

Anna Jasińska, Katarzyna Paraszkiwicz***

**CHARAKTERYSTYKA PROCESU SORPCJI ZIELENI MALACHITOWEJ
ORAZ JONÓW KADMU, CYNKU I OŁOWIU PRZEZ ODPADOWY
MAKUCH RZEPAKOWY**

**CHARACTERISTIC OF MALACHITE GREEN AND Cd, Zn, Pb IONS
SORPTION BY AUTOCLAVED RAPESEED OIL CAKE WASTE**

Słowa kluczowe: dekoloryzacja, sorpcja, zieleń malachitowa, metale ciężkie, makuch rzepakowy.

Key words: decolorization, sorption, malachite green, heavy metals, rapeseed oil cake.

Because of a high nutrient content rapeseed oil cake is used to prepare low-cost growth media for microscopic fungal strains cultivation. Waste obtained during this process – autoclaved rapeseed oil cake was used as a sorbent of heavy metal ions and industrial dye - malachite green (BG4). Zero charge point value for an aqueous suspension of rapeseed oil cake was established in the pH 6,5. In pH values of the dye solution ranging from 5 to 8, decolorization of malachite green by rapeseed oil cake was constant (94%). BG4 sorption equilibrium (10 mg/l) by rapeseed oil cake (the content of sorbent 10 g/l) was reached after 30 minutes of incubation of the sorbent in a BG4 solution. It was observed that high decolorization efficiency of BG4 solution (90%) was obtained in solutions containing the dye at the concentration of 100 mg/l. The presence of cadmium, lead and zinc ions (100 mg/l) inhibited decolorization of BG4 (50 mg/l) to the level of 57, 65 and 77%. The sorption of three heavy metal ions (100 mg/l) from BG4 solutions (50 mg/l) was also assessed. Removal of Zn, Cd, Pb ions by the rapeseed oilcakes achieved 81, 88 and 97%, respectively. The obtained results indicate that autoclaved rapeseed oil cake can be a cheap and effective sorbent of malachite green and heavy metals ions (primarily lead).

* **Mgr Anna Jasińska, dr hab. Katarzyna Paraszkiwicz – prof. UŁ; Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Uniwersytet Łódzki; ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; tel.: 42 635 41 49; e-mail: ajas@biol.uni.lodz.pl**

1. WPROWADZENIE

Wytłoki roślin oleistych (makuchy) używane są często jako dodatki do pasz, nawozy organiczne, środki wzmagające pobieranie azotu przez rośliny czy zapobiegające nityfikacji gleby [Omar 2002; Jothi i in. 2004]. Jednak ze względu na zawartość składników odżywczych, takich jak węglowodany (celuloza, hemiceluloza, skrobia), tłuszcze, białka i witaminy mogą stanowić tani surowiec do przygotowania podłoży mikrobiologicznych. Z tego względu makuchy wykorzystywane są do otrzymywania biomasy drobnoustrojów oraz w procesach mikrobiologicznej produkcji enzymów, kwasów organicznych czy antybiotyków [Ramachandran i in. 2007]. Ze względu na właściwości fizykochemiczne, makuchy – podobnie jak inne odpady rolno-spożywcze – mogą być używane jako sorbenty w procesach bioremediacji i biologicznej detoksykacji niebezpiecznych związków organicznych (pestycydów, barwników przemysłowych) oraz jonów metali ciężkich [Gupta, Suhas 2009].

Barwniki przemysłowe, dostające się do środowiska naturalnego w postaci ścieków, stanowią poważne zagrożenie dla wszystkich organizmów żywych. Występowanie barwników w wodzie, nawet w niskich stężeniach, powoduje znaczące zahamowanie fotosyntezy, ze względu na niską przenikalność światła oraz niewielką rozpuszczalność gazów [Laxminarayana i in. 2010]. Bardzo często ich obecność może wywołać u organizmów żywych efekt toksyczny, mutageny i/lub kancerogeny [Vaithanomsat i in. 2010]. Przykładem takiego barwnika jest zieleń malachitowa (pigment trójfenylometanowy), dla której udowodnione szkodliwe działanie obejmuje m.in. uszkodzenie chromosomów, zaburzenie działania enzymów oddechowych oraz niekorzystny wpływ na funkcjonowanie wątroby, nerek i układu rozrodczego [Srivastava i in. 2003].

Barwniki przemysłowe ze względu na złożoną strukturę cząsteczek, często o charakterze aromatycznym, odznaczają się wysoką stabilnością oraz opornością na rozkład chemiczny i biologiczny. Zazwyczaj towarzyszą im wtórne zanieczyszczenia, takie jak jony metali ciężkich [Solecka, Ledakowicz, 2005]. Ze względu na wysoką efektywność jedną z najpopularniejszych metod eliminacji barwników ze ścieków przemysłowych jest adsorpcja. Do najczęściej stosowanych sorbentów tej grupy związków należy węgiel aktywny, jednak z powodu wysokiego kosztu jego użycia poszukiwane są nowe, tańsze materiały sorpcyjne. Prowadzone są badania nad wykorzystaniem w tym celu odpadów, takich jak: wióry drzewne, pestki i skórki owoców, biomasa bakteryjna i grzybowa lub glina [Bhatnagar, Sillanpaa 2010].

Makuch rzepakowy stosowany jest w pracach naszej Katedry do otrzymywania takich podłoży mikrobiologicznych, używanych do hodowli grzybów strzępkowych. Uzyskiwany podczas tego procesu odpad – autoklawowany makuch rzepakowy wykorzystano w niniejszej pracy jako adsorbent zieleni malachitowej oraz jonów cynku, kadmu i ołowiu.

2. MATERIAŁ I METODY

W pracy stosowano zieleń malachitową (ang. *Basic Green 4* – BG4). Barwnik (techniczny stopień czystości) uzyskano z zakładu Boruta – Zachem Kolor Sp. z o.o. w Zgierzu. Dane dotyczące BG4 zamieszczono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka zieleni malachitowej

Table 1. Malachite green characterization

Skrót	Nazwa komercyjna	Nazwa C.I.*	Grupa chemiczna	Klasa (chromoforowa)	λ_{max} , nm
BG4	Zieleń malachitowa	Basic green 4	Zasadowa	Trójfenylometa-nowa	615

Objaśnienia: * C.I. – rejestr wszystkich aktualnie wytwarzanych barwników (ang. *Colour Index*).

2.1. Przygotowanie biosorbentu

Granulat makucha rzepakowego pochodził z firmy Bio-Tech Ltd Sp. z o.o. w Gorzynie. Charakterystykę składu chemicznego surowego makucha rzepakowego przedstawiono w tabeli 2.

W celu przygotowania podłoża mikrobiologicznego wodną zawiesinę makucha poddawano sterylizacji w autoklawie (117°C, 20 minut), a następnie sączono na bibule filtracyjnej. Uzyskany wyciąg z makucha rzepakowego stosowano w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii UŁ jako podłoże wzrostowe do produkcji biomasy wybranych, mikroskopowych grzybów strzępkowych. Powstający odpad określany mianem makuch autoklawowany przemywano trzykrotnie wodą dejonizowaną i suszono w temp. 70°C do stałej masy. Przed wykorzystaniem jako biosorbenta zieleni malachitowej oraz jonów kadmu, cynku i ołowiu makuch rozdrabiano do uzyskania cząstek o wielkości 200–650 μm .

Tabela 2. Skład chemiczny makucha rzepakowego (Bio-Tech Ltd sp. z o.o., Gorzryn, Polska)

Table 2. Chemical composition of rapeseed oil cake (Bio-Tech Ltd sp. z o.o., Gorzryn, Poland)

Składnik	Udział w suchej masie, %
Wilgotność	8,02
Tłuszcz całkowity	8,50
Włókno całkowite	9-10
Białko całkowite	35

2.2. Wyznaczanie punktu ładunku zerowego

Porcje biosorbenta o masie 250 mg inkubowano w 25 ml roztworów różniących się wyjściową wartością pH (od 3 do 10). Inkubację prób prowadzono w temp. 28°C na wytrząsarce obrotowej przy (120 obr/min). Po 24 godzinach inkubacji wyznaczono wartość pH zawiesiny.

2.3. Badanie czynników wpływających na wydajność procesu dekoloryzacji roztworów zieleni malachitowej przez autoklawowany makuch rzepakowy

W pracy oceniono wpływ pH, czasu kontaktu, wyjściowego stężenia barwnika oraz obecności jonów metali ciężkich na wydajność dekoloryzacji roztworów zieleni malachitowej przez autoklawowany makuch rzepakowy. Sposób przygotowania prób w poszczególnych wariantach badania opisano w punktach 2.3.1. – 2.3.4. Proces sorpcji prowadzono w 28°C, na wytrząsarce obrotowej (120 obr/min). Po odpowiednim czasie, określonym warunkami doświadczenia, próby wirowano (3000 x g, 30 min) i mierzono absorbancję supernatantu przy długości fali 615 nm, używając spektrofotometru Specord 200 (Analytik, Jena). Dekoloryzację (D) wodnych roztworów barwnika obliczano z następującej zależności:

$$D, \% = [(A_0 - A_t)/A_0] * 100\%$$

gdzie: A_t – absorbancja próby po inkubacji, A_0 – absorbancja próby przed inkubacją.

2.3.1. Wpływ pH

Porcje biosorbenta o masie 250 mg zawieszono w roztworach zieleni malachitowej (10 mg/l) o objętości 25 ml i pH 4; 5; 6; 7 oraz 8. Inkubację prób prowadzono przez 2 godziny. Dekoloryzację roztworu barwnika wyznaczano zgodnie z pkt. 2.3.

2.3.2. Wpływ czasu kontaktu

Porcje biosorbenta o masie 250 mg zawieszono w roztworach zieleni malachitowej (10 mg/l) o objętości 25 ml i pH 6,5. Czas trwania inkubacji dla poszczególnych prób wynosił od 5 do 180 minut. Dekoloryzację roztworu barwnika wyznaczano zgodnie z pkt. 2.3.

2.3.3. Wpływ stężenia barwnika

Porcje biosorbenta o masie 250 mg zawieszono w roztworach zieleni malachitowej o objętości 25 ml, różniących się wyjściowym stężeniem barwnika (od 10 do 500 mg/l). Wyj-

ściowy odczyn roztworów wynosił 6,5. Inkubacje prowadzono 1 godzinę. Dekoloryzację roztworu barwnika wyznaczano zgodnie z pkt 2.3.

2.3.4. Wpływ obecności jonów metali ciężkich

Porcje biosorbenta o masie 250 mg zawieszano w roztworach o objętości 25 ml zawierających zieleń malachitową w stężeniu 10 mg/l oraz jony wybranego metalu ciężkiego w stężeniu 100 mg/l. Po 2 godzinach inkubacji próby wirowano, mierzono absorbancje uzyskanych supernatantów i oceniano efektywność dekoloryzacji zgodnie z pkt 2.3.

2.4. Badanie usuwania jonów kadmu cynku i ołowiu z roztworów zieleni malachitowej przez autoklawowany makuch rzepakowy

Próby przygotowano zgodnie z pkt 2.3.4. Po zakończeniu procesu sorpcji barwnika dodatkowo oznaczono zawartość jonów metalu w supernatancie. W tym celu 2 ml supernatantu poddawano mineralizacji z użyciem mieszaniny kwas azotowy: kwas nadchlorowy (4:1) [Kubiak i in. 2009]. Zawartość metalu w próbce określano za pomocą spektrometru adsorpcji atomowej Spektrometru 300 (Varian) w Laboratorium Technik Komputerowych i Analitycznych Wydziału BiOŚ UŁ.

3. WYNIKI I DYKUSJA

Charakterystyka adsorbentów zazwyczaj obejmuje wyznaczanie punktu ładunku zerowego (ang. *point of zero charge* — PZC). Jednym ze sposobów wyznaczania PZC jest ustalenie zmian pH roztworu po wprowadzeniu do niego silnie rozdrobnionego sorbenta. Gdy początkowa wartość pH zawiesiny badanego materiału jest równa pH zawiesiny po 24 godzinach inkubacji ($\Delta\text{pH} = \text{pH końcowe} - \text{pH początkowe} = 0$), wartość ta określana jest jako PZC. W punkcie PZC powierzchnia ciała stałego nie ma wypadkowego ładunku elektrycznego [Sposito 1998].

Znajomość PZC pozwala wstępnie ocenić rodzaj grup funkcyjnych i ich potencjalne interakcje z jonami barwnika w roztworze. Adsorbenty mające punkt ładunku zerowego przy niskich wartościach pH, efektywniej wiążą barwniki kwasowe, dzięki większej liczbie dodatnio naładowanych grup funkcyjnych na swojej powierzchni.

Na podstawie uzyskanych wyników (tab. 3) stwierdzono, że obecność makucha rzepakowego w roztworach wodnych o pH od 3 do 10 powoduje po 24 godzinach inkubacji stabilizację odczynu w granicach 6–7. Dla wodnej zawiesiny makucha rzepakowego wartość punktu ładunku zerowego powierzchni ustalono w pH 6,5. W badaniach prowadzonych przez Palma i in. [2010] punkt ładunku zerowego dla skórek od bananów ustalił się przy pH 2,5. Z kolei Ahmad i Kumar [2010] wyznaczyli wartość PZC=6 dla skórek imbiru. Uzyskane wyniki wskazały, że autoklawowany makuch rzepakowy charakteryzuje zbliżona zawartość ujemnie i dodatnio naładowanych grup funkcyjnych.

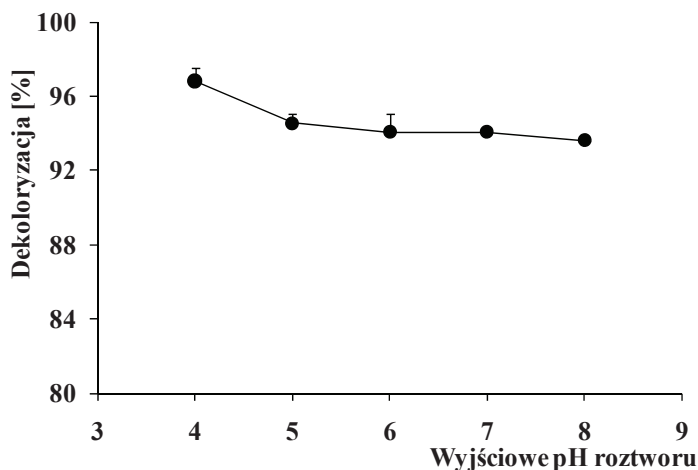
Tabela 3. Wpływ początkowej wartości pH wodnej zawiesiny autoklawowanego makuchu rzepakowego (10 g/l) na wartość pH tej zawiesiny po 24 godz. inkubacji

Table 3. Effect of the initial pH value of aqueous suspension of autoclaved rapeseed cake (10 g/l) on the pH of the suspension after a 24 h of incubation

pH początkowe	pH końcowe	Δ pH
3	6	3
4	6,3	2,3
5	6,05	1,05
6	6,2	0,2
7	6,85	- 0,15
8	6,05	- 1,95
9	6,35	- 2,65
10	7,2	- 2,8

W kolejnym etapie wyznaczono odczyn pH roztworu zieleni malachitowej sprzyjający dekoloryzacji tego barwnika przy udziale autoklawowanego makucha rzepakowego. Na podstawie wyników przedstawionych na rysunku 1 stwierdzono, że wraz ze wzrostem pH roztworów barwnika od 4 do 8 wydajność dekoloryzacji maleje z 96% do 94.

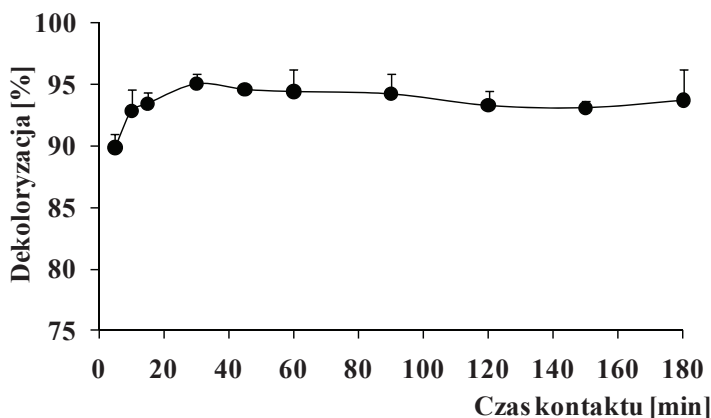
Franca i wsp. [2010], którzy badali adsorpcję zieleni malachitowej na ziarnach kawy, również nie wykazali istotnych różnic w efektywności wiązania barwnika z roztworów o początkowym pH od 5 do 9. Ze względu na wyznaczoną wcześniej wartość PZC w dalszych etapach badań stosowano roztwory zieleni malachitowej o pH 6,5.



Rys. 1. Wpływ wyjściowej wartości pH wodnej zawiesiny biosorbenta (10 g/l) na wydajność dekoloryzacji roztworów BG4 (10 mg/l) po 2 godz. inkubacji

Fig. 1. Effect of the initial pH value of aqueous suspension biosorbent (10 g/l) on the decolorization of BG4 solution (10 mg/l) after 2 h of incubation

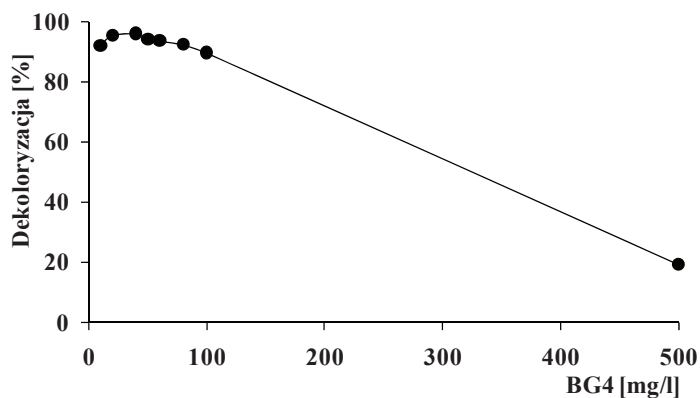
W celu określenia wpływu czasu kontaktu biosorbenta z zielenią malachitową na wydajność dekoloryzacji roztworów barwnika próby o zawartości biosorbenta 10 g/l i stężeniu barwnika 10 mg/l inkubowano od 5 do 180 minut. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunku 2. Stwierdzono, że stan równowagi polegający na wysyceniu maku-cha zielenią malachitową został osiągnięty po 30 minutach kontaktu sorbenta z barwnikiem. Poziom dekoloryzacji mieścił się w granicach 94–95%. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że 60-minutowa inkubacja zapewnia wystarczający czas kontaktu z barwnikiem. Mittal [2006] wykazał, że najwyższa eliminacja zieleni malachitowej z roztworów o wyjściowym stężeniu 0,04 mM przez kurze pióra wymaga 90-minutowego czasu kontaktu.



Rys. 2. Wpływ czasu kontaktu BG4 (10 mg/l) z biosorbentem (10 g/l) na wydajność dekoloryzacji
Fig. 2. Effect of contact time of BG4 (10 mg/l) with biosorbent (10 g/l) on decolorization efficiency

Wydajność dekoloryzacji istotnie zależy od wyjściowego stężenia barwnika. Dlatego też w kolejnym etapie badań biosorbent w ilości 10 g/l zawieszono w roztworach zieleni malachitowej o pH 6,5 i stężeniu wyjściowym od 10 do 1000 mg/l. Inkubację prób prowadzono przez 1 godzinę.

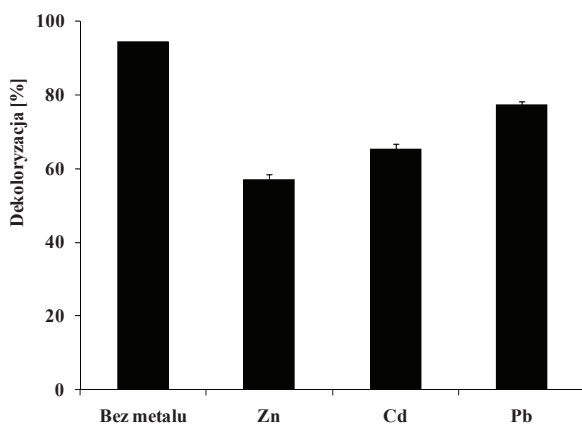
Najwyższą wydajność dekoloryzacji (96%) uzyskano w roztworze o wyjściowym stężeniu barwnika 40 mg/l (rys. 3). Wysoki poziom dekoloryzacji (powyżej 90%) wyznaczono dla maku-cha zawieszono w roztworach zawierających zielen malachitową w stężeniu wyjściowym do 100 mg/l. W próbach o wyższej zawartości barwnika wydajność dekoloryzacji stopniowo malała. Chowdhury i in. [2011] wykazali, że efektywność eliminacji zieleni malachitowej na łuskach ryżu (1 g/l) po 2 godzinach inkubacji spada o ok. 10% przy wzroście stężenia barwnika z 10 na 100 mg/l. Zależność tą tłumaczona jest ograniczoną liczbą miejsc aktywnych na powierzchni adsorbenta.



Rys. 3. Wpływ wyjściowego stężenia BG4 (od 10 do 1000 mg/l) na wydajność dekoloryzacji przez autoklawowany makuch rzepakowy (10 g/l) po 1 godz. inkubacji

Fig. 3. Effect of the initial concentration of BG4 (10 to 1000 mg/l) on the decolorization by autoclaved rapeseed oil cake (10 g/l) after 1 h of incubation

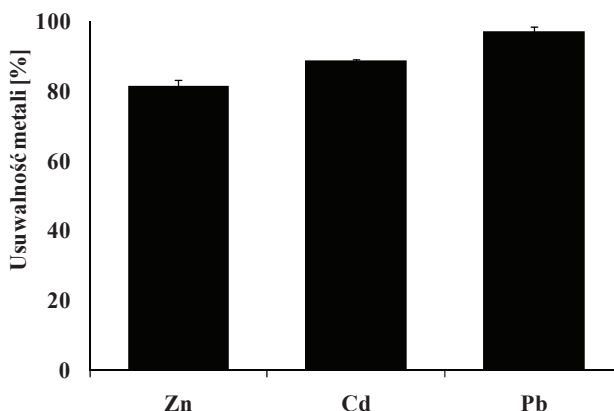
Bardzo często w ściekach przemysłowych barwnikom towarzyszą jony metali ciężkich, takich jak: miedź, nikiel, ołów, chrom, cynk czy kadm. Dlatego w kolejnym etapie badań określono wpływ jonów metali ciężkich (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}) na wydajność wiązania zieleni malachitowej przez autoklawowany makuch rzepakowy (rys. 4). Stwierdzono, że obecność jonów metali ma niekorzystny wpływ na dekoloryzację roztworów barwnika. Dekoloryzacja zieleni malachitowej w nieobecności BG4 wynosiła 94%. Dodatek jonów cynku, kadmu i ołowiu obniżył dekoloryzację barwnika do poziomu odpowiednio 57; 65 oraz 77%.



Rys. 4. Wpływ jonów metali ciężkich (100 mg/l) na dekoloryzację roztworów BG4 (50 mg/l) przez autoklawowany makuch rzepakowy po 2 godz. inkubacji

Fig. 4. Effect of the heavy metal ions (100 mg/l) on decolorization of BG4 solution (50 mg/l) by autoclaved rapeseed cake after 2 h of incubation

Zbadano także usuwalność jonów Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} z roztworów zieleni malachitowej przy użyciu makucha (rys. 5). Wyniki badań pozwoliły uszeregować te metale pod względem efektywności usuwania: $Pb^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}$. Najlepiej wiązonym metalem były jony ołowiu. Dla makucha wartość ta wynosiła 97%. Ricordel i wsp. [2001] uzyskali zbliżone wyniki w swojej pracy dotyczącej łupin orzeszków ziemnych, będących adsorbentem metali ciężkich. W pracy tej wykazano wyższe powinowactwo adsorbenta do jonów ołowiu niż do jonów innych metali ciężkich. Zdecydowanie silniejsza sorpcja ołowiu, może być tłumaczona wysoką stabilnością jonów Pb^{2+} wiążących się z ligandami na powierzchni bioadsorbenta [Zoboulis i in. 1999]. Większe powinowactwo sorbenta do ołowiu może być także spowodowane większymi rozmiarami jonów Pb^{2+} w porównaniu z jonami Zn^{2+} i Cd^{2+} [Angyal 1989]. Uzyskane wyniki wskazują, że ołów wiąże się z innymi grupami funkcyjnymi na powierzchni makucha niż zieleń malachitowa.



Rys. 5. Eliminacja jonów metali ciężkich (100 mg/l) z roztworów BG4 (50 mg/l) po 2 godz. inkubacji
Fig. 5. Heavy metal (100 mg/l) elimination from BG4 solutions (50 mg/l) after 2 h of incubation

4. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

W pracy wykazano, że autoklawowany makuch rzepakowy charakteryzuje wysoka wydajność wiązania zieleni malachitowej oraz jonów metali ciężkich, (głównie ołowiu). Tym samym badany odpad może stanowić tanią alternatywę dla węgla aktywnego stosowanego w oczyszczaniu barwnych ścieków przemysłowych.

PIŚMIENNICTWO

- AHMAD R., KUMAR R. 2010. Adsorption studies of hazardous malachite green onto treated ginger waste. *Journal of Environmental Management* 91:1032–1038.
- ANGYAL S.J. 1989. Complexes of metal cations with carbohydrates in solution. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* 47: 1–43.
- BHATNAGAR A., SILLANPAA M. 2010. Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment - A review. *Chemical Engineering Journal* 157: 277–296.
- CHOWDHURY S., MISHRA R., SAHA P., KUSHWAHA P. 2011. Adsorption thermodynamics, kinetics and isosteric heat of adsorption of malachite green onto chemically modified rice husk. *Desalination* 265: 159–168.
- FRANCA A.S., OLIVEIRA L.S., NUNES A.A. 2010. Malachite Green Adsorption by a Residue-based Microwave-activated Adsorbent. *CLEAN – Soil, Air, Water* 38: 843–849
- GUPTA V.K., SUHAS. 2009. Application of low-cost adsorbents for dye removal - A review. *Journal of Environmental Management* 90: 2313–2342.
- JOTHI G., BABU R.S., RAMAKRISHNA S., RAJENDRAN G. 2004. Management of root lesion nematode, *Pratylenchus dellatrei* in crossandra using oil cake. *Bioresource Technology* 93: 257–259.
- KUBIAK A., PARASZKIEWICZ K., DŁUGOŃSKI J. 2009. The ability of filamentous fungus isolated from polluted soil to heavy metals uptake and xenobiotics degradation. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 40: 321–330.
- LAXMINARAYANA E., THIRUMALA CHARY M., RANDHEER KUMAR M., SINGARA CHARYA A. 2010. Decolourisation and biodegradation of sulphonated azo dyes by fungi to clean dye contaminated soil environments. *Journal of Natural and Environmental Science* 1: 35–42.
- OMAR J.M.A. 2002. Effects of feeding different levels of sesame oil on performance and digestibility of *Awassi lambs*. *Small Ruminant Res.* 46: 187–190.
- PALMA C., CONTRERAS E., URRRA J., MARTINEZ M.J. 2010. Eco-friendly technologies based on banana peel use for the decolourization of the dyeing process wastewater. *Waste Biomass Valorization Journal* 2: 77–86.
- RAMACHANDRAN S., SINGH S.K., LARROCHE C., SOCCOL C.R., PANDEY A. 2007. Oil cakes and their biotechnological applications-a review. *Bioresource Technology* 98: 2000–2009.
- RICORDEL S., TAHA S., CISSE I., DORANGE G. 2001. Heavy metals removal by adsorption onto peanut husks carbon: characterization, kinetic study and modeling. *Separation and Purification Technology* 24: 389–401.
- SOLECKA M., LEDAKOWICZ S. 2005. Biologiczne procesy oczyszczania barwnych ścieków włókienniczych. *Biotechnologia* 2:103–124.

- SPOSITO G. 1998. On Points of zero charge. *Environmental Science and Technology* 32: 2815–2819.
- SRIVASTAVA S., SINHA R., ROY D. 2003. Toxicological effects of malachite green. *Aquatic Toxicology* 66: 319–329.
- VAITHANOMSAT P., APIWATANAPIWAT W., PETCHOY O., CHEDCHANT J. 2010. Decolorization of reactive dye by white-rot fungus *Datronia* sp. KAPI0039. *Kasetsart Journal of Natural Science* 44: 879–890.
- ZOUBOULIS A., ROUSOU E.G., MATIS K. A. 1999. Removal of toxic metals from aqueous mixtures. Part 1: Biosorption. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 74: 429–436.