المجلة العراقية
لبحوث السوق وحماية المستهلك

المجلد (7) العدد (2)
لسنة 2015

تعيين بعض الظروف المثلى للمعالجة الحيوية لبعض المعادن الثقيلة بإستعمال خميرة *Saccharomyces cerevisiae*.

محمد عبد الرزاق الصوفي
مرئز بحوث السوق وحماية المستهلك/ جامعة بغداد

محمد عمر محي الدين
قسم علوم الاغذية
كلية الزراعة/ جامعة بغداد

عادل تركي الموسوي*
مرئز بحوث السوق وحماية المستهلك/ جامعة بغداد

تأريخ استلام البحث: 2015/10/15 تأريخ قبول النشر: 2015/12/15

الخلاصة

إستهدفت هذه الدراسة تحديد بعض الظروف المثلى لاستعمال خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* الحية منها والمقتولة بالمعاملة الحرارية، في المعالجة الحيوية Bioremediation وإزالة سبعة عناصر معدنية متمثلة في كل من الكروم السداسي والنيكل والكوبالت والكادميوم والرصاص والحديد والنحاس مجتمعة، وإستعملت خميرة الخبز *S.cerevisiae* الجاهزة الجافة ذات مارئة تجارية معروفة مجهزه من شرئة (Aldnaamaya China)، وأخضعت للفحوصات التشخيصية للتأكد من عائديتها الى *S. cerevisiae* تحديداً، واستعملت في المعالجة الحيوية تحت ظروف مختلفة من مدة التماس والأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة، فوجد أن أفضل تلك الظروف تتمثل بالإزالة بمدة تماس بلغت 60 دقيقة واس هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 25 م. كما لوحظ خلال الدراسة أن سلوك الخلايا الحية والمقتولة وكفاءتهما في إزالة العناصر المعدنية تكاد تكون متشابهة.

الكلمات المفتاحية: خميرة *Saccharomyces cerevisiae*، المعادن الثقيلة، المعالجة الحيوية، بعض الظروف المثلى.

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

المجلد (7) العدد (2)
لسنة 2015

المجلة العراقية
لبحوث السوق وحماية المستهلك

Determination of some Optimum Conditions for Bioremediation of Some Heavy Metals by *Saccharomyces cerevisiae.*

Mohammed A. Al-Soufi
Market Research and Consumer Protection Center, Uni. of Baghdad

Mohammed O. Muhyaddin
Dept. of Food Science College of Agriculture, Uni. of Baghdad

Adil T. Al-Musawi
Market Research and Consumer Protection Center, Uni. of Baghdad

Abstract

The study aimed to determine of some Optimum conditions for bioremediation and removing of seven mineral elements included hexavalent chromium, nickel, cobalt, cadmium, lead, iron and copper as either alone or in group by living and heat treated cells of baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The dried baker's yeast from Aldnaamaya China Company was used in this study. Biochemical tests was used to ensure yeast belonging to *S. cerevisiae* and then used to remove the mentioned mineral elementes under different conditions which included incubation period, pH, and temperature. It was found that the best of these conditions was 60 minutes for duration of incubation, 6 for pH, 25 ^{o}C for temperature. During the study the behavior of living and heat treated cells in their efficiency of removing the metal elements was also followed and no differences were found.

Key word: *Saccharomyces cerevisiae* Baker's yeast, Heavy metals, Bioremediation, some optimum conditions.

المقدمة

تمثل البيئة عنصراً هاماً في حياة الانسان، إذ تعد الحيز الذي يمارس فيه كل انشطته الإنتاجية والخدمية التي يستطيع من خلالها تحقيق اهدافه المتنوعة مستعيناً بعناصرها المختلفة كالترية والهواء والماء فضلاً عن الموارد الطبيعية المخزنة في اعماق الأرض والتي تشكل عنصر اساساً لكثير من الصناعات(10)، وتشكل زيادة التلوث بالعناصر الثقيلة مثل الزئبق والرصاص والكادميوم والكروم والنحاس والزنك وغيرها في الوقت الحاضر مشكلة بيئية مقلقة للنظام البيئي وللأنسان وصحته وللكائنات الحية جميعها، إذ تكمن خطورتها في تضاعف ترئيزها خلال السلاسل الغذائية نتيجة عملية الترئيز الحيوي فضلاً عن تأثيراتها الاخرى في صحة الأنسان (18)، إذ توجد هذه العناصر في الطبيعة مثل الماء والترية والهواء والغذاء بتراكيز ضئيلة تقاس بأجزاء من المليون (ملغرام/ لتر) أو حتى أجزاء من البليون (مايكروغرام/ لتر)، وتعد هامة جداً لكثير من الكائنات بضمنها الإنسان, إلا أنها تصبح سامة إذا ما تعدت حدود التحمل بسبب تأثيراتها في فسلجة جسم الانسان والأنظمة الحيوية عن طرق التدخل في نمو الخلايا والجهاز الهضمي(3)، وتمتاز العناصر الثقيلة بثباتية عالية لعدم تحللها الى مكونات بسيطة وعدم تفككها. وبذلك فأنها تختلف عن الملوثات الهيدروكاربونية ذات التراكيب الكيميائية المتغيرة والتي تفقد جزءاً من صفاتها السامة عند تغير ترئيبها الكيميائي، لذا من الصعوبة إزالتها من البيئة بالعمليات الطبيعية كمعظم الملوثات العضوية (37)، وقد إستعملت الكتل الحيوية المختلفة للأحياء المجهرية والمتمثلة بالبكتريا والخمائر والطحالب والأعفان, فضلاً عن النباتات في إزالة العناصر المعدنية الثقيلة من البيئة بكفاءة عالية جداً عن طرق عملية تتضمن عدد من الآليات المتعاكسة التي تسمى بمجملها الإمتزاز الحيوي Biosorption (7). وقد وجد أن بعض الأنواع المختلفة من الخمائر تتميز بكفاءة عالية في رط العناصر المعدنية مقارنة بالأنواع الأخرى، بسبب وجود السكريات المتعددة والبروتينات بنسب عالية ضمن ترئيب جدارها الخلوي (12)، واستعملت بنجاح في إزالة كلاً من الرصاص والنحاس والكادميوم واليورانيوم والكروم والنيكل والفضة والكوبالت والثاليوم والزنك من المحاليل المائية (32).

المواد وطرائق العمل

عزلة الخميرة:

أستعملت في الدراسة خميرة الخبز *S.cerevisiae* الجافة المستوردة ذات مارئة تجارية معروفة مجهزة من شرئة (Aldnaamaya) الصينية المنشأ، والتي رمز لها بـ Sc_6.

تنشيط وتنقية عزلة الخميرة:

نشطت الخميرة الجافة وفقاً للطرقة التي وصفها (20) بتعليق 0.5 غم من مسحوق الخميرة وتلقيحها في انابيب حاوية على 10 مللتر من وسط Yeast extract glucose peptone broth (YEGPB) السائل لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة 30 م تحت ظروف هوائية ونقلت منها ملء عروة الناقل المعقم وزرعت على وسط آكار Yeast extract glucose peptone Agar (YEPGA) بطرقة التخطيط، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 30م لمدة 48 الى 72 ساعة. ثم أخذ عدد من المستعمرات النقية منها بطرقة مستقلة بوساطة الناقل ونشر بطرقة التخطيط على الوسط نفسه وكررت هذه العملية أكثر من مرة إمعاناً في التنقية، وبعد ذلك درست الصفات الزرعية والمجهرية لمستعمرات الخميرة من حيث شكل المستعمرة وتجمعاتها وطرقة التبرعم وقطرها ولونها وإرتفاعها ورائحتها وغيرها من الصفات الأخرى وحسب ماورد في(6).

تحضير محاليل العناصر المعدنية القياسية:

حُضرت محاليل العناصر المعدنية القياسية وفقاً لما ورد في (1) على هيئة أملاح تضمنت كلاً من $Pb(NO_3)_2$, $Cu(NO_3)_2$ و $Co(NO_3)_2$ و $Cd(NO_3)_2$ و Fe $(NO_3)_2$و$NiCl_2$ و $K_2Cr\ O_4$ بنقاوة 99.99% وإستعملت بوصفها محاليل عناصر خزنة وذلك بترئيز 1000ملغرام/ لتر، ومن خزن هذه المحاليل حُضرت المحاليل التي يتطلبها العمل بإسلوب التخفيف المتعاقب وبترئيز 1 ملغرام/ لتر وعقمت بطرقة الترشيح بوساطة مرشحات غشائية دقيقة بفتحات قطرها 0.45 مايكرومتر، ويذكر أن جميع الادوات الزجاجية المستعملة في تحضير المحاليل المائية للعناصر المعدنية قد عقمت وفقاً لما آشار اليه (33).

تعيين كفاءة عزلة الخميرة Sc_6 على إزالة العناصر المعدنية مجتمعة:

قدرت كمية العناصر المعدنية المزالة بشكل مجتمع من قبل عزلة الخميرة قيد الدراسة, وفقاً لما ذكره (41)، وذلك بإضافة كمية من اللقاح ترئيزه 1×10^6 خلية/ مللتر من

محلول المعاملة وبتركيز 1 ملغرام/ لتر لكل عنصر بشكل مجتمع إستعمل خلالها لقاح حي، وأجريت عملية الإزالة بدرجة حرارة 25 م في حاضنة هزازة بسرعة تحرك مقدارها 150 دورة/ دقيقة ومدة تماس 24 ساعة وأس هيدروجيني 6 في دوارق حجمية ذات سعة 250 مل وبواقع 100 مللتر في كل دورق وبواقع مكررين، وجمعت الخلايا بوساطة النبذ المركزي بسرعة مقدارها 5000 دورة/ دقيقة لمدة 30 دقيقة، ومرر الراشح على مرشحات غشائية دقيقة بفتحات قطرها 0.45 مايكرومتر، ثم نقل الى أنابيب إختبار لغرض تقدير كمية المعادن المتبقية بوساطة جهاز المطياف الذري اللهبي Atomic Absorption Spectrophotometer (AA700) ومنها قدرت النسبة المئوية للعناصر المعدنية المزالة:

$$\text{النسبة المئوية للازالة}(\%) = \frac{\text{تركيز العنصر قبل الازالة} - \text{تركيز العنصر بعد الازالة}}{\text{تركيز العنصر قبل الازالة}}$$

العوامل المؤثرة في إزالة العناصر المعدنية بوساطة عزلة الخميرة:

أجريت هذه المجموعة من الدراسة لغرض تحديد بعض الظروف المثلى لإزالة العناصر المعدنية الثقيلة بوساطة بوساطة عزلة الخميرة الحية والمقتولة بالمعاملة الحرارية عند درجة حرارة 121 م لمدة 15 دقيقة، وتم التأكد من كفاءة المعاملة الحرارية في قتل الخلايا وذلك بتصبيغها بصبغة المثيلين الأزرق، إذ يشير إكتساب جميع الخلايا اللون الازرق الى كفاءة المعاملة الحرارية(14)، فضلاً عن التأكد بعدم نموها وذلك بزرعها بالتخطيط على وسط آكار YEPGA، وحضنها بدرجة حرارة 30 م لمدة 24 الى 72 ساعة في إزالة العناصر المعدنية, علماً بأن هذه التجارب قد انجزت بمكررين أيضاً.

1. تاثير مدة التماس:

أتبعت طريقة (41) لدراسة كفاءة العزلة قيد الدراسة في إزالة العناصر المعدنية، وذلك بإضافة كمية من اللقاح تركيزه 1 $\times 10^6$ خلية/ مللتر من محلول المعاملة وبتركيز 1 ملغرام/ لتر لكل عنصر في معرفة تأثير مدة التماس على عزلة الخميرة بخلايا حية أو مقتولة للعناصر المعدنية بشكل مجتمع، وتراوحت مدة الحضن من 1 الى 24 ساعة وأحتسبت كمية العناصر المزالة بعد 1 و 3 و 6 و 12 و 18 و 24 ساعة، كما إستعملت مديات 5 و 10 و 20 و 40 و 60 دقيقة، لمعرفة المدة الاصغرية الأكفأ للإزالة.

2. تأثير الأس الهيدروجيني:

أتبعت طريقة العمل في الفقرة 1 بإضافة عزلة الخميرة بأس هيدروجيني 4 و 5 و 6 و 7 و 8 ولمدة تماس 60 دقيقة.

3. تأثير درجة الحرارة:

أتبعت طريقة العمل في الفقرة 1, بإستعمال عناصر معدنية مجتمعة بدرجات حرارة 5 و 15 و 25 و 35 و 45م لمدة 60 دقيقة وبأس هيدروجيني 6.

التحليل الأحصائي:

إستعمل البرنامج الإحصائي SAS- Statistical Analysis System (2010) في تحليل بيانات التنائج التي تم الحصول عليها، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (LSD) بإحتمالية ($P<0.05$) (36).

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص عزلات الخمائر:

تميزت عزلة الخميرة Sc_6 المنماة على وسط آكار YEPGA بتكونها مستعمرات أتسمت بشكلها الدائري ذات اللون الأبيض أو المائل الى الكرمي الشاحب، بحافات منتظمة، ملساء، مرتفعة ومحدبة فوق سطح الآكار وذات قوام لزج, فيما أظهرت الفحوصات المجهرية للخلايا الخضرية بتصبغها بالمثيلين الأزرق وصبغة كرام بأنها كروية إلى بيضوية الشكل, منفردة أو متجمعة، مصطفة بشكل يشبه خلايا النحل عند وجودها بكثافة عالية, كما لوحظ وجود نواة واضحة وفجوة واحدة كبيرة تشغل معظم أجزاء الخلية، ووجود البراعم في أكثر من طرف من اطراف الخلية تراوح عددها من 2 الى 6، وهذه الخواص مطابقة لخواص عزلات الخمائر التي تعود الى *S.cerevisiae* وفقاً لما أشار إليه (6).

كفاءة العزلة Sc_6 على إزالة العناصر المعدنية مجتمعة:

يوضح (الجدول، 1) معدل كفاءة العزلة Sc_6 في إزالة العناصر المعدنية مقدرة كنسبة مئوية خلال 24 ساعة، بلغ 43.63%، وأن العناصر المتمثلة بالحديد والرصاص

والنحاس أكثر إستقطاباً من قبلها تليها النيكل والكادميوم والكوبلت، فيما كان ميلها لإزالة عنصر الكروم معدوماً تماماً.

جدول (1): معدل كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 الحية عند درجة حرارة 25 م وسرعة تحرك 150 دورة/ دقيقة ومدة تماس 24 ساعة وأس هيدروجيني 6.

كفاءة الإزالة (%)							
Cr	**Ni**	**Co**	**Cd**	**Pb**	**Fe**	**Cu**	**المعدل**
0.00	27.53	9.43	26.99	97.56	98.61	45.33	43.63

يعود التباين في إزالة العناصر المعدنية من قبل عزلة الخميرة Sc_6 الى التنافس فيما بين العناصر المعدنية على الارتباط بالخميرة فضلاً عن تباين الترئيب الكيميائي لجدار الخلايا، وماعليها من المجاميع الفعالة مما تتسبب في إختلاف السعة الإمتزازية وتباين ألفتها على إزالة العناصر المعدنية، وعموماً فأن السعة الإمتزازية لاتعتمد على جنس ونوع الكائن المجهري فحسب وأنما على عوامل عدة أخرى، منها الحالة الفسلجية للكائن, والحالة الكيميائية للمواقع الفعالة التي تتغير في ضوء الظروف البيئية التي يتواجد فيها من درجة الحرارة والأس الهيدروجيني (22)، فكلما توافرت مواقع أكثر جاهزة للإرتباط كلما زادت كفاءة عملية الامتزاز الحيوي (40)، ويمكن تفسير عدم قابلية العزلة قيد الدراسة على إزالة عنصر الكروم بالاتفاق مع ماذكره (8)، إذ أن الكروم السداسي يعد عنصراً غير ذي فائدة لجميع الكائنات الحية, لذا فمن المحتمل أن تتم مقاومته إماعن طرق إختزاله أو عن طرق ضخه بآلية يطلق عليها الضخ الدفقي (Effluex pump) وهي آلية تستعملها الكائنات المجهرية كوسيلة لمقاومة بعض العناصر المعدنية لطردها الى خارج الخلية عبر الغشاء الخلوي للتخلص من سميتها المحتملة.

العوامل المؤثرة في إزالة العناصر المعدنية مجتمعة من قبل عزلة الخميرة Sc_6:

تمت دراسة تأثير بعض العوامل المؤثرة في إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بوساطة العزلة Sc_6 الحية والمقتولة والتي شملت:

مدة التماس:

يظهر من (الجدول، 2) تأثير مدة التماس على مدى 24 ساعة في العناصر المعدنية الممتزة بوساطة العزلة Sc_6 الحية، إذ يلاحظ أن معظم هذه العناصر يتم إمتزازها من

العزلة خلال الساعة الأولى وبنسب تفاوتت من عنصر الى آخر ودون فروقات معنوية تذكر حتى إذا ماتم إطالة فترة التماس الى 24ساعة، بإستثناء النيكل، إذ لوحظ أن كمية العناصر المزالة منه خلال الساعة الأولى تبلغ 7.55% والتي ازدادت مع إطالة فترة التماس لتبلغ 10.78 و 20.12% خلال 3 و24 ساعة على التوالي, كما لوحظ أن عنصر الكروم في هذه التجربة، لا تُزال من قبل الخميرة الحية أو المقتولة باية نسبة كانت. ولوحظ كذلك أن نسبة إزالة العناصر المعدنية الرصاص والحديد تفوق غيرها من العناصر المعدنية يليها النحاس ومن ثم الكادميوم والنيكل واخيراً الكوبالت.

جدول (2): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 الحية خلال مدد مختلفة من التماس مقدرة بالساعة.

	كفاءة الإزالة (%)						
الوقت(ساعة)	Cr	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
1	0.00 ±0	7.55 ±0.82	10.04 ±0.71	22.43 ±1.09	93.47 ±3.77	98.11 ±4.62	37.67 ±1.54
3	0.00 ±0	10.78 ±0.91	11.60 ±0.59	22.43 ±1.09	93.47 ±3.77	98.11 ±4.62	52.11 ±2.86
6	0.00 ±0	10.78 ±0.91	11.60 ±0.46	22.43 ±1.38	93.47 ±3.77	98.11 ±4.62	52.11 ±2.86
12	0.00 ±0	10.78 ±0.91	11.60 ±0.46	22.43 ±1.38	93.47 ±3.77	98.11 ±4.62	52.11 ±2.86
18	0.00 ±0	20.12 ±1.54	11.60 ±0.46	22.43 ±1.38	93.47 ±3.77	98.11 ±4.62	52.11 ±2.86
24	0.00 ±0	20.12 ±0.86	11.60 ±0.46	22.43 ±1.38	93.47 ±3.77	98.11 ±4.62	52.11 ±2.86
LSD Value	0.00^{NS}	4.382*	3.970^{NS}	5.000^{NS}	4.382^{NS}	12.071^{NS}	8.426*

*** أقل فرق معنوي على مستوى ($P < 0.05$)، NS لأيوجد فرق معنوي، ± الخطأ القياسي.** Standard error

في حين أظهرت الخلايا المقتولة تقدماً بنسب الأزالة لكل من الحديد والرصاص والنحاس والكادميوم والكوبالت في الساعة الأولى من بدء التماس، إذ بلغت 97.59 و97.55 و40.89 و30.3 و10.13% على التوالي (الجدول، 3). ولم تتأثر بعد زيادة مدة التماس الى 24ساعة، بإستثناء نسبة إزالة النيكل، إذ بلغت 16.74% خلال الساعة الاولى، فيما بلغت 19.71 و 27.46% خلال الساعة 3 و6 على التوالي, وبفارق معنوي على مستوى إحتمالية P

0.05 >، ولوحظ أن عنصر الكروم لم يتم إزالته من قبل الخلايا المقتولة، مثلما لوحظ ذلك مع الخلايا الحية (الجدول 1و2).

جدول (3): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 المقتولة خلال مدد مختلفة من التماس مقدرة بالساعة.

	كفاءة الإزالة (%)						
الوقت (ساعة)	Cr	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
1	0.00 ±0	16.74 ±0.73	10.13 ±0.61	30.3 ±2.09	97.55 ±4.83	97.59 ±4.71	40.89 ±2.19
3	0.00 ±0	19.71 ±1.24	10.13 ±0.61	30.3 ±2.09	97.55 ±4.83	97.55 ±4.82	40.89 ±2.19
6	0.00 ±0	27.46 ±2.71	10.13 ±0.61	30.3 ±2.09	97.55 ±4.83	97.55 ±4.82	40.89 ±2.19
12	0.00 ±0	27.46 ±2.71	10.13 ±0.61	30.3 ±2.09	97.55 ±4.83	97.55 ±4.82	40.89 ±2.19
18	0.00 ±0	27.46 ±2.71	10.13 ±0.61	30.3 ±2.09	97.55 ±4.83	97.55 ±4.82	40.89 ±2.19
24	0.00 ± 0	27.46 ±2.71	10.13 ±0.61	30.3 ±2.09	97.55 ±4.83	97.55 ±4.82	40.89 ±2.19
LSD Value	0.00^{NS}	6.483*	3.512^{NS}	8.916^{NS}	18.944^{NS}	18.940^{NS}	8.789^{NS}

*** أقل فرق معنوي على مستوى ($P < 0.05$), NS لأيوجد فرق معنوي, ± الخطأ القياسي Standard error.**

يتضح من النتائج أعلاه أن عملية الإمتزاز تصل الى مرحلة الإستقرار في غضون الساعة الأولى من وقت التماس يستقر بها تماماً دونما تغير معنوي، واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسات كل من (2؛ 22) الذين أشاروا الى أن إزالة العناصر المعدنية الكادميوم والرصاص والحديد تتم خلال الساعة الأولى من مدة التماس, وتؤكد ذلك أيضاً نتائج دراسة المقارنة التي أجراها (5)، بإستعماله أنواع مختلفة من الكائنات المجهرية وهي بكتريا *Streptomyce rimosus* وخميرة *S.cerevisiae* وفطر *Penicillium chyscogenum*, إذ اظهرت الخميرة تفوقاً على غيرها في إزالة العناصر المعدنية بشكل منفرد أومجتمع. وفيما يخص الكوبالت فهناك إختلاف في إمتصاصه من قبل الأنظمة الحيوية. ويبدو أنه يثبط تماماً بوجود الرصاص والزئبق واليورانيوم والنحاس (35). ويعزى السبب في استقرار الإمتزاز عند حد معين الى عدم توافر مواقع رط اضافية على سطح الخميرة مهما ازدادت مدة التماس

(39)، كما يعزى الإختلاف الحاصل بين الخلايا الحية والمقتولة الى عدد من العوامل فالخلايا المقتولة عادة ماتكون ذات مسامية عالية لدخول العناصر المعدنية والارتباط معها (27)، بيد أن الإزالة بالخلايا الحية تتم بوساطة النقل عبر الغشاء الخلوي والتراكم الحيوي داخل الخلية (38)، كما أن الإمتزاز على الخلايا الحية قد تكون غير عكسية ما لم يتم تحطيم أو تدمير نظامها الخلوي (19)، بينما الخلايا الميتة يمكنها إمتزاز العناصر المعدنية الثقيلة على نحو انتقائي أو غير انتقائي (16)، وقد قام عدد من الباحثين (26) بإستعمال المجهر الألكتروني Scanning Electron Microscope (SEM) ومطياف الاشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) لدراسة الخلايا المقتولة. لم يلاحظوا وجود أي تغييرات هيكلية وجزئية على الخلايا بعد قتلها، وعزوا سبب إزالتها للعناصر المعدنية الى تلف غشاءها الخلوي، وبسبب هذا فانها قد توفر مواقع رط إضافية للعناصر المعدنية. أما إختلاف المدة الزمنية للإزالة من عنصر الى آخر من قبل العزلة Sc_6 فتعود الى التنافس فيما بينها وكما ذكرت أعلاه, ووجد عدد من الباحثين(4؛ 15) أن عملية الإمتزاز تحتاج الى وقت طويل كي تصل الى مرحلة الاستقرار (التوازن) والذي قد يستغرق من 4 الى 6 ساعات، واتفقت الدراسة الحالية مع ما وجده (24) من أن الحالة الآيضية للخلية ليس لها تاثير في عملية الإمتزاز الحيوي وان العملية هي عملية فيزوكيمائية بحتة، ومن هنا فان نسبة الإزالة سوف لا تختلف من خلية حية الى مقتولة، ونظراً لان الإزالة وبنسب عالية ولمعظم العناصر المعدنية تتحقق خلال الساعة الأولى كما لوحظ من خلال هذه التجربة، لذلك تم دراسة مدة التماس على مدى ساعة واحدة وخلال 5 و10 و20 و40 و60 دقيقة، وبإستعمال خلايا العزلة Sc_6 الحية والمقتولة، ويذكر أن عنصر الكروم قد استبعد من هذه التجربة والتجارب اللاحقة لعدم قدرة العزلة على إزالته بوجوده مع العناصر قيد الدراسة، ويبين (الجدول، 4) تأثير مدة التماس مقدرة بالدقائق في إزالة العناصر المعدنية من قبل العزلة Sc_6 الحية، إذ يلاحظ تفوق كل من عنصري الحديد والرصاص مرة أخرى أذ بلغت 92.41 و 89.15% على التوالي خلال 5 دقائق الأولى من التماس، في حين كانت نسبة إزالة النيكل والكوبالت 9.17 و 10.13% على التوالي خلال الزمن نفسه. ولوحظ أن تقادم مدة التماس لا يحقق زيادة في إزالة العناصر الاربعة المذكورة حسب التحليلات الأحصائية. اما الكادميوم والنحاس فتباينت نسب ازالتهما بمرور الوقت حتى بلغ أقصاها خلال 60 دقيقة بالنسبة للكادميوم وبنسبة إزالة 20.11%، وخلال 40 دقيقة بالنسبة للنحاس وبنسبة إزالة 50.00%.

جدول (4): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 الحية خلال مدد مختلفة من التماس مقدرة بالدقائق.

	كفاءة الإزالة (%)					
الزمن (دقيقة)	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
5	9.17 ±0.92	10.13 ±0.61	8.29 ±0.72	89.15 ±4.47	92.41 ±4.53	20.00 ±0.86
10	9.17 ±0.92	10.13 ±0.61	15.00 ±1.28	89.15 ±4.47	92.41 ±4.53	40.45 ±2.47
20	9.17 ±0.92	10.13 ±0.61	15.46 ±0.84	89.18 ±4.47	92.41 ±4.53	45.00 ±2.71
40	9.17 ±0.92	10.13 ±0.61	17.08 ±0.89	89.20 ±4.18	92.41 ±4.53	50.00 ±2.65
60	9.17 ±0.92	10.13 ±0.61	20.11 ±1.33	90.00 ±5.04	92.41 ±4.53	50.00 ±2.65
LSD Value	3.00^{NS}	3.512^{NS}	5.093*	17.272^{NS}	14.583^{NS}	2.845*

*** أقل فرق معنوي على مستوى ($P < 0.05$)، NS لأيوجد فرق معنوي، ± الخطأ القياسي Standard error.**

أما الخلايا المقتولة (**الجدول**، 5) فان كفاءتهاعلى إزالة الرصاص والحديد بلغت 83.76 **و** 88.48% على التوالي خلال 5 دقائق وثبتت على ذلك حتى 60 دقيقة، في حين أن نسبة إزالة كل من الكادميوم والنحاس شهدت زيادة بمرور مدة التماس، إذ بلغت حدها الأقصى بعد مرور 60 دقيقة وبنسبة إزالة 22.00% بالنسبة للكادميوم، وبعد 10 دقائق وبنسبة إزالة 45.88% بالنسبة للنحاس وبفارق إحصائي. بينما لوحظ أن إزالة النيكل والكوبالت يتحقق خلال 5 دقائق من التماس وبنسبة 7.18 و10.13% على التوالي, وبمقارنة قدرة العزلة Sc_6 على إزالة العناصر المعدنية بصيغتيها، الحية والمقتولة، يلاحظ وجود توافق بين كليهما، رغم وجود فروق طفيفة في مدة الإزالة. وأن نسب الإزالة بعد ساعة واحدة في كلتا الحالتين (**الجدول** 4 **و** 5) غير ذي فروقات معنوية إحصائياً.

جدول (5): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 المقتولة خلال مدد مختلفة من التماس مقدرة بالدقائق.

	كفاءة الإزالة (%)					
الزمن(دقيقة)	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
5	7.18 ±0.84	10.13 ±0.61	14.44 ±0.73	83.76 ±4.28	88.48 ±3.92	25.00 ±2.56
10	7.18 ±0.84	10.13 ±0.61	15.18 ±0.81	85.57 ±4.83	88.48 ±3.92	45.88 ±3.04
20	7.18 ±0.84	10.13 ±0.61	16.77 ±0.72	85.57 ±4.83	88.48 ±3.92	48.90 ±3.12
40	7.18 ±0.84	10.13 ±0.61	19.00 ±1.09	85.57 ±4.83	88.48 ±3.92	55.55 ±2.81
60	7.18 ±0.84	10.13 ±0.61	22.00 ±0.84	85.57 ±4.83	88.48 ±3.92	55.55 ± 2.81
LSDValue	2.199^{NS}	3.512^{NS}	5.428*	14.628^{NS}	16.762^{NS}	9.426*

***أقل فرق معنوي على مستوى (P < 0.05), NS لأيوجد فرق معنوي, ± الخطأ القياسي Standard error.**

وقد أشار **الباحثون**(21؛ 25) الى أن الإمتزاز الامثل يحصل في 10 دقائق الأولى من وقت التماس، كما وأشارت العديد من الدراسات التي أجريت على إمتزاز عنصر النيكل بوساطة الأحياء المجهرية الى أن ترئيز النيكل الممتز أقل نسبياً قياساً مع عناصر أخرى، وتتفق هذه الدراسة مع ماأشار إليه (29) من أن خميرة الخبز تقوم بإمتزاز النيكل بكفاءة تبلغ 11.4 ملغم/ غم وزن جاف. في حين رئز(26) في دراسته على إزالة عنصر النحاس بخلايا حية ومقتولة لخميرة البيرة، فلاحظ عدم وجود فروقات معنوية بين هذه الخلايا في إزالة ذلك العنصر.

الأس الهيدروجيني:

أظهرت العديد من الدراسات أهمية الأس الهيدروجيني كونه أحد العوامل الحرجة المؤثرة في إمتزاز أيونات العناصر المعدنية من المحاليل المائية بسبب تأثيره في ذائبية الأيون المعدني ودرجة تأين المادة الممتزة خلال التفاعل فضلاً عن دوره في خاصية التبادل الأيوني على سطوح المادة المازة التي تؤثر في عملية المعالجة الحيوية(11؛ 40) وتبين النتائج في (الجدول، 6) ان للأس الهيدروجيني تاثيراً واضحاً في نسبة إزالة العناصر بشكل مجتمع من قبل العزلة Sc_6، إذ يلاحظ إن النيكل والكوبالت والكادميوم والرصاص والنحاس شهدوا زيادة

في الإزالة بارتفاع الأس الهيدروجيني من 4 الى 8، على أن الحديد يتم إمتزازه على سطح الخلايا وبنسبة تتراوح مابين 93.69 الى 98.87% **عند** قيم الأس الهيدروجيني المذكورة دونما فارق معنوي إحصائياً. مما يعني أن كفاءة إمتزاز الخلايا للعناصر المعدنية تزداد بزيادة قاعدية الوسط.

جدول (6): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 الحية في قيم أس هيدروجيني مختلفة.

	كفاءة الإزالة (%)					
الأس الهيدروجيني	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
4	37.53 ±2.38	0.00 ±0	0.00 ±0	21.12 ±0.84	93.96 ±4.32	0.00 ±0
5	38.71 ±2.18	0.00 ±0	0.00 ±0	61.85 ±4.26	98.77 ±5.89	4.00 ±0.52
6	43.43 ±2.62	0.00 ±0	0.00 ±0	90.00 ±4.50	98.87 ±6.02	40.90 ±0.61
7	57.55 ±2.09	10.12 ±0.72	20.00 ±1.63	95.50 ± 4.82	98.87 ±6.02	51.93 ±2.68
8	80.13 ±1.78	40.06 ±2.54	35.00 ±1.48	95.50 ±4.36	98.87 ±6.02	57.49 ±2.71
LSD Value	9.536*	6.448*	6.031*	11.538*	7.654^{NS}	9.415*

*** أقل فرق معنوي على مستوى ($P < 0.05$)، NS لأ يوجد فرق معنوي، ± الخطأ القياسي Standard error.**

ولوحظ السلوك نفسه بالنسبة للخلايا المقتولة (الجدول، 7)، إذ وجد أن الحديد يتم إزالته من قبل تلك الخلايا وبدرجة كفاءة عالية بلغت 87.18% عند الأس الهيدروجيني 4، ويفارق معنوي ضئيل مع الأس الهيدروجيني 8، إذ بلغت 99.62%، بينما شهدت العناصر الأخرى زيادة في الإزالة بزيادة الأس الهيدروجيني من 4 الى 8.

جدول (7): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 المقتولة في قيم أس هيدروجيني مختلفة.

الأس الهيدروجيني	كفاءة الإزالة (%)					
	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
4	41.65 ± 2.15	0.00 ±0	0.00 ±0	17.42 ±1.38	87.18 ±2.76	0.00 ±0
5	43.13 ± 2.09	0.00 ±0	15.70 ±0.73	60.56 ±3.42	92.27 ±3.04	8.80 ±0.72
6	43.64 ±2.35	10.18 ±0.69	17.90 ±0.91	98.71 ±5.76	98.68 ±2.83	40.89 ±2.37
7	65.12 ±3.17	10.18 ±0.69	29.34 ±4.72	98.80 ±5.48	99.15 ±5.71	57.85 ±2.90
8	65.12 ±3.17	35.01 ±2.05	29.34 ±4.28	98.80 ±5.82	99.62 ±5.34	57.85 ±2.90
LSD Value	5.737 *	4.921 *	12.573*	10.874*	7.367 *	10.972*

*** أقل فرق معنوي على مستوى ($P < 0.05$)، ± الخطأ القياسي Standard error.**

وتتباين الدراسات في تحديد تأثير الأس الهيدروجيني على كفاءة الأحياء المجهرية في إمتزاز العناصر المعدنية وإزالتها وتُحدّدها مابين 4 الى 6 (23)، إذ اشار الباحثين(17؛ 13) الى أن العناصر المعدنية تبدأ بالترسب في المحاليل المائية القاعدية بسبب وفرة أيونات الهيدروكسيل -OH دون أن تمتز على سطوح الخلايا. وفي دراسة أجراها (31) بالأعتماد على المعايرة الكيميائية للتقدير الكمي والنوعي لطبيعة المجاميع او المواقع الحامضية الموجودة على جدار خميرة *S.cerevisiae*، لاحظ وجود ثلاث انعطافات بالمنحى، اثنان منها مقاربة للأس الهيدروجيني 5 و6 وهذه مطابقة لقيمة pKa للمجاميع الحامضية، فيما كانت الأخيرة مقاربة للأس الهيدروجيني 9 وهذه مطابقة لقيمة pKa للمجاميع القاعدية، وأستدل من ذلك على أنه لربما تكون هناك أثنتين من المجاميع الحامضية هي الكاروكسيلية والفوسفات في الحالة الأولى، والمجاميع الامينية المشبعة في الحالة الثانية تساهم في إمتزاز العناصر المعدنية.

درجة الحرارة:

يوضح (الجدول، 8) أن كفاءة الخلايا الحية لعزلة الخميرة قيد الدراسة في إزالة العناصر المعدنية، تتأثر بدرجات الحرارة وباختلاف العناصر المعدنية نفسها، إذ يلاحظ أن

نسبة الإزالة بلغت حدها الأقصى لجميع العناصر المعدنية في درجة الحرارة 25م بفارق غير معنوي إحصائياً بالنسبة للنيكل بالمقارنة مع درجات الحرارة التي تراوحت مابين 5 الى 45م, وبفارق معنوي بالنسبة للعناصر الأخرى المتمثلة بالكوبالت والكادميوم والرصاص والحديد والنحاس بدرجات الحرارة ما بين 5 الى 25م، ولم يلاحظ ثمة فروقات معنوية حادة ما بين النتائج المستحصل والنتائج المتعلقة بتأثير درجة الحرارة في إمتزاز العناصر المعدنية وإزالتها من قبل العزلة المقتولة، كما في (الجدول، 9)، إذ وجد أن درجة حرارة 25م تمثل الدرجة المثلى لإزالة معظم العناصر قيد الدراسة من قبل الخلايا المقتولة، إذ إن تأثير درجة الحرارة في مستوى امتزاز العناصر المعدنية بسطوح الخلايا غالباً ما يتأتى من تأثيرها في درجة تأين المجاميع الفعالة(8؛ 9) وتتراوح درجة الحرارة المثلى لإزالة معظم العناصر المعدنية ما بين 25 الى 35م في معظم الدراسات(30). فقد وجد (28) بأن الدرجة المثلى لإزالة النيكل هي 25م، وأتفقت مع دراسة أجريت من قبل الباحث (29) بإستعمال خميرة *S.cerevisiae* بإمتزازها لعنصر النيكل أيضاً بدرجة حرارة مثلى 27م، وتتفق الدراسة بإنخفاض كل من عنصري الكوبالت والكادميوم بإرتفاع درجة الحرارة مابين 35 الى 45م مع (34).

جدول (8): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 الحية عند درجات حرارة مختلفة.

	كفاءة الإزالة (%)					
درجة الحرارة (م)	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
5	40.44 ± 2.36	6.02 ± 0.82	5.24 ± 0.82	75.93 ±3.48	76.14 ±3.26	49.45 ± 2.44
15	40.44 ±2.36	6.02 ± 0.82	5.24 ± 0.82	75.93 ±3.48	76.14 ±3.26	49.45 ±2.18
25	43.85 ±2.76	15.86 ± 0.84	12.77 ± 0.63	98.8 ±6.05	90.91 ±5.81	61.21 ±2.84
35	43.74 ±2.19	10.01 ± 0.82	9.11 ±0.54	92.38 ±5.38	93.94 ±5.92	63.19 ±3.24
45	43.74 ±2.19	10.01 ± 0.82	9.11 ±0.54	92.38 ±5.38	92.80 ±5.38	60.44 ±2.71
LSD Value	5.937^{NS}	2.478*	2.167 *	11.863*	10.846*	8.651 *

*** أقل فرق معنوي على مستوى ($P < 0.05$)، NS لايوجد فرق معنوي، ±الخطأ القياسي Standard error.**

جدول (9): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلة الخميرة Sc_6 المقتولة عند درجات حرارة مختلفة.

درجة الحرارة (م)	كفاءة الإزالة (%)					
	Ni	Co	Cd	Pb	Fe	Cu
5	35.96 ±1.83	0.00 ±0	0.00 ±0	85.90 ±4.27	75.83 ±3.58	50.25 ±2.71
15	42.14 ±2.09	5.22 ± 0.82	6.98 ±0.64	86.03 ±3.78	75.83 ±3.58	58.38 ±2.65
25	42.3 ±2.26	14.86 ± 0.84	13.88 ±0.57	89.73 ±4.02	94.76 ±6.81	57.77 ±2.79
35	47.47 ±2.59	9.00 ±0.54	2.98 ±0.63	89.73 ±4.02	94.76 ±5.49	57.77 ±2.79
45	47.47 ±2.59	9.00 ±0.54	2.98 ±0.63	89.73 ±4.02	96.97 ±5.32	57.77 ±2.79
LSD Value	5.617 *	1.083*	1.334 *	9.463^{NS}	8.647 *	4.792 *

*** أقل فرق معنوي على مستوى ($P < 0.05$) ، NS لايوجد فرق معنوي، ± الخطأ القياسي Standard error.**

الاستنتاجات:

من خلال إستعراض نتائج الدراسة يمكن إستعمال خميرة *S. cerevisiae* والتي رمز لها Sc_6 كأحد الكائنات المجهرية الكفوءة في في إزالة سبعة عناصر معدنية من المحاليل المائية بصورة مجتمعة بكفاءة عالية، فضلاً عن أن لكل من العوامل البيئية المتمثلة بمدة التماس والأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة تأثيراً معنوياً في عملية الإزالة لجميع العناصر المعدنية المدروسة بأستثناء عنصر الكروم السداسي من قبل العزلة قيد الدراسة.

المصادر

1. (APHA), American Public Health Association. (1998). Standard Methods for Examination of Water and Waste Water, 20th ed., APHAPress.

2. Abia, A. A.; Horsfall, J. M. and Didi, O. (2003). The use of chemically modified and unmodifie cassava waste for removal of Cd, Cu and Zn ions from aqueos solution. Bioresour. Technol. 90: 345-348.

3. Al-Zahrani, H. A. A. and El-saied, A. I. (2011). Induction of recombination's in *Saccharomyces cervisiae* via horizontal gene transfer for bioremediation of heavy metal toxicity from factory effluents. Journal of American Science. 7(11): 292-299.

4. Aravindhan, R.; Madhan, B.; Rao, J. R.; Nair, B. U. and Rasasami, T. (2004). Biosorption of chromium from tannery wastewater: Anapproch from chrom recovery and reuse. Environ. Sci. Technol. 38: 300-306.

5. Bakkaloglu, I.; Butter,T. J.; Evison, L. M.; Holland, F. S. and Hancock, I. C. (1998). Screening of various types biomass for removal and recovery of heavy metals (Zn, Cu, Ni) by biosorption, sedimentation and desorption. Water Science and Technology. 38(6): 269–277.

6. Barnett, J. A.; Payne, R. W. and Yarrow, D. (2000). Yeasts: Characteristics and Identification , 3rd ed., Cambridge. University Press. England.

7. Bhatnagar, S. and Kumari, R. (2013). Bioremediation: A sustainable tool for environmental management- A Review. Annual Review and Research in Biology.3(4): 974-993.

8. Bopp, L. H. and Ehrlich, H. L.(1988). Chromate resistance and reduction in *Pseudomonas fluorescens* strain LB300. Archives of Microbiology.150(5):426-431.

9. Congeevaram, S.; Dhanarani, S.; Park, J.; Dexilin, M .and Thamarasiselvi, K. (2007). Biosorption of chromium and nickle by heavy meatl resistant fungal and bacterial isolates.Journal of Hazardous Materials.146:270-277.

10. Cvijovic, M.; Djurdjevic, P.; Cvetkovic, S. and Cretescu, I. (2010). A case study of industrial water polluted with chromium (VI) and its impact to river recipient in western Serbia. Environmental Engineering and Management Journal. 9(1): 45-49.

11. Das, N.; Vimala. R. and Karthika. (2008). Biosorption of heavy metals- An overview. India Journal of Biotechology. 7: 159-169.

12. Davis, A.; Volesky, B. and Mucci, A. (2003). A review of the biochemisty of heavy metals biosorption by brown algae. Water Research. 37: 4311-4330.

13. Dursun, N.; Ozcan, M. M.; Kasik, G and Ozturk, C. (2006). Mineral contents of 34 species of edible mushrooms growing wild in Turkey. Journal of the Science of Food and Agriculture. 86 (7): 1087-1094.

14. El-Sayed, M. T.(2012). The use of *Saccharomyces cerevisiae* for removing cadmium(II) from aqueous waste solutions. African Journal of Microbiology Research. 6(41): 6900-6910.

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

16. Gazso L. G.(2001). The key microbial processes in the removal of toxic metal and radionuclidfrom the environment.CEJOEM. 7(3-4):178-185.

17. Ghorbani, F.; Younesi, H.; Ghasempouri, S. M.; Zinatizadeh, A. A. and Amini. M. (2008). Application of response surface methodology for optimization of cadmium biosorption in an aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae*. Chem. Eng. J. 145: 267-275.

18. Gradinaru A. C.; Popescu, O. and Solcan, G. (2011). Variation analysis of heavy metal residues in milk and their incidence in milk products from Moldavia, Romania. Environmental Engineering and Management Journal.10(10): 1445-1450.

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

20. Herrero, M. B.,de Lamirande, E. and Gagnon, C. (1999). Nitric oxide regulates human sperm capacitation and protein-tyrosine phosphorylation in vitro. Biology of Reproduction. 61(3) : 575-81.

21. Hussein, H.; Ibrahim, S. F.; Kandeel, K. and Moawad, H. (2004). Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas spp*. Microbial Biotech. Electronic J. 7(1): 38-46.

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

23. Izabella, M.; Agnieska, Z.; Katarzyna, C. and Jan, M. (2007). Biosorption of Cr^{+3} by microalgae and macroalgae equilibrium of the process. American Journal of Agriculture and Biological Sciences .2: 284-290.

24. Kapoor, A. and Viraraghavan, T.(1997). Fungi as Biosorbent. In: Biosorbents for Metal Ions. Wase, J and Forester, C. ed., Toylar and Fancis Ltd. London.UK. 67-85.

25. Kim, T.; Park, S. Cho, S.; Kim, H.; Kang, Y.; Kim, S. and Kim, S. J. (2005). Adsorption of heavy metals by Brewery Biomass. Korean Journal of Chemistry Engineering, 22(1) : 91-98.

26. Machado, M. D.; Janssens, S.; Soares, H. M. V. M. and Soares, E. V. (2009). Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae* advantages of using dead biomass. J. Appl. Microbiol. 106(6): 1792- 1804. doi: 10.1111/ j. 1365-2672. 2009. 04170.x.

27. Mina, K.; Hyun-Ju, U.; Sunbaek, B., Sang- Hee, L.; Suk-Jung, O.; Ji-Hye, H.; Min-Gyu, L.; Jun-Heok, L. and Sang-Kyu, K. (2002). Biosorption characteristics in the mixed heavy metal solution by biosorbents of marine brown algae. Korean, Chem. Eng. 19(2): 277-284.

28. Ozturk, A. (2007). Removal of nickle from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*. Journal of Hazardous Materials. 147: 518-523.

29. Padmavathy, V.; Vasudevan, P. and Dhingra, S. C. (2003). Biosorption of nickle (II) ions on Bakers yeast. Processes Biochemistry. 38: 1389- 1395.

30. Pandy, A.; Bera, D.; Shukla, A. and Ray, L. (2007). Potential of agarose for biosorption of Cu (II) in aqueous system. Am. J. Biochem. Biotech.3:55-59.

31. Parvathi, k., Nagendran, R. and Nareshkumar, N. (2007). Lead biosorption onto waste beer yeast by- product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. Electronic Journal of Biotechnology.10(1): 92–105.

32. Podgorskii, V.S.; Kasatkina, T.P. and Lozovaia, O.G. (2004). Yeasts-biosorbents of heavy metals.Mikrobiol Z. 66:91-103.

33. Quintelas, C.: Fernandes, B.; Castro, J.; Figueiredo, H. and Tavares, T. (2008). Biosorption of Cr (VI) by three different bacterial species supported on granular activated carbon-A comparative study. J. Hazard. Mat. 153:799-809.

34. Saifuddin, N. and Raziah, A. (2007). Removal of heavy metals fromindustrial effluent using *Saccharomyces cerevisiae* immobilized in chitosan/ lignosulphonate matrix. Journal of applied sciences. 3(12): 2091-2099.

35. Sakaguchi, T. and Nakajima, A. (1991). Accumulation of Heavy Metals Such as Uranium and Thorium by Microorganisms.Smith RW, Misra M. (Eds.), Mineral Bioprocessing.The Minerals, Metals and Materials Society, Warrendale, Pennsylvania. 309-322.

36. (SAS) Statistical Analysis System (2010). User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed., SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

37. Sobukola, O. P. O.; Adeniran M.; Odedairo A. A. and Kajihausa O. E. (2010). Heavy metal levels of some fruits and leafy vegetables from selected markets in Lagos, Nigeria. African Journal of Food Science. 4(2): 389- 393.

38. Tsezos, M. and Bell, J. (1989). Comparison of the biosorption and desorption of hazardous organic pollutants by live and dead biomass. Water Research. 23(8): 561-568.

39. Tunali, S.; Cabuk, A. and Akar, T.(2006). Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. Chemical Engineering Journal. 115: 203-211.

40. Vijayaraghavan, K. and Yun, Y-S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. Biotechnology Advances. 26: 266–291.

41. Voleskey, B. (2004). Sorption and Biosorption. Sorbex, INC, St.Lambert, Quebec. 36-103.