

Isotermas de adsorción de Pb y Cr por la biomasa de tres cepas del hongo de la pudrición blanca *Pleurotus* spp

Marco Marín-Castro, Víctor Tamaríz, Rosalía Castelán, Gladys Linares
Departamento de investigación en Ciencias Agrícolas
Instituto de Ciencias
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Puebla, Pue.; México
[marco.marin, victor.tamariz, rosalia.castelan, Gladys.linares] @correo.buap.mx

Abstract— the of heavy metals discharge in different ecosystems it has become a world concern in recent decades. These pollutants are mainly introduced in aquatic systems as resulting from industrial operations and they are finally deposited in farmland. The use of microorganisms as heavy metals biosorbents, in the aforementioned systems, offers a potential alternative to existing methods for detoxification and recovery of toxic or valuable metals present in these waters. In this work, we evaluate whether the mycelium of three strains of white rot fungus *Pleurotus* spp, can be used as adsorbent Lead and Chromium present in metal solutions laboratory.

Keyword— adsorption, heavy metal, white root fungi

Resumen— La descarga de metales pesados en los diferentes ecosistemas se ha convertido en un motivo de preocupación en el mundo en las últimas décadas. Estos contaminantes se introducen principalmente en los sistemas acuáticos de manera significativa como resultado de operaciones industriales y generalmente se depositan finalmente en campos agrícolas. La utilización de microorganismos como biosorbentes de los metales pesados, en los sistemas mencionados, ofrece una alternativa potencial a los métodos ya existentes para la detoxificación y recuperación de metales tóxicos o valiosos presentes en estas aguas. En este trabajo, se evalúa el potencial de adsorción de Pb y Cr, por el micelio de tres cepas del hongo de la pudrición blanca *Pleurotus* spp, en soluciones metálicas de laboratorio

Palabras claves— adsorción, metales pesados, hongos, pudrición blanca.

I. INTRODUCCIÓN

Los metales pesados constituyen un grupo de elementos de la Tabla Periódica que se caracterizan por tener densidades mayores o iguales a 5 g/cm^3 . No obstante no existe actualmente una definición avalada por organismos o instituciones especializadas como la IUAPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada) o la US EPA, (Agencia de Protección ambiental de los EUA), que definan completamente sus propiedades químicas o físicas para considerarlos metales pesados, [23] y como se menciona anteriormente, su densidad, número atómico y peso atómico son los criterios para definirlos, generalmente se refiere a los metales pesados cuando existe la connotación de toxicidad, aun cuando varios de ellos son importantes en el metabolismo celular como el Ca, K, Fe, Mg, Na, V, Mn, Co, Zn, Ni, Cu, y Mo, [24] [27] también está latente su carácter tóxico por la capacidad de desnaturalizar proteínas. En los diferentes ecosistemas, estos elementos presentan gran movilidad, sobresaliendo su efecto en los sistemas acuáticos, en los cuales su facilidad para formar iones ha logrado que sean catalogados como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente, sin importar que aparezcan en concentraciones casi indetectables, también presentan recalcitrancia y persistencia características que favorecen su biomagnificación, con lo cual, su concentración puede llegar a elevarse hasta alcanzar niveles tóxicos. [1] Estos elementos están clasificados como sustancias carcinógenas y mutágenas. [2] [3] Además, estos metales no pueden ser degradados a productos inocuos, por lo que permanecen en el ambiente indefinidamente. Ante esto, la búsqueda de nuevas tecnologías que permitan

la eliminación de metales tóxicos de las aguas residuales se ha enfocado a la utilización de microorganismos como biosorbentes lo cual ofrece una alternativa potencial a los métodos ya existentes para la destoxificación y recuperación de metales presentes en aguas residuales. Varias levaduras, hongos, algas, bacterias y cierta flora acuática tienen la capacidad de concentrar metales a partir de soluciones acuosas diluidas y de acumularlas dentro de la estructura vegetal o microbiana. [4] Por lo que un enfoque biológico cuenta con un gran potencial, ya que contribuye al objetivo de biorremediar y puede ser un proceso económico. [5]

A. Biosorción

La biosorción es un fenómeno físico-químico que se sustenta en la capacidad de los denominados materiales biológicos (biomasa) vivos o muertos, para acumular metales pesados principalmente de aguas residuales, involucrando al metabolismo microbiano, resaltando los procesos fisicoquímicos de adsorción, desorción o absorción de dichos elementos metálicos. [6] los organismos y microorganismos involucrados son las algas, bacterias, hongos y levaduras, que han demostrado ser potenciales biosorbentes de metales. [7] el proceso de biosorción presenta ventajas sobre los métodos de tratamiento convencionales ya que incluye: bajo costo; alta eficiencia; minimización de productos químicos; No se requiere nutrientes adicionales; existe la posibilidad de regeneración de los biosorbentes, y la de recuperación de los metales involucrados. La biosorción involucra una fase sólida que es el material biológico (biomasa) adsorbente o biosorbente; y una fase líquida o disolvente en la cual están disueltos los elementos metálicos generalmente en su forma iónica (sorbato). Generalmente existe alta afinidad del sorbente por las especies del sorbato, con lo cual este último es atraído y sujeto por diferentes mecanismos a la biomasa. El proceso continúa hasta que se establece el equilibrio entre la cantidad de especies de sorbato y la porción restante de la solución. [8] Finalmente La adsorción es un proceso de separación mediante el cual ciertos componentes de una fase fluida (líquida o gaseosa) son transferidos hacia un sustrato sólido, quedando física o químicamente enlazados en la superficie del adsorbente. [26] El adsorbente se caracteriza por su alta porosidad, con poros de tamaño extremadamente pequeño que dan lugar a que la superficie interna del adsorbente sea mucho mayor que la externa. Por lo tanto las diferencias en el peso molecular o polaridad hacen que unas moléculas sean retenidas más fuertemente que otras, lo que hace que el proceso de adsorción sea selectivo. [25]

B. Hongos de la pudrición blanca

Los hongos de la pudrición blanca han sido estudiados ampliamente por su capacidad de destoxificar efluentes con altas concentraciones de compuestos xenobióticos. Entre los hongos de pudrición blanca más estudiados se encuentran las especies de *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* y también algunas cepas de *Pleurotus* y *Phlebia*. La biodegradación por Basidiomycetes se considera un proceso no específico, oxidativo y que es llevado a cabo fundamentalmente por la acción de tres diferentes tipos de enzimas: Lignina peroxidasa (LiPs), Manganese Peroxidasas (Mn- Ps), y Lacasa, las primeras dependen de peróxido de hidrógeno, y la Lacasa, del oxígeno molecular y del cobre, [9].

Los trabajos en cuanto a remoción de metales pesados en aguas residuales se ha realizado, pero no en igual magnitud que con los compuestos xenobióticos o hidrocarburos. Estudios realizados por Iqbal [10], indican la eficacia de *Phanerochaete chrysosporium* inmovilizado, en la adsorción de plomo, Cobre y Zinc obteniendo porcentajes de remoción de hasta 85%. Yetis y Dilek, [11] con este mismo hongo removieron plomo en una concentración de 80mg/l. Gómez [12], con la biomasa viable de *P. chrysosporium* inmovilizado en espuma de poliuretano, removió 2630 mg/l de CrT del agua residual proveniente de curtiembres. Li *et al* [13], utilizando pellets de *P. chrysosporium* para la biosorción de Cd y Pb en mezcla en una fase acuosa demostraron la competencia entre los iones por los sitios de adsorción y porcentajes de remoción cercanos al 30%. Igualmente en un sistema de mezcla de dos metales. Kacar *et al* [14], compararon la capacidad de biosorción de biomasa viva y muerta de *P. chrysosporium* inmovilizada en alginato de sodio, en presencia de mercurio y cadmio bajo diferentes

condiciones de pH y temperatura reportando así remoción para Cd de 70 mg/l y 40 mg/l para células vivas inmovilizadas y muertas inmovilizadas respectivamente; para el caso del Hg fue de 75mg/l y 50 mg/l igualmente para células inmovilizadas.

II. OBJETIVOS

Evaluar y comparar la capacidad de tres cepas del hongo *Pleurotus*, para retener mediante procesos de biosorción, concentraciones de Plomo y Cromo presentes en soluciones metálicas de laboratorio

III. METODOLOGÍA

C. Origen de las cepas

En este trabajo se utilizaron tres cepas del hongo de la pudrición blanca *Pleurotus*. La cepa de *Pleurotus ostreatus* fue adquirida en la Universidad de Costa Rica (UCR), la cepa de *Pleurotus djamor* fue colectada en el municipio de Atlixco Puebla, México, y la tercera cepa fue proporcionada por productores de hongos comestibles del estado de Tlaxcala. Las tres cepas se localizan en el laboratorio de Micología, del departamento de Investigación en Ciencias agrícolas de la BUAP.

D. Cultivo y purificación del material biológico

Se cultivó el micelio de cada hongo, activándolo en medio de cultivo agar extracto de malta (MEA Difco™) y agar con papa y dextrosa (PDA Difco™), se practicaron pruebas de pureza miceliar, tiñendo el micelio con colorante azul de lactofenol y observando las características reportadas en la literatura, se realizaron cuatro resiembras para purificar cada cepa. [20]

F. denominación de las cepas en el experimento

Pleurotus ostreatus, se denominó cepa “G”, *Pleurotus djamor* se denominó cepa “R”, *Pleurotus* sp, o cepa comercia se denominó cepa “T”

G. Pruebas de tolerancia de Pb y Cr sobre medios de cultivo a base de agar

Para determinar la concentración mínima inhibitoria del desarrollo miceliar de las cepas experimentales frente a Plomo y Cadmio, se preparó medio de cultivo sólido PDA, adicionado con soluciones metálicas a partir de estándares de 1000 mg/l (1000 ppm) J.T. BAKER BAKER INSTRUMENTAL ANALYZED® Reagent, en concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/l. Concentraciones muy altas en relación a la Norma Oficial Mexicana NOM- 001- SEMARNAT-1996, que indica 0.5 mg/l para Pb y 1.0 mg/l para Cr como máximos permisibles. Cada una de las cajas fue inoculada en el centro con un disco de agar de 5 mm de diámetro con el micelio previamente purificado de cada cepa y se evaluó el crecimiento radial definiendo que la concentración mínima inhibitoria fue aquella en la cual no hubo crecimiento, como control se utilizó el medio PDA libre de soluciones metálicas. Las cajas se incubaron a 25⁰ C durante diez días de acuerdo a la metodología propuesta por Stamets. [21] las cepas respondieron en forma similar hasta la concentración de 50 ppm, que retrasó su crecimiento con respecto a las concentraciones menores pero no inhibió su desarrollo por lo que las tres cepas fueron seleccionadas para continuar con el proceso de biosorción en medio líquido.

H. Obtención de biomasa miceliar

A partir de los cultivos purificados, se tomaron discos de agar de 5 mm de diámetro de cada cepa y se inocularon en matraces Erlenmeyer de 250 ml de capacidad, conteniendo 100 ml de caldo micológico BD Bioxon® esterilizado y se incubó durante 10 días a 25⁰ C, al finalizar esta etapa la biomasa miceliar de cada cepa, fue separada del medio mediante decantación en condiciones de esterilidad y depositada por triplicado en matraces Erlenmeyer de 250 ml de capacidad, conteniendo 200 ml de caldo micológico preparado por separado con soluciones metálicas de Plomo y Cromo, con concentración de 100 mg/l (100 ppm) a pH 5.5. [21] [22] Los matraces se incubaron durante 12 días en estufa de incubación a la temperatura entre 25 – 27⁰ C.

I. Evaluación de las isotermas de adsorción

Para evaluar la concentración adsorbida de cada metal por el micelio de las cepas experimentales, se extrajeron alícuotas de 5 ml de cada matraz cada 48 horas durante diez días de incubación, cada alícuota fue analizada mediante espectrofotometría de absorción atómica. Puesto que en este estudio se utilizó biomasa viva, con fines de observar el comportamiento de ésta frente a la presencia de metales pesados, se decidió someter a cada una de las cepas a condiciones nutricionales similares a las encontradas en un agua residual proveniente de industrias metalúrgicas, para lo cual se utilizó medio caldo micológico, el cual tiene como fuente de carbono y nitrógeno Peptonas y glucosa y soluciones metálicas, ofreciendo así moléculas simples para el metabolismo fúngico, contrarias a las ofrecidas bajo condiciones ligninolíticas.

Algunos metales pesados son esenciales para el crecimiento y el metabolismo microbiano en bajas concentraciones,[15] por lo tanto, si se considera el uso de células vivas para un sistema de eliminación de metales, la toxicidad puede conducir a la intoxicación e inactivación de las mismas.[16] El uso de biomasa muerta o productos derivados de ella elimina el problema de la toxicidad, no solo de la provocada por metales disueltos, sino también por condiciones adversas de manejo, además de favorecer el aspecto económico de mantenimiento, incluyendo el suplemento de nutrientes. Sin embargo, las células vivas pueden presentar una variedad más amplia de mecanismos para la acumulación de metales como el transporte, la formación de complejos extracelulares y la precipitación. Siendo un plus que la tolerancia y resistencia a los metales pesados son propiedades que están presentes en los microorganismos de todos los grupos utilizados en estos procesos. [17], [18], [19] Por lo descrito anteriormente, el uso de los hongos de la pudrición blanca se puede convertir en una herramienta biológica en los procesos de remoción metálica, debido varias características principalmente la hipertolerancia y acumulación de metales pesados en su pared celular, el crecimiento vigoroso que permite que su micelio colonice diferentes sustratos es muy importante debido a que así se facilita su acceso a los compuestos que forman los contaminantes en suelo y agua.

IV. RESULTADOS

En cuanto a las pruebas de pureza de las cepas experimentales, en el caso de *P. ostreatus*, presentó un micelio algodonoso, blanco con formación de anillos concéntricos. Microscópicamente se observaron hifas hialinas septadas con esporas pequeñas aledañas a las hifas delgadas y fíbulas en el micelio. *Pleurotus djamor*, presento crecimiento radial no algodonoso con tintes rosados, micelio septado, hialino con fíbulas abundantes, *Pleurotus* sp, presento micelio algodonoso de color blanco sin presentar anillos concéntricos, se observaron fíbulas abundantes en las hifas.

Con respecto a la dosis inhibitoria para Plomo, las tres cepas presentaron crecimiento abundante a concentraciones de 50 ppm., y permanecieron viables después de 20 días de exposición en medio sólido. Para las isotermas de adsorción de Plomo los resultados se indican en la tabla 1, la cual registra la adsorción del metal en el micelio a partir de las 48 horas.

Tabla I. Isoterma de adsorción de Plomo por las tres cepas de *Pleurotus*

Muestreo Horas	Cepas experimentales		
	Micelio R	Micelio T	Micelio G
0	0 ppm	0 ppm	0 ppm
1.- 48	45.63	87.56	57.90
2.- 96	81.77	88.01	70.31
3.- 44	80.09	90.01	78.11
4.- 192	90.85	91.23	83.8
5.- 240	93.37	94.24	97.45

Se debe mencionar que el medio líquido con la solución metálica inicialmente contenía 100 ppm de plomo, esta concentración como se aprecia en la tabla 2, fue disminuyendo de la fase líquida, hasta contabilizar 93.37, 94.24 y 97.45 ppm, respectivamente en el micelio de cada cepa, la determinación de la concentración en el medio líquido se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica VARIAN 55 B. El pH inicial de 5.5 varió a 6.5 durante el ensayo.

En las figuras 1, 2 y 3 se aprecia que la adsorción de Plomo sobre el micelio de las cepas, presenta incremento con el tiempo de contacto y no se observan signos de desorción, porque las curvas no tienen puntos de inflexión, excepto en la figura 1, se observa entre el muestreo 2 y 3, un comportamiento como si se alcanzara un punto de equilibrio, pero el proceso de retención continua en aumento hasta el muestreo cinco. En la tabla 2, se presentan los porcentajes finales de Plomo adsorbido por cada cepa.

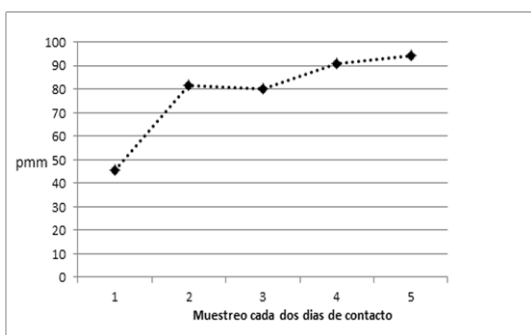


Figura 1. Isoterma de adsorción de Pb por la cepa R

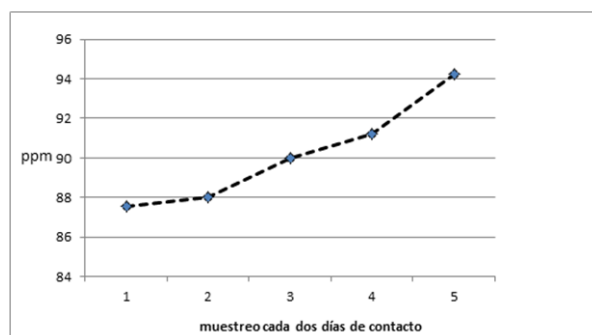


Figura 2. Isoterma de adsorción de Pb por la cepa T

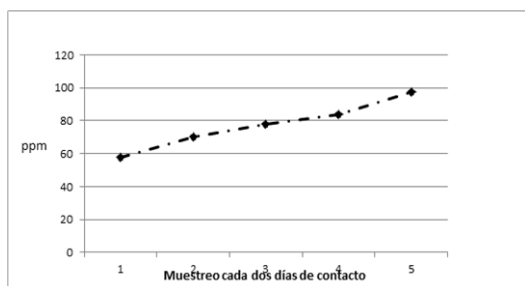


Figura 3. Isoterma de adsorción de Pb por la cepa G

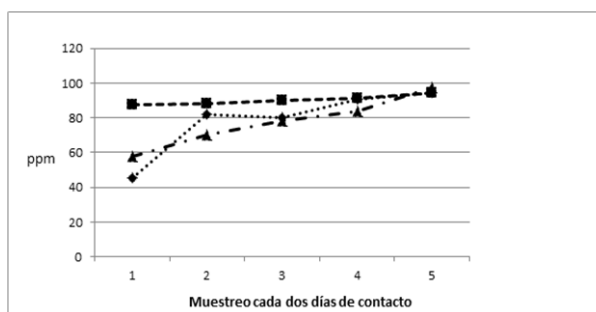


Figura 4. Isotermas de adsorción de Pb por las tres cepas

Tabla II. Porcentaje final de adsorción de Plomo por el micelio de las tres cepas

Muestreo	% de Adsorción Cepa R	% de Adsorción Cepa T	% de Adsorción Cepa G
5	93.3	94.24	97.45

Para las isotermas de adsorción con Cromo, los resultados se indican en la tabla 3, la cual registra la adsorción del metal en el micelio a partir de los muestreos cada 48 horas.

Tabla III. Isoterma de adsorción de Cromo por las tres cepas de Pleurotus

Muestreo Horas	Cepas experimentales		
	Micelio R	Micelio T	Micelio G
0	0 ppm	0 ppm	0 ppm
1.- 48	31.1	32.66	33.44
2.- 96	26.79	26.34	33.94
3.- 44	20.53	35.97	28.36
4.- 192	22.04	25.56	27.69
5.- 240	13.61	20.71	59.89

En la figura 5 se aprecia la retención de Cromo por la cepa R, hasta treinta por ciento durante las 48 horas iniciales, posteriormente se observa desorción continua de Cr, hasta estabilizarse en 13 por ciento. En la figura 6, se describe el comportamiento del metal sobre la cepa T, que es muy similar con el de la cepa R, en cuanto a la cepa G (Figura 7), el Cr describe una adsorción ascendente con el tiempo, a partir del cuarto muestreo. En la figura 8, se observa el comportamiento de las tres cepas,

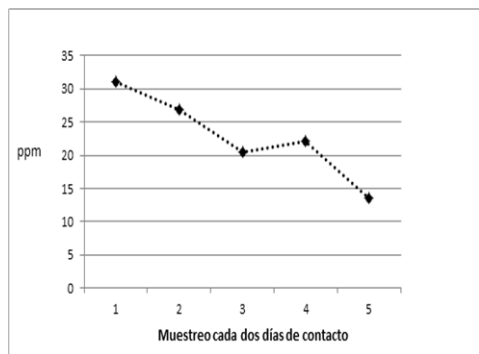


Figura 5. Isoterma de adsorción de Cr por la cepa R

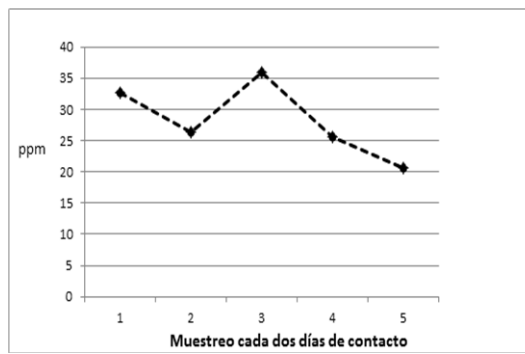


Figura 6. Isotermas de adsorción de Cr por la cepa T

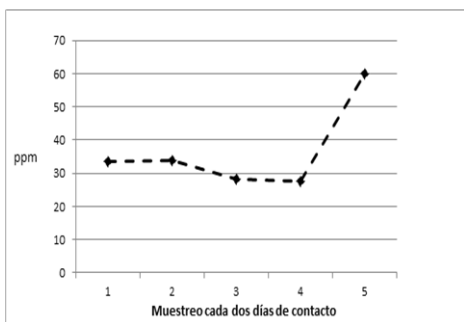


Figura 7. Isoterma de adsorción de Cr por la cepa G

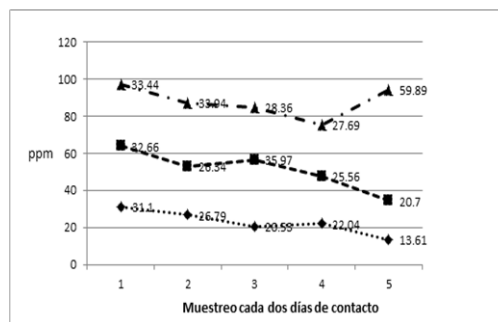


Figura 8. Isotermas de adsorción de Cr por las tres cepas

Tabla 4. Porcentaje final de adsorción de Cromo por el micelio de las tres cepas

Muestreo	% de Adsorción Cepa R	% de Adsorción Cepa T	% de Adsorción Cepa G
5	13.61	20.7	59.89

G. Análisis estadístico

Ante el análisis estadístico se planteó la comprobación de las siguientes hipótesis:

- a. Por lo menos una de las cepas experimentales presentará diferencia significativa ante el proceso de adsorción de Plomo
- b. Por lo menos una de las cepas experimentales presentara diferencia significativa ante el proceso de adsorción de Cromo
- c. Existiría diferencia significativa entre los dos procesos de adsorción

En el primer caso, con el Plomo, el análisis estadístico realizado a los datos de retención de plomo por el micelio de las tres cepas experimentales indica que el comportamiento fue similar en las tres isotermas de adsorción, por lo que no existió diferencia estadística significativa entre las cepas (Tabla 5 y 6), (figuras 9 y 10)

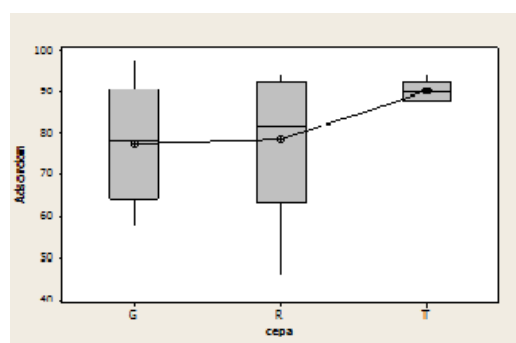


Figura 9. Diagrama de cajas para la adsorción de Pb

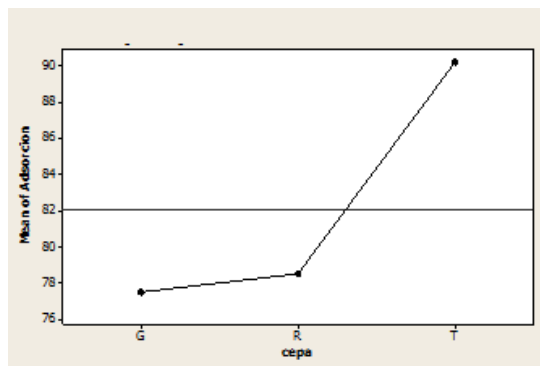


Figura 10. Efectos de las medias de adsorción de Pb

Tabla 5. Modelo lineal general: adsorción de Pb frente a tiempo/cepa

Factor	Tipo	Niveles	valores
Tiempo	Fixed	5	48, 96, 144, 192, 240
Cepa	random	3	G, R, T

Tabla 6. Análisis de varianza para Adsorción de Pb utilizando SS ajustado para las pruebas

Fuentes	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tempos	4	681.59	1681.59	420.40	4.70	0.030
cepa	2	496.33	496.33	248.16	2.77	0.122
error	8	716.06	716.00	89.51		
total	14	2893.98				

Para el caso de las isotermas de Cromo, el proceso de adsorción fue muy diferente al del Plomo se pudo apreciar que las cepas R y T tuvieron comportamiento similar en cuanto a adsorción y desorción, por lo que no habría diferencia entre ellas, pero si presentan diferencia con el comportamiento de la cepa G, con el Cromo, esto se corrobora en la figura 11, que compara la adsorción conjunta de las cepas, con lo cual de acuerdo a la figura 12, existe diferencia significativa entre el proceso, confirmando esta aseveración, los datos de las tablas Tabla 7, 8 y 9.

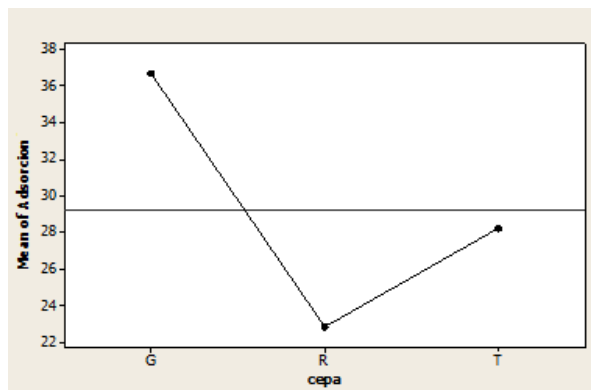
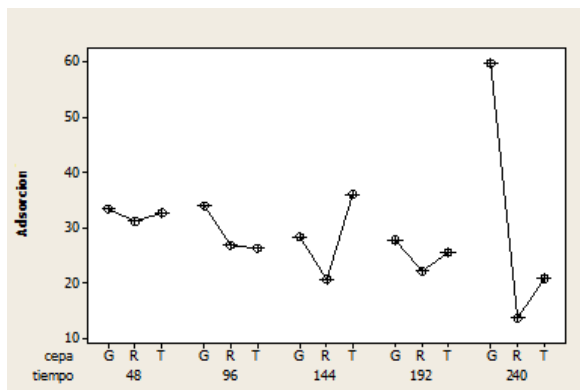


Figura 11. Diagrama de cajas para la adsorción de Cr t/cepa

Figura 12. Efectos de las medias de adsorción Cr /cepa

Tabla 7. Modelo lineal general: adsorción de Cr frente a tiempo/ cepa

Factor tipo	Niveles	Valores
Tiempo fixed	5	48, 96, 144, 192, 240
Cepa fixed	3	G, R, T

Tabla 8. Análisis de varianza para Adsorción de Pb utilizando SS ajustado para las pruebas

Fuentes	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tiempos	4	98.3	98.3	24.6	0.21	0.925
cepa	2	487.0	487.0	243.5	2.09	0.186
error	8	930.4	930.4	116.3		
total	14	1515.7				

Finalmente la figura13, indica que existe diferencia entre el proceso realizado por las tres cepas del hongo *Pleurotus*, ante el metal Plomo y el proceso realizado con el Cromo.

Tabla 9. Análisis de varianza para Adsorción de Pb utilizando SS ajustado para las pruebas

Fuentes	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tiempo	4	720.1	720.1	180.0	1.20	0.338
Cepa pleu	2	396.1	396.1	198.1	1.32	0.287
metal	1	20950.1	20950.1	20950.5	139.95	0.00
error	22	3293.5	32935.5	149.7		
total	29	25360.2				

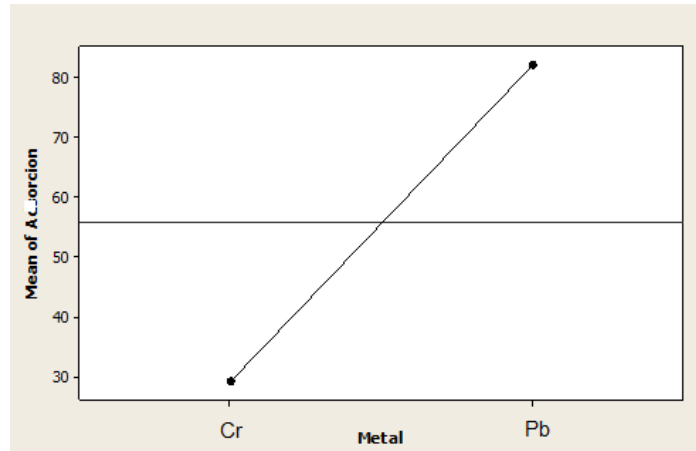


Figura 13. Efectos principales de las medias de adsorción de Cr y Pb

V. CONCLUSIONES

Con respecto al proceso de adsorción de Plomo, los resultados indican que las tres cepas del hongo *Pleurotus*, presentaron comportamientos similares al adsorber concentraciones similares del metal, en promedio del 90 % de la concentración de la solución, ante esto la hipótesis estadística planteada sobre la posible diferencia del comportamiento de alguna de las cepas ante el metal se rechaza, no se observa en las isotermas signos de desorción, esto indica la alta tolerancia al metal referido, pruebas de viabilidad de la biomasa después del experimento fueron positivas en los tres casos. En el caso del proceso de retención del metal Cromo, el comportamiento de las cepas fue diferente, principalmente por que los niveles de retención fueron muy inferiores con respecto al Plomo, en este caso las cepas R y T tuvieron comportamientos similares sobre la retención de Cromo, ambas presentaron inicialmente una adsorción superior al 30 % de la concentración y posteriormente la desorción se presentó hasta alcanzar porcentajes de 12 y 20 % respectivamente. En cuanto a la cepa G se puede observar que inicio el proceso de adsorción reteniendo el 30 % de la con inicial y continuó la retención hasta alcanzar 59% de la concentración. Por lo tanto se cumple con la hipótesis estadística planteada. Estos resultados conllevan al planteamiento de la posible utilización de la biomasa de este hongo de la pudrición blanca en la propuesta para remoción de metales pesados en aguas residuales debido a que los niveles máximos permisibles de estos metales en la NOM-001- SEMARNAT-1996, son muy inferiores a los niveles retenidos en este caso.

VI. REFERENCIAS

- [1] G. Gadd. "Interaction of fungi with toxic metals". *New Phytol.* 1993, pp. 124: 25–60.
- [2] B. Alloway, "Heavy metal in soils". Second edition, Springer Science & Business Media, 1995, pp. 368
- [3] L. Diels, N. Van der Lelie, L. Bastiaens, "New development in treatment of heavy metal contaminated soils". *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 2000, 1: 75-82.
- [4] G. Gadd, "Hongos y levaduras para la acumulación de metales". En: cL Ehrlich, Brierly, (Eds), la recuperación microbiana de minerales. McGrawHill, Nueva York, 1990, pp. 249-276
- [5] B. Prasenjit, S. Sumathi, "Uptake of chromium by *Aspergillus foetidus*". *J. Mater. Cycles Waste Manage.* 2005, 7: 88-92.

- [6] A. Kapoor A y T. Viraraghvan, “Hongos biosorción: Una alternativa de tratamiento para aguas residuales que contienen metales pesados”, Una revisión. *Bioresour. La tecnología*. 1995, 53: 195-206
- [7] B. Volesky y ZR Holan, “Biosorción de metales pesados” *Biotechnol Prog.* 1995, 11: 235 a 250
- [8] D. Kratochvil, B. Volesky, “Advances in the biosorption of heavy metals”. *Trends Biotechnol.*, 1998, 16(7): 291-300.
- [9] M. Gold, and M. Allic, “Molecular Biology of the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*”. *Microb. Rew.* 1993, 57: p. 605-622.
- [10] M. Iqbal, R. Edibeau, “Biosorption of lead, copper and Zinc ions on loofa sponge immobilized biomass of *Phanerochaete chrysosporium*”. *Mineral Engineer* 2004, 17 : 217-223
- [11] U. Yetis, A. Dolek, F. Dilek, G. Ozcengiz, “The removal of Pb (II) by *Phanerochaete chrysosporium*”. *Water Research.* 2000, 34(16): 4090-4100.
- [12] S. Gómez, D. Amaya (2007). Evaluación de tres hongos ligninocelulolíticos en la detoxificación de agua residual del proceso de curtido de pieles.
- [13] Qingbiao Li, Songtao Wu, Gang Liu, Xinkai Liao, Xu Deng, Daohua Sun, Yuelin Hu, Yili Huang. “Simultaneous biosorption of cadmium (II) and lead (II) ions by pretreated biomass of *Phanerochaete chrysosporium*”. *Separation and Purification Technology*, 2004, 34 135–142
- [14] Y. Kacar, A. Cigdem, T. Sema, D. Adil, G. Omer, M. Yakup, Aries, “Biosorption of Hg (II) and Cd (II) from aqueous solutions; Comparison of biosortive capacity of alginate and immobilized. Live and heat inactivated *Phanerochaete chrysosporium*”. *Process Biochemistry*. 2002, 601-610
- [15] 15] G. Gadd, y A. J. Griffiths. Microorganisms and heavy metal toxicity. *Microbial Ecol.* 1978, 4:303–317
- [16] S. Shumate II, y G. W. Strandberg. Accumulation of metals by microbial cells. In: *Comprehensive Biotechnology. Principles, Applications and regulations of Biotechnology in industry, Agriculture and Medicine.* M. Moo-Young, C. N. Robinson, y J. A. Howell (eds.). Pergamon Press, New York. 1985, Vol. 4, pp. 235- 247.
- [17] B. Belliveau, M. E. Starodub, C. Cotter y J.T. Trevors. Metal resistance and accumulation in bacteria. *Biotechnol. Adv.* 1987. 5:101-127
- [18] K. Bosecker, Bacterial metal recovery and detoxification of industrial waste. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 1986, 16:105-119.
- [19] G. Gadd, The uptake of heavy metals by fungi and yeasts: the chemistry and physiology of the process and applications for biotechnology. In: *Immobilisation of Ions by Bio-sorption.* H. Ecclesy S. Hunt (eds.). Chichester: Ellis Horwood Ltd, 1986, pp. 135-147.
- [20] S. Chang, and Miles, P. G. “Mushrooms, cultivation, Nutritional Value, Medicinal effect, and Environmental Impact”. (Second Edition) CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida. 2004, pp. 451.
- [21] P. Stamets, Chilton, J. S. “The Mushroom cultivator. A practical Guide to growing mushrooms at home” Agarikon Press, Olympia Wasuintong, 1983, pp 413
- [22] A. Gregori, J. Svagelj, Pohleven. “Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. *Food Technology and Biotechnology*”. 2007, 45: 238-249.

- [23] S. Hawkes. What is a “Heavy Metal”?, Journal of Chemical Education, 1997,74 (11), 1374-1374.
- [24] A. Sengupta. “Environmental Separation of Heavy Metals-Engineering Processes”, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA 2002, 366 pp
- [25] R. Treybal. “Mass Transfer Operations” (3^a ed.), McGraw-Hill, New York, USA (1979). Traducción en Operaciones de Transferencia de Masa, McGraw-Hill, México. 1980.
- [26] T. Kurniawan y Babel, S. “A research study on Cr (VI) removal from contaminated wastewater using low-cost adsorbents and commercial activated carbon”, En: Proceedings of the 2nd International Conference on Energy Technology Towards a Clean Environment (RCETE), vol. 2, Phuket, Thailand, 12-14 February. 2003, 1110-1117
- [27] R. Cañizares-Villanueva. “Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana”. Revista Latinoamericana de Microbiología. 2000, 42:131-143