

Remediación de Iones Cr(VI) en Soluciones Acuosas por *Aspergillus niger* BM-56

Gladys Duca^{1*}, Carlos Nuñez¹, Antonio Navarro², Cristina Rubio²

¹Departamento Biomédico (Orientación Bioquímica) de la Facultad de Medicina, Avda. Roca 1800. ²Instituto de Biotecnología de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán. Ayacucho 465. C.P.4000 Argentina. *Autor correspondiente: gladuc1@hotmail.com

RESUMEN

La capacidad de *Aspergillus niger* BM-56 para remediar soluciones de Cr (VI) fue investigado usando diferentes concentraciones del metal (0.1; 0.5 y 1.0 mg/l) y distintos pH (2.5; 4.5; 5.5 y 7.0). En las concentraciones de Cr (VI) examinadas se obtuvo una eficiencia de remoción del 100%. La variación del pH del medio no afectó el desarrollo del hongo ni la biorremediación del metal. A pH 5.5 (± 0.2) se obtuvo la máxima remoción de Cr (VI) mientras que a pH 2.5 (± 0.2) y 4.5 (± 0.2) disminuyó un 2 a 4 % respecto al máximo. Se propone que *Aspergillus niger* BM-56 detoxifica soluciones acuosas que contienen Cr (VI) mediante un proceso de reducción de este metal a Cr (III). En este proceso de transformación se obtiene una masa celular menos tóxica, la cual puede ser utilizada, en procesos fermentativos para la producción de un metabolito de importancia industrial.

Palabras claves: *Aspergillus niger*, biorremediación, Cr (VI), detoxificación, metales pesados

ABSTRACT

The ability of *Aspergillus niger* BM-56 to remediate Cr (VI) solutions was investigated at different metal concentrations (0.1; 0.5 and 1.0 mg/l) and pH (2.5; 4.5; 5.5 and 7.0). The results showed that at the Cr (VI) concentrations assayed a removal efficiency of 100% was obtained. The variation in pH in the medium did not affect the development of the fungus or the bioremediation of the metal. At pH 5.5(± 0.2) maximum Cr (VI) removal was obtained while at pH 2.5(± 0.2) and 4.5(± 0.2) it decreased by 2 and 4% with respect to the maximum. We suggested that *A. niger* BM-56 produces the detoxification of aqueous solutions containing Cr (VI) by a process of reduction of this metal to Cr (III). In this process of transformation a less toxic cell mass was obtained and can be used in fermentation processes for the production of a metabolite of industrial importance.

Key words: *Aspergillus niger*, bioremediation, Cr (VI), detoxification, heavy metals.

INTRODUCCIÓN

Las actividades industriales ocasionan problemas ambientales en el mundo, debido al vertido de efluentes o residuos, que contienen metales pesados, por ejemplo Cu, Zn, Ni, Cr y Pb (Sudhakar *et al.*, 1991; Armienta & Rodríguez, 1995; Shallari *et al.*, 1998). Estos metales ingresan al medio ambiente afectando la fertilidad de los suelos o contaminando las aguas subterráneas y superficiales, dificultando su utilización para el consumo humano o animal (Rivas *et al.*, 2004; Ahmad *et al.*, 2006). De éstos metales, el cromo es uno de los más importantes por su alta toxicidad y se encuentra en la naturaleza en formas bi, tri y hexavalente. Este último, produce desnaturalización de proteínas, precipita los ácidos nucleicos, es un poderoso oxidante de sustancias orgánicas y atraviesa fácilmente las membranas biológicas, por lo cual es peligroso para todo organismo vivo (Cervantes *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2005).

La preocupación por la contaminación ambiental produjo el desarrollo de tecnologías sustentables y de normativas estrictas para lograr disminuir las descargas de sustancias contaminantes. Las industrias reducen el contenido de metales pesados, de los efluentes o residuos, por tratamientos físicos y químicos como precipitación, intercambio iónico, ósmosis inversa y adsorción. Estos métodos son efectivos pero tienen la desventaja de ser costosos,

debido al gasto de energía y al consumo de productos químicos (Reyes *et al.*, 2006).

Una alternativa son los procesos biotecnológicos que utilizan métodos biológicos, para la remediación de estos metales. Los principales mecanismos por los cuales se lleva a cabo esta biorremediación incluyen, adsorción (interacción o unión con la superficie celular), acumulación (presencia de sistemas de transporte e incorporación), solubilización (asociada comúnmente con la oxidación de sulfuros o ión ferroso), y transformación química (reducción).

Muchos son los trabajos de investigación reportados sobre la remoción de Cr (VI) mediante adsorción a paredes celulares de microorganismos, residuos orgánicos y vegetales. Esta adsorción se debe a la unión de grupos funcionales expuestos hacia el exterior celular que contienen las paredes celulares como, carboxilos; aminos, hidroxilos, fosfatos y sulfidrilos (Gadd, 1993; Vullo, 2003). O por técnicas de mutación (UV y bromuro de etidio al 1%) en bacterias, a fin de aumentar la eficiencia de adsorción del Cr (VI) (Gharieb & Gadd, 1998; Czakó *et al.*, 1999; Kleiman & Cogliatti, 1998; Gadd, 2000; Cervantes *et al.*, 2001; Sag & Aktay, 2002; Tewari *et al.*, 2005; Srivastava & Thakur, 2006; Acevedo, 2006; Acosta *et al.*, 2008).

En general, las bacterias son muy estudiadas, debido a que presentan mecanismos de detoxificación, mediante enzimas reductasas, ubicadas en la membrana o en la fracción soluble del

citoplasma, las cuales reducen el Cr (VI) tóxico, a Cr (III) menos tóxico (El-Bestawy *et al.*, 1998.; Mabbett *et al.*, 2004; Otiniano *et al.*, 2005). En el caso de hongos, el Cr(VI) puede incorporarse a la célula por un transportador aniónico no específico, un sistema de permeasas que transporta aniones como sulfato y fosfato (Gutierrez-Corona & Cervantes, 2008). En microorganismos existe evidencia de la presencia de una superfamilia de transportadores CHR, implicadas en el transporte de estos iones (Nies *et al.* 1998). De acuerdo a Cervantes & Campos-García (2007) en el genoma de algunos hongos filamentosos existen genes codificantes de proteínas CHR, cuya función no ha sido analizada experimentalmente.

Es escasa la bibliografía que reporta un mecanismo de reducción en levaduras (Ramírez *et al.*, 2000; Ramírez *et al.*, 2004) y especialmente en hongos filamentosos (Acevedo, 2006). Estos últimos son mayormente usados en procesos biotecnológicos porque tienen bajos requerimientos nutricionales, y técnicas simples y económicas de separación de la biomasa fúngica de la solución remediada, posibilitando una disminución del costo del proceso total.

El Objetivo de este trabajo fue estudiar la remoción de Cr (VI) en solución acuosa utilizando una cepa de *Aspergillus niger* BM-56 y determinar el mecanismo por el cual se produce esta detoxificación.

MATERIALES Y METODOS

Microorganismo, preparación del inóculo y condiciones de cultivo

Se utilizó una cepa de *A. niger* BM-56, del cepario del Instituto de Biotecnología. La misma se activó mensualmente por resiembras sucesivas en medio Czapeck y se mantuvo a 4°C. El inóculo se preparó adicionando conidios de *A. niger* BM-56 a 50 ml de solución fisiológica que contiene Tween 80 (0.1ml), hasta alcanzar una densidad óptica de 0.250 a 560 nm, equivalente a 2×10^6 conidios/ml.

En todos los ensayos se utilizó un medio de cultivo que contiene, en g/l: 3 de NaNO₃; 1 de K₂HPO₄; 0.5 de MgSO₄.7H₂O; 0.5 de KCl y 10 de glucosa. Los experimentos se realizaron en un agitador rotatorio a 28°C y 250 rpm durante 96 h.

Efecto de diferentes concentraciones de Cr (VI) sobre el desarrollo de A. niger BM-56 y en la remoción del metal

Las soluciones de Cr (VI) se prepararon a partir de K₂Cr₂O₇ en agua bidestilada para obtener concentraciones de 0.1; 0.5 y 1.0 mg/l. Los ensayos se realizaron en matraces Erlenmeyer de 250-ml con 50 ml de medio de cultivo (pH 5.5) con las diferentes concentraciones de Cr (VI) mencionadas. Los matraces fueron inoculados con 5 ml de la suspensión de conidios de *A. niger* BM-56.

Paralelamente se llevaron a cabo experimentos control: 1- Se incubó el medio de cultivo que contiene la suspensión de conidios del hongo, en ausencia de la

solución de Cr (VI) y 2- Los medios de cultivo con las diferentes concentraciones del metal, se incubaron sin el agregado del microorganismo.

Influencia de pH

Se estudió el efecto de la variación del pH (2.5; 4.5; 5.5 y 7.0) sobre el desarrollo de *A. niger* BM-56 y la remoción de Cr (VI). Los ensayos se realizaron en matraces Erlenmeyer con 50 ml de medio de cultivo adicionado de 1 mg/l de Cr (VI). Estos se llevaron a diferentes pH, con una solución de H₂SO₄ o NaOH al 20%, posteriormente se inocularon con 5 ml de la suspensión de conidios del hongo. Paralelamente se realizaron dos controles: 1-El medio de cultivo se llevó a los distintos pH y se incubó con un volumen de inoculó al 10 %(v/v) en ausencia de iones Cr (VI) y 2- El medio a diferentes pH se incubó con 1 mg/l de Cr (VI), en ausencia del microorganismo.

Mecanismo de detoxificación de cromo VI por A. niger BM-56

El micelio de un cultivo con 1 mg/l de Cr (VI) se recuperó por filtración con papel de filtro Whatman N°1, el medio de cultivo filtrado se mantuvo a 4°C hasta la determinación de cromo residual. El micelio se lavó con agua desionizada, el agua de lavado se guardó para medir Cr (VI) adsorbido a la pared celular.

Al micelio lavado se agregaron 5 ml de agua desionizada, se molió en un mortero hasta obtener una mezcla homogénea y se

filtró con membrana de acetato de celulosa (0.45 μm). El filtrado obtenido se usó para determinar Cr (VI) intracelular.

Determinaciones

La citotoxicidad se analizó determinando la concentración de biomasa fúngica (peso seco) y consumo de glucosa. La biomasa, se recuperó del medio fermentado por filtración, con papel de filtro (Whatman N° 1), se lavó varias veces con agua destilada y se secó a 105 °C hasta peso constante.

La glucosa se determinó por Somogyi (1952). La glucosa consumida se calculó por la ecuación 1: $Gl_0 - Gl_r = Gl_c$, donde Gl_0 ; Gl_r y Gl_c son glucosa inicial; residual y consumida, respectivamente. Los resultados se compararon con un control (cultivo del hongo en ausencia del metal).

Para determinar el cromo total, las muestras fueron previamente digeridas con ácido sulfúrico (98%) y luego oxidada con permanganato de potasio (0.25 N). El Cr (VI) se determinó por el método de Difenilcarbazida, que consiste en agregar a 5 ml de muestra, 0.5 ml de H₂SO₄ al 50% (v/v); 0.1 ml de ácido fosfórico al 85% y 1 ml de 5-difenilcarbazida en etanol absoluto. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 10 min y la absorbancia se midió a una longitud de onda de 540 nm (Greenberg, 1992).

Reproducibilidad

Todos los ensayos se realizaron 3 veces por duplicado y los valores reportados son el

promedio de 6 valores independientes. Los datos fueron analizados estadísticamente para obtener la desviación estándar con un MS-Excel. Los valores promedio fueron comparados, usando ANOVA, a $P < 0.05$ y en un F-test.

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto de diferentes concentraciones de Cr (VI) sobre el desarrollo de A. niger BM-56 y en la remoción del metal

La Figura 1 muestra que a las concentraciones de Cr (VI): 0.1; 0.5 y 1.0 mg/l se obtuvo un 2.5; 10 y 20 % más de crecimiento celular con respecto al control (ausencia del metal), considerado como el 100%. Este aumento obtenido concuerda con el observado por Villegas *et al.* (2008), y sugieren que el cromo en las concentraciones estudiadas es utilizado por las células y participa de alguna manera en la formación de la masa celular.

Los valores de glucosa consumida aumentan a medida que incrementa la concentración de Cr (VI) en el medio de cultivo, la cual fue calculada por la ecuación 1. Por el contrario, las cepas de los hongos *Zygomycetes*, *Mucor rouxii* y las levaduras *Cándida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Yarrowia lipolítica* fueron incapaces de

crecer en medio con 0.21 mg/l de Cr (VI) (Cervantes *et al.*, 2001). Mientras que las bacterias como *Thiobacillus* no metabolizan el cromo, demostrando que éste no participa en la formación de nueva biomasa (Otiniano *et al.*, 2005).

La remoción de Cr (VI) por *A. niger BM-56*, fue del 100 %, en todas las concentraciones ensayadas, mientras que en los experimentos control (ausencia del microorganismo) las concentraciones de Cr (VI) en el medio de cultivo no variaron del valor inicial. Estos resultados indican que la desaparición del Cr (VI), fue debido a la adsorción o asimilación del ión metálico por el hongo y no a la inmovilización o reducción por glucosa, único componente orgánico del medio de cultivo. De acuerdo a Elliot (1983), la presencia de compuestos orgánicos como el extracto de levadura, de malta, etc. pueden adsorber, acomplejar o precipitar al metal disminuyendo la biodisponibilidad o el efecto de toxicidad hacia la célula.

La concentración de Cr(VI) removido por *A. niger BM-56*, en este trabajo, fue 5 veces mayor que el encontrado para *Cryptococcus neoformans*, con el cual se reportó un valor de 0.2 mg/l de Cr (VI) como máxima concentración inicial utilizada (Acosta *et al.*, 2004).

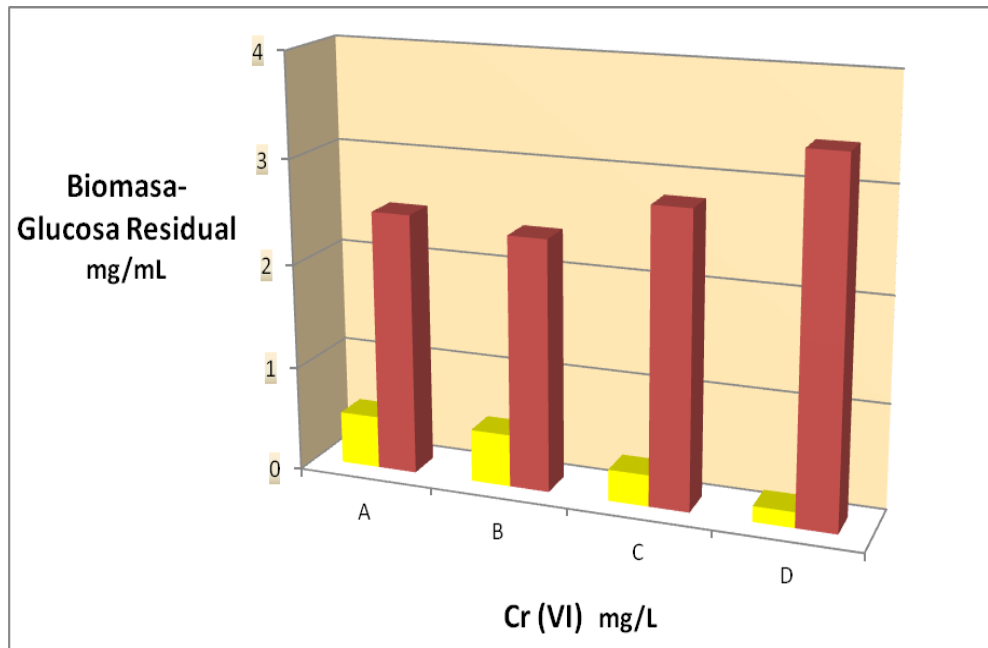


Fig. 1: Efecto del Cr (VI) sobre el desarrollo de *A. niger* (■) Ensayos: **A**, control sin Cr (VI); **B**, 0.1 mg/l Cr (VI); **C**, 0.5 mg/l Cr (VI) y **D**, 1 mg/l Cr (VI). Glucosa residual en el medio de producción (■). Los ensayos se realizaron a pH 5.5; a 28 °C y 250 rpm los valores fueron obtenidos a las 96 h de incubación

Influencia del pH

La mayor remoción de Cr (VI) por *A. niger* BM-56, en el medio que contiene 1 mg/l del ión, fue a pH 5.5, mientras que a pH 2.5 y 4.5, se obtuvo una desaparición del 98.99%(±1), respecto al máximo (pH 5.5), valor no significativo ($p > 0.05$). Paralelamente a estos experimentos, se realizó un segundo ensayo control (medio con 1mg/l de Cr (VI) a diferentes pH y en ausencia de biomasa fúngica), cuyos resultados mostraron que la concentración inicial del metal no varió hasta el final de la incubación. Nuestros resultados difieren de aquellos encontrados con *Thiobacillus ferrooxidans*, con el cual la máxima

desaparición del Cr (VI) fue a pH 2.0 (Quilntana *et al.*, 2001), esto sugiere que el proceso de detoxificación del metal por la bacteria estaría relacionado con el aumento de la energía de oxidación de los compuestos del Cr (VI) a pH bajos. Igualmente, con *Paecilomyces* sp. se obtuvo mayor remoción a pH 1.0, sugiriendo que la disminución del pH produjo un incremento de protones en la superficie del adsorbente (pared celular) atrayendo fuertemente a los iones Cr (VI) cargados negativamente, aumentando el proceso de detoxificación del metal (Acosta *et al.*, 2008). A pH 7.0, *A. niger* BM-56 no se desarrolló.

Artículos

Mecanismo de detoxificación de Cr (VI) por A. niger BM-56

De acuerdo a los resultados obtenidos surgen dos hipótesis:

1- El aumento de la biomasa se debe a la asimilación del cromo en forma de Cr III. Este es un oligoelemento indispensable para procesos bioquímicos y fisiológicos necesarios para la vida. Existen evidencias que el cromo tanto en el organismo humano como animal, posee una marcada influencia sobre el metabolismo de los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Fedorovych *et al.*, 2001; Southem & Payne, 2003; Téllez *et al.*, 2004; Otiniano *et al.*, 2005) y cumple un papel importante en diferentes reacciones enzimáticas. En experimentos realizados con plantas y microorganismos se observó que el Cr(III) aumenta el crecimiento celular (Azario *et al.*, 2010; Sobrero, 2010)

2- La remoción del metal Cr (VI) se debería a un proceso de detoxificación por reducción del metal.

Se reportó que algunas cepas de *Aspergillus* tienen la capacidad de atrapar el cromo en su biomasa (Sirivastava & Thakur, 2006). En base a esto se realizaron ensayos en los cuales se determinó la presencia de Cr (VI) en la superficie del micelio (pared celular), en el interior de la célula fúngica y en el medio de fermentación libre de células.

En la Figura 2 se muestra el porcentaje de Cr (VI), determinado en los cultivos con

1mg/l del metal. Se midió el Cr (VI) que se adsorbió tanto en la pared celular del hongo como en el interior de la célula.

En el medio de cultivo no se detectó Cr(VI) residual, por lo tanto, de la concentración inicial de 1 mg/l del metal, considerado como el 100%, se restó el valor obtenido del adsorbido en la pared (aguas de lavado) más el encontrado en el interior celular, con el cual se evidenció la desaparición de un 85 % del Cr(VI) total.

El bajo porcentaje de Cr (VI) determinado en las aguas de lavado de la pared celular y el encontrado en el interior celular, sugieren que la desaparición del metal del medio, no se debe a un mecanismo de bioadsorción o bioacumulación.

De acuerdo a estos resultados podemos considerar que *A. niger BM-56*, tenga la información genética para desarrollar mecanismos de resistencia que le permitan sobrevivir en sustratos o efluentes que contengan Cr (VI). De acuerdo a Cervantes & Campos-García (2007) en el genoma de algunos hongos filamentosos existen genes codificantes de proteínas CHR (transportadores de sulfato y cromo). Esto se evidenció por mutantes, de hongos filamentosos y levaduras, resistentes a cromatos que mostraron una marcada disminución en el transporte de sulfato. De acuerdo a Gadd (2000) podemos considerar a este hongo como un microorganismo resistente a este metal.

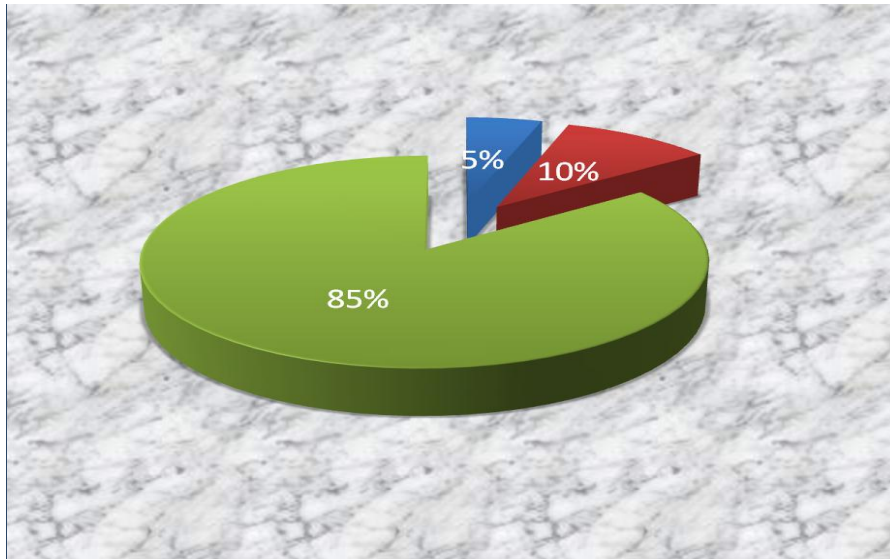


Fig. 2. Determinación de Cr (VI) en *A. niger*BM-56, expresado en %: pared celular (aguas de lavado) (■); interior celular (■). Potencial transformación de Cr (VI) a Cr (III) (■).

Se propone que el primer paso en el mecanismo de detoxificación del cromo por *A. niger* BM-56, sería la adsorción de Cr (VI) a nivel de pared celular; posteriormente éste sería transportado al interior celular produciéndose la transformación de Cr (VI) tóxico a Cr (III), menos tóxico. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Cervantes *et al* (2001) quien reportó que el Cr(VI) es transportado a través de la membrana tanto en algunos procariotas como eucariotas y una vez en el interior se reduce a Cr (III), probablemente pasando por estados inestables de Cr (V) y Cr (IV) (Gutiérrez Corona & Cervantes, 2008). Mientras que difieren de los obtenidos por Zayed *et al.* (1998) quien determinó que el Cr

(VI) se acumula en el interior celular, en las plantas.

CONCLUSIONES

*Aspergillus niger*BM-56 usado en este trabajo posee capacidad para remover Cr (VI), en las concentraciones ensayadas, sin que afecte su crecimiento. El hongo puede ser utilizado para la remoción de 1 mg/l de Cr (VI) en el rango de pH estudiados (2.5 a 5.5), lo cual lo hace adecuado para detoxificar efluentes ácidos. Se considera que el agua está contaminada cuando la concentración de Cromo total, que incluye Cr(VI), supera los 0,1 mg/l (EPA, 2010). Los resultados sugieren que el mecanismo de remoción de cromo por *A. niger* es la transformación por reducción del Cr (VI) a Cr (III).

Cabe destacar que el proceso biológico propuesto resulta económico y permite la remediación de una sustancia tóxica como el Cr (VI), en solución acuosa utilizando un hongo filamentoso como *A. niger* BM-56. A diferencia de otros procesos de remoción, es importante resaltar que debido a la transformación del cromo por *A. niger* BM-56 se obtiene una masa celular menos tóxica, la cual puede ser utilizada en otros procesos industriales.

REFERENCIAS

- Acevedo F (2006) Hexavalent chromium removal in vitro and from industrial wastes, using chromate-resistant strains of filamentous fungi indigenous to contaminated wastes. *Can. J. Microbiol.* 52: 809-815.
- Acosta I, Rodríguez X, Gutiérrez C & Moctezuma M (2004) Biosorption of Chromium (VI) from aqueous solutions onto fungal biomass. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2: 1-7.
- Acosta I, Cárdenas J, Alvarado D & Moctezuma M.(2008) Remoción de cromo (VI) en solución acuosa por biomasa de *Paecilomyces sp.* *Inf. Tecnol.* 19: 69-74.
- Ahmad I, Ansari M & Aqil F (2006) Biosorption of Ni, Cr and Cd by metal tolerant *Aspergillus niger* and *Penicillium sp* using single and multi –metal solutions. *Ind. J. Exptl. Biol.* 44:73-76.
- Armienta M & Rodríguez R (1995) Environmental exposure to chromium compounds in the valley of Leon, Mexico. *Env. Health Perspect.* 103: 47-51.
- Azario RR, Salvarezza SA, Ibarra A & García M (2010) Efecto del cromo hexavalente y trivalente sobre el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 35218. *Inf. Tecnol.* 21:51-56.
- Cervantes C, Campos-García J, Devars S, Gutiérrez-Corona F, Loza-Tavera H, Torres-Guzmán J, Moreno Sánchez R (2001) Interactions of Chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 333-347.
- Cervantes C & Campos-García J (2007) Reduction and efflux of chromate by bacteria. *Microbiol. Monogr.* DOI.10.1007/7171_2006_087/Published on line. 3 february. Springer-Verlag Berlin.
- Czakó K, Batié M, Raspor P, Sipiczki M & Pesti M (1999) Hexavalent chromium uptake by sensitive and tolerant mutants of *Schizosaccharomyces pombe*. *FEMS Microbiol. Lett.* 178: 109-115.
- El-Bestawy E, El-Kheir E, El-Fatah H& Hassouna S (1998) Enhancement of bacterial efficiency for metal removal using mutation techniques. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14: 853-856.
- Elliot, H. (1983) Adsorption behaviour of cadmium in response to soil surface charges. *Soil Science* 136: 317-320.
- Epa, 2010 www.epa.gov
- Fedorovych D, Kszeminska H, Babjak L, Kasaycki P & Koloczek D (2001)

Artículos

- Hexavalent chromium stimulation of
Biometals 14: 23-31
- Gadd G (1993) Interactions of fungus with toxic metals. *New Phytol.* 124: 25-60.
- Gadd G (2000) Bioremediation potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Curr. Op. Biotechnol.* 11:271-279.
- Gharieb M & Gadd M (1998) Evidence for the involvement of vacuolar activity in metal (loid) tolerance: vacuolar-lacking and defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae* display higher sensitivity to chromate, tellurite and selenite. *Biometals* 11: 101-106.
- Greenberg A, Clesceri L & Eaton A (1992) *In: Standard methods for the examination of water and wastewater.* American Public Health Association, Washington, D.C. 18^a ed. pp. 358-360.
- Gutiérrez Corona J & Cervantes C (2008) Interacciones microbianas con el cromo: mecanismos y potencial biotecnológico. *Ideas CONCYTEG* 37: 21-33.
- Kleiman I & Cogliatti D (1998) Chromium removal from aqueous solutions by different plant species. *Environ. Technol.* 19:1127-1132.
- Mabbett A, Ping Y, Peter J, Farr G & Macaskie L (2004) Reduction of Cr (VI) by palladized of *Desulfuivibrio desulfuricans* ATCC 29577. *Biotechnol. Bioeng.* 87: 104-109.
- Nies DH, Koch S, Wachi S, Peitzsch N & Saier MH (1998) CHR, a novel family of prokaryotic proton motive force-driven transporters probably containing riboflavin synthesis in flavinogenic yeast chromatic/sulfate anti-porters. *J. Bacteriol.* 180: 5799-5802.
- Otiniano M, Tuesta L, Robles H, Luján M & Chavez M (2005) Biorremediación de cromo VI de aguas residuales de curtiembres por *Pseudomonas sp.* y su efecto sobre el ciclo celular de *Allium cepa*. *Rev. Med. Vallej.* 4: 32- 42.
- Park D, Yun Y & Park J (2005) Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*. *Water res.* 39: 533-540.
- Quilntana M, Curutchet G & Donati E (2001). Factors affecting chromium (VI) reduction by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biochem. Eng. J.* 9: 11-15.
- Ramírez R, Calvo C, Ávila M & Gutiérrez J (2000). Chromate resistance and reduction in a yeast strain isolated from industrial waste discharges. *In: Environmental Engineering Application.* Raynal J, Nuckols J, Reyes R & Ward M (Eds). Water Resources publication, LCC, Englewood, USA, pp.437-445.
- Ramírez R, Calvo C, Ávila M, Lappe P, Ulloa M, Vázquez R & Gutiérrez J (2004). Chromium (VI) reduction in a Chromate-resistant strain of *Candida maltose* isolated from the leather industrial. *Ant. van Leeuw.* 85: 63-68.
- Reyes E, Cerino C & Suárez M (2006) Remoción de metales pesados con carbón activado como soporte de biomasa. *Ing.* 31: 59-64.

Artículos

- Rivas B, Gutiérrez S & Merino F (2004) Biorremediación de metales pesados en solución por *Pseudomonas fluorescens* MIA-4S aisladas de ambientes mineros. II- Asoc. Chotana Cien.-Perú. *Cien. Technol.* 24: 14-15.
- Sag Y & Aktay Y (2002) Kinetic studies on sorption of Cr (VI) and Cu (II) ions by chitin, chitosan and *Rhizopus arrhizus*. *Biochem. Eng. J.* 12: 143-153.
- Shallari S, Schwartz C, Hasko A & Morel J (1998) Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *Sci. Total Environ.* 209: 133-142.
- Srivastava S & Thakur L (2006) Isolation and process parameter optimization of *Aspergillus sp* for removal of Chromium from tannery effluent. *Biores. Technol.* 97: 1167-1173.
- Sobrero NA (2010) Estudio de la fitotoxicidad de metales pesados y del herbicida glifosato en ambientes acuáticos. Tesis. <http://sedici.unlp.edu.ar>
- Southem L & Payne R (2003) Role of chromium in swine nutrition explored. *Feed Stuffs* 75:1-3
- Sudhakar G, Jyothi B & Venkateswarlu V (1991) Metal pollution and its impact on algae in flowing waters in India. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21: 556-566.
- Téllez M. J., Carvajal R.M. y Gaitán A.M. (2004). Aspectos toxicológicos relacionados con la utilización del cromo en el proceso productivo de curtiembres. *Rev. Fac. Med. Univ. Nal. Colombia.* 52: 1-3
- Tewari N, Vasudevan P & Guha B (2005) Study on biosorption of Cr (VI) by *Mucor hiemalis*. *Biochem. Eng. J.*—23: 185-192.
- Villegas L, Fernández P, Amoroso J, de Figueroa L (2008) Chromate removal by yeast isolated from sediments of a tanning factory and a mine site in Argentina. *Biometals* 21: 591-600.
- Vullo D (2003) Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. On line www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar
- Zayed A, Lytle CM, Qian JH & Terry N (1998) Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. *Plant.* 206: 293-299