مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
زمستان ۱۳۸۹، دوره دوم، شماره هفتم، صفحه ۲۸-۲۳

بررسی جذب فلزات سنگین (سرب و روی) بوسیله پلی مرهای خارج سلولی باکتری ها

شهلا سلطانی نژاد [۱]، گیتی امتیازی[۲]، طیبه ستایی مختاری[۳]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت
۲- گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان
۳- دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت

نویسنده مسؤول: شهلا سلطانی نژاد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، گروه زیست شناسی. shahlasoltani56@gmail.com

دریافت: ۸۹/۹/۱۸ پذیرش: ۸۹/۱۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: امروزه آلودگی فلزات سنگین یکی از مشکلات جدی محیطی می باشد. در این تحقیق از جسم زنده، بیومس مرده و پلی مرهای خارج سلولی ازتوباکتر و ریزوبیوم به منظور جذب فلزات سنگین سرب و روی استفاده شد.

روش بررسی: ابتدا باکتری های مورد نظر جداسازی شده، بیومس زنده و مرده آنها تهیه گشت. سپس پلی مرهای خارج سلولی تولید شده بوسیله این باکتری ها استخراج گردید. در ادامه میزان جذب فلزات سنگین سرب و روی بوسیله این اجزا با استفاده از روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: با توجه به منحنی رشد باکتری ها، پلی مر خارج سلولی در ازتوباکتر در فاز لگاریتمی رشد و در ریزوبیوم در فاز سکون به میزان بیشتری تولید می گردد. در ازتوباکتر ٪۹۱ Zn^{+2} و ٪۱۰۰ Pb^{+2} ولی در ریزوبیوم ٪۸۲ Zn^{+2} و ٪۹۰ Pb^{+2} بوسیله این اگزو پلی مر جذب می گردد. جسم سلولی زنده ریزوبیوم و ازتوباکتر به ترتیب ٪۳۳/۱ و ٪٤٦ Zn^{+2} را جذب نمودند ولی در جذب Pb^{+2} بین جسم زنده دو باکتری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در جذب Zn^{+2} بین بیومس مرده ریزوبیوم و ازتوباکتر تفاوتی وجود نداشت در حالیکه جسم مرده ازتوباکتر Pb^{+2} را بیشتر از جسم مرده ریزوبیوم جذب نمود. اگزوپلی مر ازتوباکتر از ml ۱۰۰ آب چاه، آب رودخانه و ادرار به ترتیب ٤، ۰/۲۵ و ۰/۱ میلی گرم سرب در هر گرم پلی ساکارید جذب نمود، ولی اگزوپلی مر ریزوبیوم فقط ۰/۸ میلی گرم سرب را از ml ۱۰۰ آب چاه جذب کرد.

نتیجه گیری: اگزوپلی مرهای تولید شده بوسیله باکتری ها حسگر مناسبی برای حذف آلودگی های فلزی محیط می باشند.

واژه های کلیدی: فلزات سنگین، پلی مر خارج سلولی، ازتوباکتر، ریزوبیوم، بیومس.

www.SID.ir

مقدمه

تجمع فلزات سنگین در آب، هوا و خاک یک مشکل زیست محیطی مهم می باشد. در سالهای اخیر چندین تکنولوژی با هدف کاهش یا برداشت فلزات سنگین موجود در محیط آلوده، توسعه یافته است. در این میان تکنولوژی هایی که بر اساس استفاده از میکروارگانیسم ها پایه ریزی شده، مورد توجه قرار گرفته اند (۱). اگر چه اغلب یون های فلزی برای سیستم های زیستی ضروری اند، ولی اکثراً بالقوه سمی می باشند(۲). اثرات سمی فلزات شامل بلوکه کردن گروه های عملکردی زیستی مهم (آنزیم ها یا سیستم های انتقال یون ها و مواد غذایی)، تغییر شکل فضایی، واسرشتی و غیر فعال سازی آنزیم ها و اختلال در تمامیت غشای اندامک ها و سلول ها می باشد(۱). سرب به طور طبیعی توزیع فراوانی دارد، اما بزرگ ترین خطر آن زمانی است که در محیط های زندگی و کار بشر منتشر شود. این فلز از دو راه وارد بدن انسان و حیوانات شده، مسمومیت ایجاد می کند که یکی ورود به زنجیره غذایی از طریق تغذیه و دیگری از طریق تنفس هوای آلوده به سرب می باشد(۳). روی عنصری کم مصرف و ضروری برای انسان، حیوانات و اغلب گیاهان است و به عنوان کاتالیزور و یا بخش ساختمانی در اکثر آنزیم های فعال در متابولیسم عمل می کند. معمولاً عنصر کم خطری در نظر گرفته می شود، ولی در مقادیر زیاد و در حضور آرسنیک، سرب و کادمیوم سمیت آن افزایش می یابد(۴-۶). باکتری ها، سیانوباکتری ها، قارچ ها و مخمرها توانایی برداشتن یون های فلزی را از محیط اطراف بوسیله مکانیسم های فیزیکوشیمیایی دارند. در این رابطه بیومس زنده، غیر زنده و محصولات فرعی آنها می توانند یون های فلزی را انباشته کنند. برخی میکروارگانیسم ها نیز پلی مرهای خارج سلولی ترشح می کنند که تمایل زیادی برای اتصال به یون های فلزی دارند(۱و ۷-۱۰). این پلیمرها حاوی پلی ساکارید، پروتئین و لیپید می باشند. ظاهراً ترکیب اگزوپلیمرها ثابت نیست و بوسیله شرایط رشد و استرس های محیطی تحت تاثیر قرار می گیرد(۱۱و۱۲). اگزو پلیمرهای میکروبی در اتصال فلزات سنگین بویژه سرب، کادمیوم و اورانیوم اهمیت دارند. سمیت زدایی فلزات از طریق تولید پلیمر به تثبیت فلزات منجر شده و از ورود آنها به درون سلول جلوگیری می کند(۱۳). امروزه به منظور خارج نمودن عناصر سنگین (کادمیم و سرب) از فاضلابهای کشاورزی و صنعتی، استفاده از تکنولوژی میکروبی به خصوص گونه‌های مختلف ازتوباکتر مورد توجه می‌باشد که از نظر اقتصادی و زیست محیطی راهکار مناسبی است. بیومس و پلیمرهای میکروبی نقش مؤثری در خارج کردن فلزات سنگین از فاضلاب ها دارند. هنگامی که ازتوباکتر به فاضلاب ها اضافه می‌گردد، این باکتری با تولیداگزوپلی ساکاریدها سبب خارج شدن میزان قابل توجهی از عناصر سنگین و مضر همانند سرب، نیکل، کادمیوم می‌گردد (۱۳). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر اگزوپلیمرهای تولید شده بوسیله ازتوباکتر و ریزوبیوم برای حذف آلودگی های فلزی محیط می باشد.

روش بررسی

جداسازی و شناسایی باکتریها: باکتری های مورد استفاده ازتوباکتر وریزوبیوم می باشد. ازتوباکتر از خاک گلخانه تحقیقاتی دانشگاه اصفهان و ریزوبیوم از غده های ریشه شنبلیله جداسازی شد. برای جداسازی ریزوبیوم از محیط YMA (Yeast extract mannitol agar) و ازتوباکتر از محیط آگار فاقد منبع ازت استفاده گردید. شناسایی باکتری ها بر اساس آزمون های میکروسکوپی و بیوشیمیایی مثل واکنش های گرم، تحرک، اکسیداز، کاتالاز، توانایی تولید کیست، تثبیت نیتروژن و غیره با استفاده از کلید طبقه بندی برگی انجام گرفت(۱۴و۱۵).

استخراج اگزوپلیمر: برای تولید اگزوپلیمر در ریزوبیوم از محیط کامل ریزوبیوم(۱۶) و ازتوباکتر از محیط Obika و همکاران(۱۷) استفاده شد. ابتدا سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند از هر باکتری تهیه شد(۱۸). سپس یک لوپ پر از این کشت استاندارد به محیط های تولید اگزوپلیمر اضافه گردیده و در ۲۵ درجه سانتی گراد و ۲۰۰ rpm به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. سلول ها در ۹۰۰۰ rpm در ۱ mM EDTA سانتریفوژ گشته و فاز رویی جداگانه جمع آوری گردید. حجم مساوی استون سرد به این فاز اضافه شده و در ۲۰۰۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. رسوب حاصل اگزوپلیمر می باشد. برای تعیین میزان پلیمر از معرف آنترون و واکنش آنترون استفاده شد(۱۹-۲۱). در مورد ازتوباکتر انتظار می رفت که پلیمر استخراج شده آلژینات باشد

Archive of SID
www.SID.ir

که برای تایید این گفته معرف آلژینات مورد استفاده قرار گرفت(۲۲).

تهیه بیومس: باکتری ها در محیط LB کشت شده، ۲۴ ساعت در ۲۵ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردیدند. سلول ها یک بار با آب دیونیزه شسته شدند. رسوب حاصل در ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردیده و وزن خشک آن تعیین شد. برای تهیه جسم مرده نیز سلول ها پس از ۲۴ ساعت گرما گذاری در ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده، سپس وزن خشک آنها تعیین گشت.

بررسی جذب فلزات: ابتدا محلول های فلزی سرب و روی با غلظت نهایی ۱۰ mg/ L تهیه شده و بیومس زنده، مرده و پلی مرهای خارج سلولی استخراج شده از باکتری ها به مدت یک ساعت در مجاورت این محلول ها قرار گرفتند. مخلوط واکنش در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ شده و مقدار فلز جذب شده به آنها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی اندازه گیری شد. توانایی جذب فلزات یعنی میزان فلز جذب شده (mg) بر هر گرم بیومس یا پلی ساکارید از رابطه زیر محاسبه گردید(۲۳-۲۵).

$$Q= (Ci - C_F). V / M$$

Q= مقدار فلز جذب شده به بیومس (mg/g)

C_i= غلظت یونهای فلزی در محلول اولیه (mg/ l)

C_F= غلظت یونهای فلزی در محلول پس از جذب (mg/l)

M= وزن حسگر (g)

V= حجم مخلوط (L)

استفاده از اگزو پلی ساکارید جهت تشخیص سرب در نمونه های آزمایشی: پس از استخراج اگزو پلیمرها، ۲۵ میلی لیتر از آب رودخانه زاینده رود، آب چاه و ادرار جداگانه به آن اضافه شد. پس از یک ساعت گرما گذاری در ۳۰ درجه سانتی گراد و ۱۰۰ rpm، به مدت ۱۰ دقیقه در ۹۰۰۰ rpm و دمای ۱۰ درجه سانتی گراد سانتریفوژ گردید. به رسوب حاصل دوباره ۲۵ میلی لیتر از نمونه های آزمایش اضافه گردیده و مراحل بالا انجام گرفت. این عمل تغلیظ چهار مرتبه انجام گرفت. سپس میزان سرب موجود در این نمونه ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی اندازه گیری شد. در ضمن نمونه های مورد نظر به تنهایی (بدون اضافه نمودن اگزوپلیمر) به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفته و میزان سرب موجود در آنها اندازه گیری شد، آزمایش ها با ۵ تکرار انجام گردید.

آنالیز آماری: برای مقایسه میانگین‌های دو گروه نمونه از آنالیز واریانس یک طرفه با تکرار مساوی استفاده شد. سپس برای تعیین نمونه هایی که دارای اختلاف میانگین معنا داری می‌باشند، از آزمون Tukey با سطح اطمینان ٪۹۵ استفاده گشت.

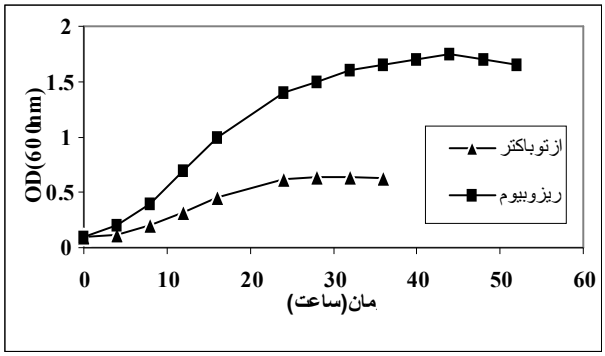
یافته ها

ابتدا بیومس زنده و مرده باکتری های ازتو باکتر و ریزوبیوم برای جذب فلزات مورد استفاده قرار گرفت. بیومس زنده ریزوبیوم ۱/۹ میلی گرم سرب در هر گرم وزن خشک بیومس جذب نمود. در حالیکه بیومس اتوکلاو شده این باکتری مقدار فلز سرب کمتری را جذب کرد (جدول ۱). بیومس مرده هر دو باکتری فلز روی را به میزان زیادتری جذب نمود. به طوری که بیومس مرده ازتوباکتر و ریزوبیوم به ترتیب ۱۶/۵ و ۱۵/۴ میلی گرم روی در هر گرم وزن خشک بیومس جذب کرد (جدول ۱). اگزو پلیمر تولید شده بوسیله این باکتری ها در فازهای مختلف رشد استخراج شده (نمودار ۱ و ۲) و قابلیت جذب فلزات بوسیله آنها اندازه گیری شد. اگزوپلیمر ازتوباکتر حدود ٪۱۰ فلزات سرب و روی را بیشتر از پلیمر خارج سلولی ریزوبیوم جذب نمود (جدول ۱). اگزوپلیمر ازتوباکتر و ریزوبیوم برای تشخیص سرب در نمونه های مختلف مورد استفاده قرار گرفت. در نمونه های آزمایشی آب چاه، آب رودخانه و ادرار قبل از افزودن حسگر اگزوپلیمر میزان سرب قابل اندازه گیری نبود. در حالی که اگزو پلیمر ازتوباکتر توانست از ۱۰۰ میلی لیتر آب چاه، آب رودخانه و ادرار به ترتیب ۴، ۰/۲۵و ۰/۱ میلی گرم سرب در هر گرم وزن خشک اگزو پلیمر جذب کند. اگزوپلیمر ریزوبیوم فقط از ۱۰۰ میلی لیتر آب چاه mg ۰/۸ سرب جذب نمود (جدول ۲).

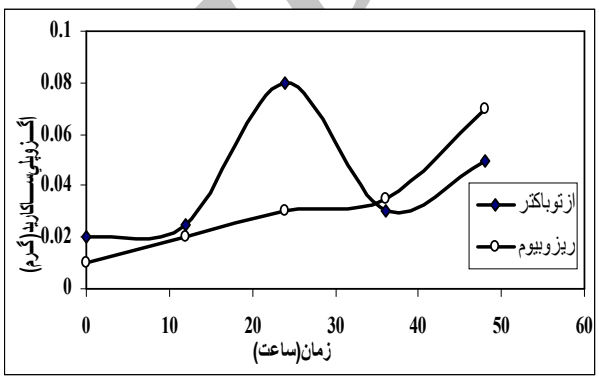
جدول ۱. مقایسه جذب فلزات توسط ازتوباکتر و ریزوبیوم

باکتری	حسگر زیستی	Mg $P^{+2}.g^{-1}$ biosensor	Mg $Zn^{+2}.g^{-1}$ biosensor
ریزوبیوم	اگزوپلی مر	۱۲	۱۱
	سلول زنده	۱/۹	۷/۲
	بیومس مرده	۱	۱۵/۴
ازتوباکتر	اگزوپلی مر	۱۶/۷	۱۵
	سلول زنده	۱/۷	۱۰/۲
	بیومس مرده	۲	۱۶/۵

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱. منحنی رشد باکتری ها



نمودار ۲ . منحنی تولید اگزوپلیمر در واحد زمان

جدول ۲. استفاده از حسگر اگزو پلیمر برای تشخیص حضور سرب در آب و ادرار

نمونه (۱۰۰ ml)	اگزو پلیمر ازتوباکتر	اگزو پلیمر ازتوباکتر
آب چاه	۴	۰/۸
آب رودخانه	۰/۲۵	-
ادرار	۰/۱	-

اعداد جدول نشان دهنده میزان جذب سرب بر حسب میلی گرم فلز در هر گرم وزن خشک اگزو پلیمر می باشد.

بحث

امروزه به علت خطرات ناشی از آلودگی فلزات سنگین و پرتوهای یون ساز عناصر رادیواکتیو، توجه بیشتری به کاربرد بیوتکنولوژی برای حل اصولی این معضل شده است. در این راستا توانایی قارچ ها، مخمرها، جلبک ها و باکتری ها طی سال های اخیر توسط محققان مورد مطالعه قرار گرفته است و نتایج حاکی از آن است که یکی از راهکارهای مناسب برای حذف این عناصر، استفاده از روش های بیولوژی است. این پژوهش به منظور ارزیابی توان میکروارگانیسم ها در جذب فلزات سنگین و سمی انجام شد. نتایج نشان می دهد که بیومس زنده و مرده ازتوباکتر و ریزوبیوم قابلیت جذب زیستی پایینی برای سرب دارند. در حالیکه بیومس مرده آنها روی را به مقدار زیادتری جذب می کند. جذب زیستی سرب بوسیله قارچها توسط Say (۲۰۰۱) و Yan(۲۰۰۰) مورد بررسی قرارگرفته است(۲۶و۲۷). Yan (۲۰۰۰) بیان نموده که کاهش در قابلیت جذب بیومس اتوکلاو شده *Mucor rouxii* در مقایسه با بیومس زنده به خاطر از دست رفتن جذب داخل سلولی می باشد (۲۷). با توجه به نتایج بدست آمده اگزو پلیمرها در یک مرحله از رشد تولید نمی شوند، بلکه در ازتوباکتر در فاز لگاریتمی رشد و در ریزوبیوم در فاز سکون پلیمر خارج سلولی بیشتری تولید می شود. Sutrerland (۲۰۰۱) نیز بیان داشته است که برخی پلی ساکارید های خارج سلولی در تمام مراحل رشد باکتریایی سنتز می شوند، در حالیکه بعضی فقط در فاز تاخیر لگاریتمی و یا فاز سکون تولید می گردند (۲۸). در حالیکه بیومس زنده و مرده ریزوبیوم و ازتوباکتر فلز سرب را به خوبی جذب نمی کنند، اگزوپلیمر استخراج شده از این باکتری ها قابلیت جذب زیستی بالایی برای این فلز از خود نشان می دهد. جذب سرب، کادمیوم و روی بوسیله پلیمرهای خارج سلولی باکتریایی بوسیله loace (۱۹۹۷) نشان داده شده است(۲۹). Fan و همکاران (۲۰۰۸) جذب زیستی کادمیوم، مس و روی توسط *Penicillium simplicissimum* را مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که جذب این فلزات توسط این کپک به صورت اندوترمیک انجام می شود (۱). Liang Liu و همکارانش (۲۰۰۴) نیز جذب روی و مس بوسیله *تیوباسیلوس تیواکسیدانس* را بررسی کرده و نشان دادند که درجه حرارت بالا جذب هر دو فلز را افزایش می دهد (۱۶). بسیاری از اگزو پلیمرهای میکروبی در شرایط طبیعی به صورت پلی آنیون عمل می کنند. یعنی دارای گروههای آنیونی فراوانی هستند که میل ترکیبی زیادی با کاتیون های فلزی دارند. بر همین اساس امروزه از آنها در جذب و حذف آلاینده های محیطی بویژه فلزات سمی و سنگین استفاده می شود(۳۰-۳۵). Steiner (۱۹۷۶) پیشنهاد کرده است که جذب افتراقی کاتیون ها بوسیله پلیمرها امکان دارد ناشی از وجود دو نوع محلهای

www.SID.ir
Archive of SID

اتصال باشد که مربوط به گروههای کربوکسیل و هیدروکسیل است که به ترتیب در ارتباط با فرم های محلول و جامد پلیمر می باشد (۳۵). در بین باکتری های مولد آلژینات ازتوباکترها از نظر بیوتکنولوژی بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند. بیماری زا نبودن و عدم نیاز باکتری به ازت آلی یا معدنی در محیط کشت که موجب کاهش هزینه های تولید این پلیمر می شود از دلایل توجه به این باکتری است که می توان از آن برای تولید انبوه در مقیاس تجاری و صنعتی بهره جست(۳۶).

نتیجه گیری

بررسی نتایج نشان می دهد که جذب فلزات سنگین بوسیله اجزای مختلف باکتری به نوع باکتری و فلز موجود بستگی دارد و اگزو پلیمرهای تولید شده بوسیله باکتری ها مناسب ترین حسگر برای حذف آلودگی های فلزی محیط می باشد که از نظر اقتصادی در استفاده از این حسگرها به عنوان یک مزیت تلقی می شود. چرا که دیگر محدودیت استفاده از سلول های زنده وجود نخواهد داشت. از طرفی استخراج این پلیمرهای خارج سلولی بسیار راحت بوده، پایداری بیشتری نسبت به سلول های زنده داشته و آلودگی کمتری نیز ایجاد می کند.

تشکر و قدردانی

از گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان و حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت تشکر و قدردانی می شود.

References

1- Fan T, Liu Y, Feng B, Zeng G, Yang C, Zhou M, Zhou H, Tan Z, Wang X. *Biosorption of cadmium(II), zinc(II) and lead(II) by Penicillium simplicissimum: Isotherms, kinetics and thermodynamics*. J. Hazard. Mater. 2008; 160: 655- 661.
2- Martins P, Almeida N, Leite S. *Application of bacterial extracellular polymeric substance in heavy metal adsorption in a co-contaminated aqueous system. Brazilian.* J. Microbiol. 2008; 39: 780-786.
3- Underwood EJ. *Trace elements in human and animal nutrition.* Academic Press. London. 1987:281-318.
4- Alloway B. *Heavy metal in soils*. Blackie & Sons. London. 1990: 339-340.
5- Duffus J. Environmental toxicology (Resources and environmental sciences series). Edward Arnold. 1983; 164-166.
6- Mathis BJ, Cummings TF. *Selected metal in sediments, water and biota in the Illinois river.* J. WPCF. 1973; 45: 1573-1583.
7- Gong R, Ding Y, Liu H, Chen Q, Liu Z. *Lead biosorption and desorption by intact and pretreated Spirulina maxima biomass*. Chemosphere. 2005; 58(1): 125-130.
8- Iqbal M, Edyvean R. *Biosorption of lead, copper and zinc ions on loofa sponge immobilized biomass of Phanerochaete chrysosporium.* Minerals Eng. 2004; 17: 217 -223.
9- Lodeiro P, Barriada J, Herrero R, Vicente M. *The marine macro alga Cystoseira baccata as biosorbent for cadmium (II) and lead (II) removal: kinetic and equilibrium studies.* Environ. Pollut. 2006; 142: 264–273.
10- Yetis U, Dolek A, Dilek F, Ozcengiz G. *The removal of Pb (II) byPhanerochaete chrysosporium.* Water Res. 2000; 34 (16): 4090-4100.
11- Fleming HC. *Sorption site in biofilms*. Water Sci. Technol. 1995; 32: 27-33.
12- Zhang D, Wang J, Pan X. *Cadmium sorption by EPSs produced by anaerobic sludge under sulfate-reducing conditions.* J. Hazard. Mater. 2006; 138: 589- 593.
13- Roane TM, Pepper IL. *Microorganisms and metal pollutants. In: Environmental microbiology*. Academic Press. New York. 2000; 403-423.
14- Jordan D C. Rhizobiaceae, In*: Bergey,s Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins. 1989; 1: 234- 242.
15- Tehan YT. *Azotobacreriaceae*. In: Bergey, s Mannual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. 1989; 1;pp: 220- 237.
16- Liu H, Chen B, Lan Y, Cheng Y. *Biosorption of Zn(II) and Cu(II) by the indigenous Thiobacillus thiooxidans.* Chemical Eng. J. 2004; 97: 195- 201.
17- Obika H, Sakakibbara J, kobayashi Y. *Direct control of constituents ration a wide range in alginate produced by Azotobacter vinelandii. Biosci.* Biotechnol. Biochem. 1993; 57(2): 332-333.
18- Naderinasab M, Rashed T, Nazem M. *Laboratory bacteriology. Mashhad*: Imam Reza press: 1997; 24-29.
19- Dubois M, Gilles KA, Hamilton J, Rebers PA, Smith F. *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Anal Chem. 1956; 28, 350-356.
20- Morris DL. *Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent.* Science. 1948; 107: 254-255.
21- Trevelyan WE, Harrison JS. *Differential determination of the structural and reserve carbohydrates in yeast.* Biochem. J. 1956; 63: 23-33.
22- Kautson CA, Jeans A. *A new modification of carbazole analysis application in heteropolysaccharide.* Anal. Biochem. 1968; 24: 470-481.
23- Parameswari E, Lakshmanan A, Thilagavathi T. *Biosorption of Chromium (VI) and Nickel (II) by bacterial isolates from an aqueous solution.* EJEAFChe. 2009; 8 (3): 150- 156.
24- Shotty R, Rajkumar Sh. *Biosorption of Cu (II) by metal resistant Pseudomonas Sp*. Int. J. Environ. Res. 2009; 3 (1): 121- 128.

Archive of SID

www.SID.ir

25- Yan G, Viraraghavan T. *Effect of pretreatment on the bioadorption of heavy metals on Mucor rouxii.* Water SA. 2000; 26: 119-123.
26- Say R, Denizli A, Arica MY. *Biosorption of Cadmium, Lead and copper with the filamentius fungus Phanerochaete chryosporium.* Bioresource technol. 2001; 76: 67-70.
27- Yan G, Viraraghavan T. *Effect of pretreatment on the bioadorption of heavy metals on Mucor rouxii.* Water SA. 2000; 26: 119-123.
28- Sutherland IW. *Microbial polysaccharides from gram negative bacteria.* Int. Dairy J. 2001; 11: 663-674.
29- Loace M, Oliver R, Guezenne J. *Uptake of Lead, cadmium and zinc by a novel bacterial exopolysaccharide.* Water Res. 1997; 31: 1171-1179.
30- Al-Garni S. *Biosorption of lead by Gram-ve capsulated and non-capsulated bacteria.* Water SA. 2005; 31: 345-349.
31- Ehrilich H. *Extra cellular polymers for metal binding*. Microbial Mineral Recovery. 1990; 222-247.
32- Geddie JL. *Uptake of metals by bacterial polysaccharides.* Appl. Biotechnol. 1993;74: 467- 472.
33- Hussein H, Braham S, Kandeel K, Moawad H. *Biosorption of heavy metals from waste water using Pseudomonas sp*. Electronic J. Biotechnol. 2004; 7(1): 38- 46.
34- Lu WB, Shi JJ, Wang CH, Chang JS. *Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate Enterobacter sp. J1 possessing high heavy-metal resistance.* J. Hazard. Mater. 2006; 134; 80-86.
35- Mohmmed A, Sharma R, Ali S, Babu C. *Molecular diversity of the plasmid genotypes among Rhizobium gene pools of sesbanias from different habitats of a semi-arid region (Dehli).* FEMS Microbiol. Let. 2001; 205: 171-178.
36- Gacesa P. *Bacterial alginate biosynthesis- Recent progress and future prospects.* Microbiology. 1998; 144: 1133-1143.

Archive of SID

www.SID.ir