمل الوسط Potato dextrose broth (PDB) الحاوي على تركيز 100ملغم/ لتر لجميع المعادن كلا على انفراد بأستثناء تجربة اختيار التركيز الامثل للمعادن الثقيلة.

**تاثير تركيز ايونات المعدن**

حضنت الدوارق الحاويه على 100 مل من وسط PDB باس هيدروجيني 6 والحاوي على تراكيز مختلفه لأيونات المعادن شملت (500,400,300,200,100) ملغم/ لتر كلاً على انفراد، والملقحه بـ1 مل من العالق السبوري الحاوي على $10^6$ خلية/ مل في حاضنه هزازه بدرجة حراره 30م وبعدد دورات 150 دوره/ دقيقه لمدة 24 ساعه، اجري بعدها نبذ مركزي بسرعه مقدارها 6000 دوره/ دقيقه لمده 15 دقيقه، وجمعت الرواشح ومررت خلال مرشحات غشائيه دقيقه حجم فتحاتها 0.45 مايكرومتر **(Shivakumar et al., 2014)**، بعدها قدر تركيز المعادن المتبقيه في الانموذج بأستعمال جهاز مطياف الامتصاص الذري، وقدرت النسبه المئويه للأزاله حسب المعادله التاليه:

$$\text{النسبة المئوية للإزالة (\%)} = \frac{\text{(تركيز العنصر قبل الإزالة- تركيز العنصر بعد الإزالة)}}{\text{تركيز العنصر قبل الإزالة}} \times 100$$

**تاثير درجة الحرارة**

حضنت الدوارق الحاوية على 100 مل من وسط PDB باس هيدروجيني 6 والحاوي على 100 ملغم/ لتر املاح العناصر المعدنية الثقيلة كلاً على انفراد بعد تلقيحها بـ 1 مل من العالق السبوري بدرجات حرارية مختلفة شملت

(45,40,35,30,25,20) م لمدة 24ساعه، بعد ذلك قدرت النسبة المئوية للمتبقي من العناصر المعدنية الثقيلة كما مذكور في الفقرة اعلاه.

**تأثير الأس الهيدروجيني**

حضر وسط PDB بقيم اس هيدروجينية ابتدائية شملت (2،4،6،7،8،10) ولقح الوسط بـ1 مل من عالق السبورات وحضنت الدوارق في حاضنة هزازة بسرعة 150 دوره/ دقيقه لمدة 24 ساعه مع الاخذ بنظر الاعتبار الظروف المثلى المتحققة في التجربة السابقة من تركيز ايونات المعدن، ودرجة الحرارة، وقدرت النسبة المئوية للمتبقي من العناصر المعدنية الثقيلة كما مذكور في الفقرة اعلاه.

**تاثير مدة التماس**

حضنت الدوارق لاوقات مختلفة شملت (120,96,72,48,24) ساعه مع الاخذ بنظر الاعتبار الظروف المثلى المتحققة من التجربة السابقة ،وقدرت النسبة المئوية للمتبقي من العناصر المعدنية الثقيلة كما مذكور في الفقرة اعلاه.

**تاثير سرعة التحريك**

حضنت الدوارق بسرع مختلفة في الحاضنة الهزازة شملت (90،120،150،180،210) دوره/ دقيقه مع الاخذ بنظر الاعتبار الظروف المثلى المتحققة من التجارب السابقة، وقدرت النسبة المئوية للمتبقي من العناصر المعدنية الثقيلة كما مذكور في الفقرة اعلاه.

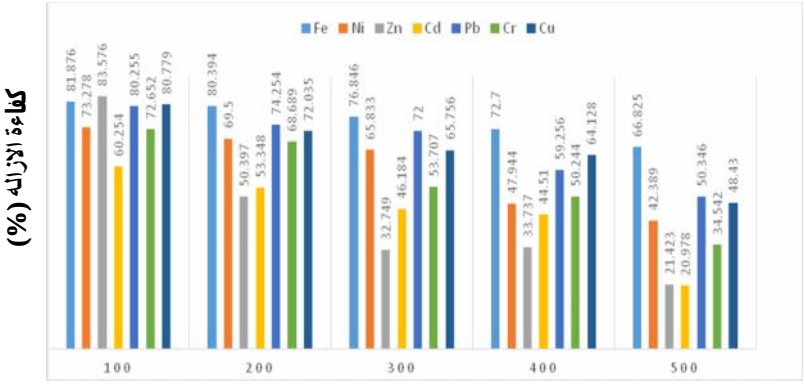
**تاثير حجم اللقاح**

لقحت الدوارق بحجوم مختلفة من اللقاح الحاوي على $10^6$ خلية / مللتر شملت (1،2،3،4،5) % مع الاخذ بنظر الاعتبار الظروف المثلى المتحققة من التجربة السابقة ،وقدرت النسبة المئوية للمتبقي من العناصر المعدنية الثقيلة كما مذكور في الفقرة اعلاه.

## النتائج والمناقشة

**تاثير تركيز ايونات المعدن**

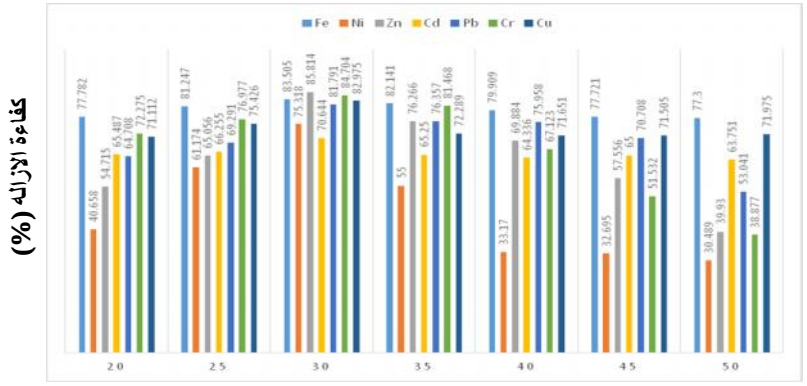
يتبين من (الشكل،1) الى ان اعلى نسبة ازاله تم الحصول عليها لجميع العناصر المعدنية الثقيلة من قبل العزلة *A.niger* كانت عند التركيز 100 ملغم/ لتر مع ملاحظة التباين في نسبة الإزالة للمعادن المختلفة في هذا التركيز وغيره من التراكيز ، واعلى نسبة ازاله تم الحصول عليها في هذا التركيز هي للخارصين والحديد والنحاس يتبعه الرصاص ثم النيكل والكروم و الكاديميوم التي بلغت 60.25,72.65,73.27,80.25,80.77,81.87,83.57 % وهذه النتائج تتفق مع ما اورده **(Shivakumar *et al.*, 2014)**، اشار **(Yun-guo *et al.*, 2006)** الى ان تركيز المعادن اهم العوامل المؤثرة في عملية الإزالة الحيوية، ويلاحظ من الشكل انخفاض في نسبة الإزالة بزيادة تركيز المعدن في محلول الإزالة، وقد يعود السبب في ذلك كما ذكره **(Rao *et al.*, 2005)** في ان نسبة الإزالة تنخفض عند التراكيز العالية للمعادن بسبب الوصول الى حالة التنافس بين ايونات المعدن فيما بينها على مواقع الارتباط الفعالة والوصول الى حالة الاشباع والتي من شأنها ان تحول دون اكمال عملية الإزالة ،في حين اشار **(Yun-guo *et al.*, 2006)** الى ان التراكم الحيوي لبعض ايونات المعادن يزيد بزيادة التركيز الاولي ويعزى ذلك الى زيادة التداخلات الالكتروستاتيكية لأيونات المعادن على سطح الفطريات، وقد أشار **(Ahmad *et al.*, 2006)** الى تاثير عملية الامتزاز الحيوي للنيكل والكاديميوم والكروم بواسطة فطري *A. niger* و *Penicillium sp.* بشكل كبير بالتركيز الاولي لهذه المعادن في محاليلها سواء كانت المعاملة للمعادن بصوره منفرده او مجتمعة.




**شكل (1)** : تأثير التركيز الاولي لأيونات المعادن في عملية الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة من قبل العزلة *A.niger*.

**تأثير درجة الحراره**

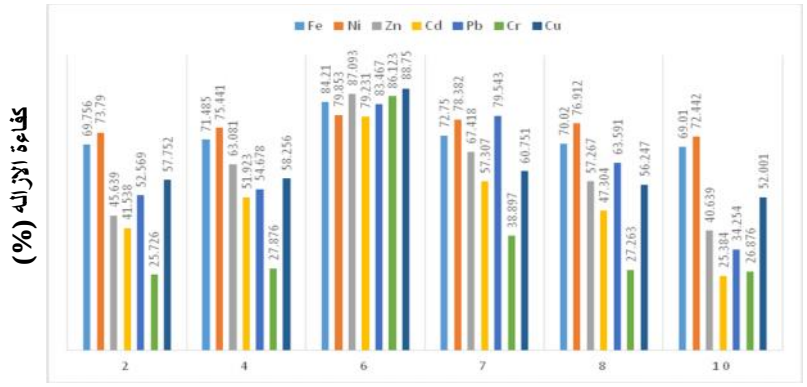
يتبين من (الشكل، 2) ان كفاءه الازالة للخلايا الحيه للعزلة *A.niger* قيد الدراسة تتأثر بأختلاف درجة حرارة الإزالة، مع ملاحظة ارتفاع نسبة الإزالة بأرتفاع درجة الحرارة لتصل اقصاها عند درجة حراره 30م حيث بلغت 83.50 ,75.31 ,85.81 ,70.64 ,81.79 ,84.70 ,82.97% للمعادن Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe على التوالي مع ملاحظة انخفاض نسبة الإزالة بأرتفاع درجة الحرارة عند درجة حرارة 30م لتصل الى 71.97, 38.87, 53.04, 63.75, 39.48, 30.48 77.3% للمعادن Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe على التوالي عند درجة حراره 50م، كما يوضح الشكل اختلاف نسبة الإزالة في نفس الدرجة الحراريه باختلاف المعادن، وتتفق النتائج مع نتائج كل من **(Shankar *et al.*, 2007)** و **(Shivakumar, 2014)** حيث تراوحت درجات الحرارة المثلى للإزالة مابين 25الى30م، واشار **Shivakumar (2014)** الى ان تأثير درجة الحرارة في الإزالة يكمن في تغير ثباتيه الجدار الخلوي للخلايا الحيه ودرجة تأين مركباته مما يؤثر في خواصه وبالتالي يؤثر في عملية الامتزاز، على العكس من الإزالة في الخلايا الميته التي تكون فيها ميكانيكية الإزالة فيزيوكيميائية في الغالب، كما أوضح **Say and Kustal, (2000)** بأن زيادة نسبة الإزالة بزيادة درجة الحرارة يعود الى زيادة السطح الفعال ومركبات الطاقة للمحلول، واشار **Srivastava and Thakur, (2006)** الى ان الحرارة العالية تؤدي الى احداث ضرر فيزيائي للمادة الممتزة، والطبيعة الحرارية لبعض مركبات الامتزاز تختزل سعة الامتصاص للكتلة الحيوية في درجات الحرارة المرتفعة جداً.




**شكل (2):** تأثير درجة الحرارة في عملية الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة من قبل العزلة *A.niger*.

**تأثيرالاس الهيدروجيني**

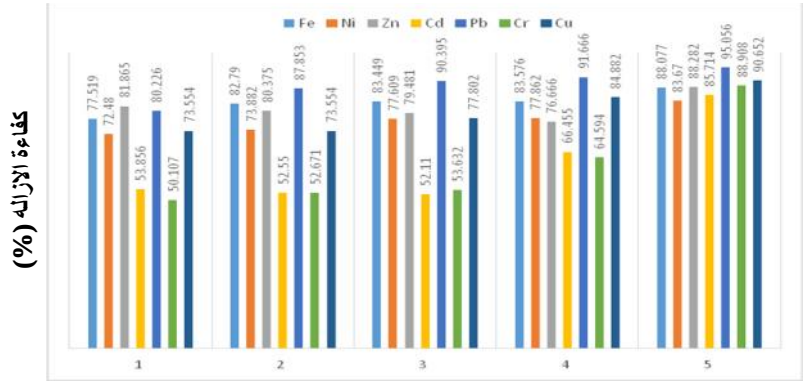
تشير النتائج المذكورة في (الشكل، 3) الى ان افضل نسبة ازاله تم الحصول عليها لجميع العناصر المعدنية الثقيلة كانت عند اس هيدروجيني 6، أذ بلغت نسبة الإزالة 84.21 ,79.85 ,87.09 ,79.23 ,83.46 ,86.12 ,88.75% للمعادن Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, Ni, Feعلى التوالي ،هذا ما تشير اليه اغلب الدراسات المشابهة في هذا المجال التي تشير الى ان افضل اس هيدروجيني للإزالة يتراوح ما بين 5 الى 7 (**Shankar *et al.*, 2007** و **El-zayat, 2009**)، كما اشارت العديد من الدراسات المشابهة الى ان الاس الهيدروجيني يعد من اكثر العوامل الحرجة في امتزاز ايونات المعادن الثقيلة وذلك بسبب التاثير في ذائبيه الايون المعدني ودرجة تآين المادة الممتزة خلال التفاعل فضلا عن تأثيرها في خاصية التبادل الايوني على السطوح المازه **(Price *et al.*, 2001)**، كذلك عن طريق التاثير على المواقع الفعالة للمجاميع الوظيفية كمجاميع الامين والكاربوكسيل والكبريتات، ففي قيم الاس الهيدروجينية المنخفضة تكون معظم مجاميع الكاربوكسيل غير مفككه ولاتمتلك القدرة على ربط المعادن الى سطح الجدار الخلوي لفطر *A.niger* في حين اشار **Hawari and Mulligan, (2006)** الى ان ارتفاع الاس الهيدروجيني سيؤدي الى ترسيب المعادن وبالتالي يؤدي ذلك الى انخفاض عملية الامتزاز الحيوي لها بوساطه الاحياء المجهرية، كما اشار **Sugasini *et al.*, (2014)** الى ان عند الارتفاع بالاس الهيدروجيني وصولا الى 6 سوف تزداد كثافة الشحنة السالبة على سطح الخلية نتيجة لوهبها للبروتونات وبالتالي توفر سطحاً مفضلاً للتداخلات الالكتروكيميائية وامتزاز العناصر، وبين **(Shankar *et al.*, 2007)** ان افضل اس هيدروجيني لأمتزاز العناصر المعدنية الثقيلة من قبل الكتلة الحيوية للفطر يتراوح ما بين 5 و 5.2.




**شكل (3):** تأثير الاس الهيدروجيني في عملية الازالة الحيويه للمعادن الثقيله من قبل العزلة *A.niger*

**تاثير حجم اللقاح**

يوضح (الشكل، 4)، تأثير حجم اللقاح في كفاءة الإزالة للمعادن قيد الدراسة، اذ يلاحظ ان اعلى نسبة ازاله تم الحصول عليها لجميع المعادن بأستعمال الفطر *A.niger* كانت بأستعمال لقاح 5 مل وبواقع $4x10^6$ سبور/ مل، اذ بلغت نسبه الإزالة للمعادن Cu, Cr, Pb, Cd, Zn, 90.65, 88.90, 95.05, 85.71, 88.28, 83.67, 88.07 لكل من %Ni, Fe على التوالي، مع ملاحظة الانخفاض في كفاءة الإزالة بانخفاض وزيادة حجم اللقاح، وقد يعود السبب في ذلك الى قلة المساحة السطحية التي توفرها السبورات وبالتالي تؤثر على وفرة المواقع الفعالة للامتزاز في حالة الحجوم القليلة وبزيادة الحجم تزداد الكتلة الحيوية وتزداد المواقع الفعالة للأمتزاز لحين الوصول الى الحجم الذي يعطي اعداد كبيرة من الخلايا مما يؤدي الى التزاحم بين هذه الخلايا مما يؤثر سلباً على عملية الامتزاز الحيوي، وهذا يتفق مع ما ذكره **Baroos *et al.* (2006)**

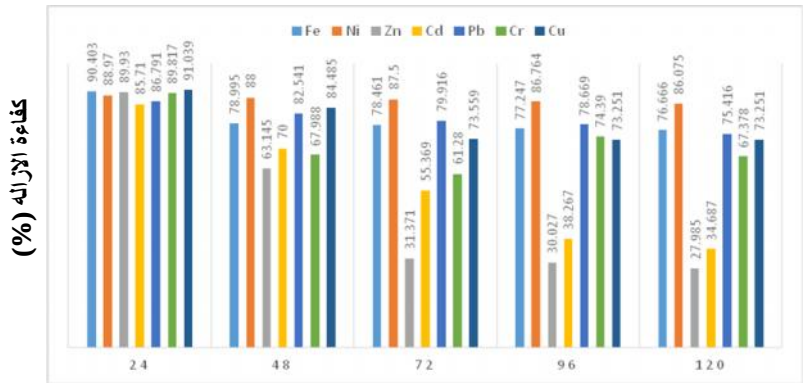



**شكل (4):** تأثير حجم اللقاح في عملية الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة من قبل العزلة *A.niger*.

**تأثير وقت التماس**

تم دراسة تأثير مدة الحضن في الوسط الحاوي على تركيز 100 ملغم/ لتر املاح معادن ثقيلة وبحاضنة هزازة بسرعه 150 دورة/ دقيقه وبدرجة حراره 30م وأس هيدروجيني بلغ 6 وان افضل ازالة تم الحصول عليها هو خلال 24 ساعه الاولى من الحضن كما في (الشكل، 5)، وقد أشارت العديد من الابحاث الى اهمية عمر الخلية في التأثير في عملية الإزالة للمعادن الثقيلة، اذ اوضح **Gadd, (2003)** ان 90% من عملية الإزالة بأستعمال فطر *A. niger* تتم خلال 4 الى 10 ساعات الاولى تليها المرحلة التأليه والتي تستمر لمده 24 ساعه، وان وصول خلايا الفطر الى مرحله الثبات Stationary phase من شانه ان يحد من عملية الإزالة وهذا ما تؤكده النتائج الى ان افضل وقت تماس كانت نسبة ازاله النحاس91.093% لمدة 24 ساعة بينما بلغت نسبة الازالة لنفس المعدن 73.251 % لمدة حضن 120 ساعه وهذا مايؤكده **Aishah *et al.*, (2013)** انه كلما زاد وقت التماس فان التأثير سوف يكون عكسي اي تبدأ الايونات المعدنية بالانفصال

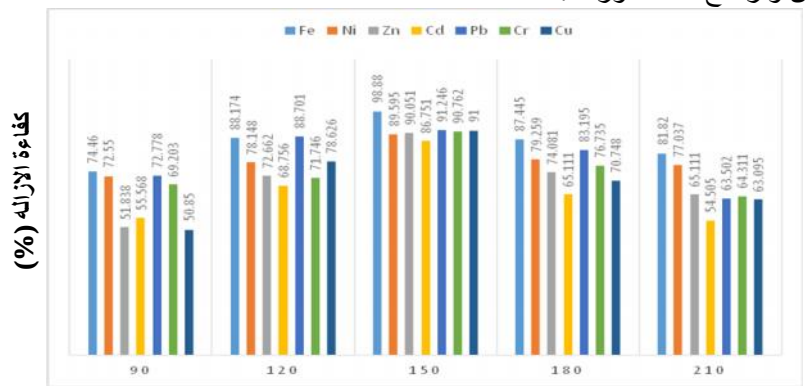
عن السطح الممتز لها والعودة الى الوسط نتيجة وصول الخلايا الى مرحلة الفناء Death phase اذ تبدأ جدران الخلايا بالانحلال وبالتالي خروج المعادن نتيجة امتزار جزء من هذه المعادن على الجدران .




**شكل (5):** تأثير وقت التماس في عملية الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة من قبل العزلة *A.niger*.

**تاثير سرعة التحريك**

تم دراسة تأثير سرعة التحريك بأستعمال حاضنه هزازة وبأستعمال سرع مختلفة ، استعمل الوسط الحاوي على 100 ملغم/ لتر املاح معادن ثقيلة وحضن بدرجة حراره 30م وأس هيدروجيني بلغ 6 وبحجم لقاح بلغ 5 مل يحتوي على $4x10^6$ سبور/ مل وان افضل ازالة للمعادن الثقيلة تم الحصول عليها عند عدد دورات بلغت 150 دوره/ دقيقه كما في (الشكل، 6) ، أذ بلغت نسبة الازاله 98.88، 89.59، 90.05، 86.75، 91.24، 90.76، 91.00% للمعادن Fe, Ni, Zn, Cd, Pb, Cr, Cu على التوالي وهذا يتفق مع كل من **El-zayat, (2009)** و **Shivakumar *et al.*, (2014)** مع ملاحظة الانخفاض في نسب الإزالة لجميع المعادن بأنخفاض وارتفاع عدد الدورات.




**شكل (6):** تأثير عدد الدورات في عملية الازالة الحيوية للمعادن الثقيلة من قبل العزلة *A.niger*.

## المصادر

Adamson, A. W. & Gast, A. P. (2001). *Physical Chemistry of Surfaces*. 6th ed., John Wiley and Sons. Inc. New York. 370-430, 599-632.

Ahmad .I, Ansari, M. I. & Aqil, F. (2006). Biosorption of Ni, Cr and Cd by metal tolerant *Aspergillus niger* and *Penicillium sp.* using single and multi metal solution. *Indian Journal of Expermental Biology*, 44(1), 6-73.

Aishah, N., Shafiquzzaman, S., Sujjat, A. A., Saili, N. Sh. & Laila, N. (2013). *Tolerance and biosorption capacity of $Zn^{2+}$, $Pb^{2+}$, $Ni^{3+}$ and $Cu^{2+}$by filamentous fungi (Trichoderma harzianum, T. aureoviride and T. virens).* Biotechnology Research Institute, University Malaysia Sabah, Jln UMS, Kota Kinabalu, Malaysia

Barros, M., Prasad, S., Duarte, V. & Gowveia, A. (2006). The process of biosorption of heavy metals in bioreactors loded with sanitary sewage sludge. *Brazilian journal of Chemical Engineering*, 23(2), 1-14.

El-Zayat, S. A. & Rashed, M. N. (2009). Removal of lead ions by the filamentous fungus *Aspergillus niger* from polluted water. *Assiut University Journal of Botany*, 38, 15-22.

Gadd, G. M. (2003). Interaction of fungi with toxic metals. *Newphytol*, 124, 25-60.

Gupta, R., Ahuja, P., Khan, S., Saxena, R. K. & Mohapatra, H. (2000). Microbial biosorbents: Meeting challenge of hevy metal pollution in aqueous solution. *Current Science*, 78(8), 967-973.

Hawari, H. A. & Mulligan, N. C. (2006). Biosorption of lead (II), cadium (II), copper (II) and nickel (II) by anaerobic granular biomass. *Bioresource Technology*, 97, 692-700.

Hill, M. (2010). *Understanding Environmental Pollution*. Cambridge University Press, Cambridge,UK. p 9-22.

Ilhan, S., Nourbakhsh, M. N., Kilicarslan, S. & Ozdag, H. (2004). Removal of chromium, lead and copper ions form industrial wastewater by *Staphylococcus saprophyticus*. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, 2, 50-57.

Israa, G. Z. (2010). Biosorption of Cr (VI) from aqueous solution using new adsorbent equilibrium and thermodynamic study. *E-Journal of Chemistry*, 7(1), 488-494.

Liu, H. L., Chen, B. Y., Lan, Y. W. & Cheng, Y. C. (2004). Biosorption of Zn (II) and Cu (II) by the indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. *Chemical Engineering Journal*, 97, 195-201.

Mahvi, A. H., Nabizadeh, R., Gholami, F. & Khaivi, A. (2007). Adsorption of chromium from waste water by *Platanus orientalis* leaves. *Iran Journal of Environmental & Health Science Engineering*, 4, 191-196.

Pouls, M. & Payne, M. (2005). *Oral Chelation and Nutritional Replacement Therapy for Heavy Metal Toxicity and Cardiovascular Conditions*. Uuniversity of Michigan. USA.

Price, M. S., Classen, J. J. & Payne, G. A. (2001). *Aspergillus niger* absorbs copper and zinc from swine wastewater. *Bioresour Technology*, 77(1), 41-49.

Rao, P. R. & Bhargavi, Ch. (2013). *Studies on Biosorption of Heavy Metals Using Pretreated Biomass of Fungal Species*. University of Technology, Osmania University, Hyderabad.

Say, Y. & Kustal, T. (2000). Determination of the biosorption activation energize of heavy metal ions on Zoogloearaigera. *Biochemical Engineering Journal*, 35(8), 801-807.

Selatnia, A., Boukazoula, A., Kechid, N., Bakhti, M. Z., Cherqui, A. & Kerchich, Y. (2004). Biosorption of lead (II) from aqueous solution by bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Biochemical Engineering Journal*, 19, 127-135.

Sepehr, M. N., Nasseri, S., assadi, M. M. & Yaghmaian, K. (2005). Chromium bioremoval from tannery industries effluent by *Aspergillus oryzae*. *Iran Journal Environmental Health Science Engineering*, 2, 273-279.

Shankar, C., Sridevi, D. & Joonh, P. (2007). Biosprbtion of Chromium and nickel by heavy metal resrstant fungal and bacterial isolates. *Journal of Hazardous Materials*, 146, 270-277.

Shen, J. & Duvnjak, Z. (2005). Adsorption kinetics of cupric and cadmium ions on corncob particles. *Journal Process Biochemistry*, 40(11), 3446-3454.

Shivakumar, C. K., Thippeswamy, B. & Krishnappa, M. (2014).Optimization of Heavy Metals Bioaccumulation in *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *International journal of environmental biology*, 4(2), 188-195.

Srivastava,W. & Thakur, I. S. (2006). Biosorbtion potency of *Aspergillus niger* for removal of chromium. *Current Microbiology*, 53(3), 232-237.

Sugasini, A., Rajagopaf, K. & Banu, N. (2014). A study on biosorbtion potential os *Aspergillus Sp.* of tannery Effluent. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 5,853-860.

Voleskey, B. (2004). Sorption and biosorption. *Biotechnolgy Progress*, 11, 235-50.

Yun-guo, l., Ting, F. & Fei, Y. (2006). Removal of cadmium and zinc from aqueous solution by living *Aspergillus niger*. *Nonferrous Metals Society of China*,16(3), 681-686.