



# Adsorción de iones cúprico y plumboso por *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de soluciones ideales

## Adsorption of cupric and plumbous ions by *Trichoderma viride* FP-UNT 01 from ideal solutions

Hany Avila Chuquiruna<sup>1</sup> y Juan Wilson Krugg<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tesista, Escuela AP de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo, Perú.

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología y Parasitología UNT.

### RESUMEN

Se determinó la capacidad de adsorción de los iones cúprico plumboso por *Trichoderma viride* FP-UNT-01 a partir de soluciones ideales de sulfato de cobre y plomo (II), respectivamente. La biomasa fúngica se obtuvo por cultivo en suero de papa sacarosa sometida a un lavado con ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) al 0.1N en biorreactores aireados; los pellets formados se secaron en estufa a 60°C durante 24 horas. Se colocó 8g de pellets en un sistema de cuatro columnas a través de las cuales se hizo pasar una solución de ión cúprico a 19 ppm y de ión plumboso a 40 ppm de concentración para ser recirculadas durante seis horas. Cada tres horas se tomó una muestra de 250mL para ser analizadas por espectrometría de masas. Se realizó tres repeticiones para cada tratamiento y los resultados se sometieron a la prueba T de Student para muestras emparejadas. Se encontró que *T. viride* FP-UNT-01 presenta mayor capacidad de adsorber ión plumboso que de ión cúprico con un 15.2% de diferencia.

**Palabras clave:** Ion cúprico, ion plumboso, biorreactor aeriado, *Trichoderma viride*

### ABSTRACT

The adsorptive capacity of the cupric and plumbous ions by *Trichoderma viride*-01 FP-UNT from ideal solutions of lead and copper sulfate (II), respectively, were determined. The fungal biomass was obtained by cultivation on potato sucrose serum subjected to washing with nitric acid (HNO<sub>3</sub>) at 0.1N in aerated bioreactor; The formed pellets were dried in an oven at 60 ° C for 24 hours. 8g was placed pellets in a four column through which was passed a solution of cupric ion at 19 ppm and 40 ppm plumbous ion concentration to be recirculated for six hours. Every three hours, a 250 mL sample for analysis by mass spectrometry was taken. Three replicates for each treatment was performed and the results were subjected to Student's t test for paired samples. It was found that *T. viride* FP-UNT-01 has greater ability to adsorb plumbous ion to cupric ion with 15.2% difference.

**Keywords:** Ion cúprico, ion plumboso, bioreactor aired, *Trichoderma viride*

## INTRODUCCIÓN

El contenido metálico en los residuos mineros se encuentra usualmente en concentraciones bajas, de modo que cuando superan determinados límites pueden llegar a ser tóxicos y contaminantes debido a su gran persistencia (a diferencia de la mayoría de compuestos orgánicos) y a la tendencia a acumularse en los sistemas biológicos, siendo de gran peligro para el ambiente en general<sup>3</sup>. Al respecto, el decreto supremo N° 0102010 establece que los límites máximos permisibles para las concentraciones de cobre (Cu) y plomo (Pb) no deben ser superiores a 0.4 mg/l y 0.16 mg/l, respectivamente<sup>1,2</sup>. El aumento de éstos ocasiona graves alteraciones en el metabolismo, crecimiento y desarrollo de los seres vivos en los diferentes ecosistemas<sup>3,4,5,6</sup>.

Se ha descrito que la concentración elevada de Cu y Pb afecta el crecimiento de los vegetales, no por una disminución significativa del potencial osmótico del sustrato sino por su propia toxicidad, así como de los animales porque afecta a las enzimas que catalizan las reacciones de la biosíntesis de la hemoglobina produciendo anemia y daño cerebral<sup>2,3,5,6,7</sup>.

En el Perú, país minero, existe una contaminación permanente del ambiente hídrico: La Oroya sufre de contaminación con plomo, cadmio y otros metales, la ciudad Ilo por la lluvia ácida, Cerro de Pasco, Madre de Dios, La libertad, Lima y Cajamarca con la presencia de plomo, cadmio y otros metales en sus ríos<sup>21</sup>. La misma situación se ha observado en otros ríos<sup>8,9,10,11,12,13</sup>. En el Departamento de la Libertad, se ha determinado el impacto negativo de los relaves mineros sobre las aguas, suelos y cultivos en la Cuenca del río Moche<sup>14</sup>.

Recientemente, se ha establecido el potencial de adaptación de algunos microorganismos a ambientes extremos, estos microorganismos suelen poseer mecanismos de resistencia a los iones metálicos, lo cual representa un fenómeno de gran interés en la perspectiva de su posible aplicación y el uso de su biomasa para tratar de eliminar metales pesados de los diferentes nichos acuáticos contaminados: bacterias, hongos, levaduras y algas pueden eliminar los metales pesados y radionúclidos de las soluciones acuosas en cantidades sustanciales<sup>15,16,17,18,19,20</sup>.

Los mohos y las levaduras acumulan micronutrientes tales como Cu, Zn, Mn y no-metales; nutrientes como U, Ni, Cd, Sn y Hg en cantidades más altas que sus necesidades nutricionales<sup>25,26,27,28,29</sup>. El potencial de la biomasa fúngica como biosorbente ha sido reconocido por la eliminación de los metales pesados procedentes de aguas contaminadas<sup>28,29,30,31,32,33</sup>. El micelio de los hongos tiene la capacidad de secuestrar metales pesados bioasimilables y prevenir la translocación a los vegetales, disminuyendo la disponibilidad del mismo en el suelo<sup>30,32,33,34,35</sup>. Si bien el mecanismo por el cual algunos metales pesados se acumulan en las setas es algo incierto, parece estar asociada con una reacción de quelación con grupos tio (-SH) de proteínas, especialmente, con la metionina<sup>35,36</sup>. Las setas se pueden utilizar para evaluar el nivel de contaminación ambiental, realizándose estudios para evaluar el posible peligro para la salud humana por la ingestión de hongos que contienen metales pesados<sup>37,38,39</sup>.

*Aspergillus niger* MTCC 2594 fue capaz de acumular y adsorber Cr de líquidos contaminados después del curtido de cueros y pieles y eliminar eficazmente los iones de U, Pb, Cd y Cu; *A. oryzae* eliminó los iones de Cd y Cu de una solución acuosa; *A. terreus* Cr, Ni y Fe de efluentes metalúrgicos; *A. niger* y *Mucor rouxii* metales pesados de soluciones acuosas, y, comparativamente, *Rhizopus* sp. puede bioadsorber mayor concentración de metales pesados que *Aspergillus* sp<sup>23,24</sup>. Se ha evaluado, asimismo, la capacidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para adsorber Cd<sup>+2</sup> y Pb<sup>+2</sup> encontrándose que *B. bassiana* mostró una mayor capacidad de adsorción en comparación con *M. anisopliae*, lo que podría ser debido a la diferencia en la estructura de la pared celular<sup>26,27,39,40</sup>.

Se ha determinado, al mismo tiempo, que *T. viride* es un biosorbente eficaz para la eliminación de Cr (VI) de las soluciones acuosas de alginatos libres de células<sup>21</sup>, al igual que *T. asperellum* que es capaz de adsorber Cu (II) con más de 90% de eficacia<sup>48</sup>. *T. harzianum*, por su lado, puede extraer y recuperar U a partir de soluciones acuosas de Ca-alginato inmovilizados<sup>39</sup>.

El Perú en los últimos años ha enfrentado el incremento de su industria minera, trayendo como consecuencia el aumento de las técnicas para la extracción de metales y por lo tanto el aumento de los

desechos que éstas ocasionan y considerando el papel relevante de los microorganismos en la adsorción de metales pesados, así como el desarrollo de nuevas alternativas a los métodos tradicionales para el tratamiento de aguas y suelos contaminados, el presente trabajo busca determinar la capacidad de adsorción de *Trichoderma viride* para ión cúprico y plumboso a partir de soluciones ideales. Presentando de esta manera una nueva alternativa de biorremediación de los efluentes minero-industriales libre de contaminación ambiental y daños para la salud pública.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Cultivos:

Cultivo puro de *Trichoderma viride* FP-UNT 01, proporcionados por la cátedra de Fitopatología de la Facultad del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

### Resiembra para obtener cultivo joven de *Trichoderma viride* FP-UNT-01

Del cepario de la cátedra de Fitopatología se tomó un cultivo de *T. viride* FP-UNT-01, el cual fue resembrado en tubos con Agar Papa Sacarosa más Doxiciclina (APSD). Se incubó a 25°C por 10 días. Los cultivos resembrados fueron identificados en base a sus características macroscópicas y microscópicas<sup>52</sup>.

### Producción de Biomasa de *T. viride* FP-UNT 01<sup>30,40</sup>

A partir de cultivos puros de *T. viride* FP-UNT 01 se realizó una siembra en frascos planos conteniendo APSD. Se incubó a 25°C durante 15 días. Al cultivo en frasco plano se agregó 30 mL Agua Destilada Estéril (ADE) y se realizó una suspensión de esporas que fueron utilizadas en la producción de biomasa. El equipo para producción de biomasa consistió en un sistema de aireación para quince biorreactores, los cuales eran recipientes cilíndricos de vidrio de 500 mL de capacidad cada uno, conteniendo 300mL de caldo papa suplementado con sacarosa (12g de azúcar) y antibiótico (Doxiciclina), a los cuales se agregó 5 ml de suspensión de esporas. Estos sistemas fueron controlados a una temperatura de 25°C y aireación constante durante 15 días. El aire fue suministrado por una bomba de aire, el cual paso primero por un proceso de esterilización con sulfato de cobre al 5% y NaCl al 23% para que luego se distribuya a los biorreactores. La cantidad de aire fue controlada mediante reguladores para evitar romper el micelio del hongo en su crecimiento.

### Obtención de pellets de *T. viride* FP-UNT 01<sup>30,40</sup>

Luego del periodo de incubación, se filtró el contenido de los 15 recipientes separando la biomasa fúngica producida mediante una malla, la que se colocó en placas de vidrio y se trató con HNO<sub>3</sub> 0.1N por una hora. Posteriormente con ayuda de un lienzo se tamizó la biomasa en esferas o “pellets” de 5 mm de diámetro aproximadamente, los que fueron secados a 60°C por 24 horas, con la finalidad de obtener pellets compactos y porosos<sup>53</sup>.

### Equipo Experimental para adsorción de Cu<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup>

Se construyó un sistema de cuatro columnas de 25cm de alto y 2,5 de diámetro cada una, empacadas y conectadas en serie con efluente descendente. Las columnas fueron mantenidas herméticamente cerradas por ambos lados con tapones de jebe. En el interior de cada columna, a aproximadamente 2cm de la base, se colocó una malla. Dentro de las columnas se colocaron los “pellets” de *T. viride* FP-UNT 01 suspendidas en dicha malla<sup>54</sup>.

### Preparación de Soluciones ideales de Sulfato de Cobre y Sulfato de Plomo.

Se tomó 0,12g de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O y se agregó dos litros de Agua Ultra Pura Estéril<sup>55</sup> para obtener una concentración final de 19 ppm de ión cúprico. Con respecto al ión plumboso se tomó 0,2g de Sulfato de Plomo (II) a la que también se agregó dos litros de agua ultra pura estéril<sup>56</sup>, para obtener una concentración final de 40ppm de éste ión; se agregó HCl 0.1N para obtener un pH de 4 para ambas soluciones. Estas soluciones ideales serán percoladas hacia la parte baja de la columna a través de mangueras de plástico.

### Evaluación de la capacidad adsorbente de *T. viride* FP-UNT 01<sup>30,40</sup>

Una vez culminada la fase de pelletización se agregó 2g de pellets a cada columna y se hizo recircular 2000 ml de las soluciones ideales. Se realizaron tres repeticiones. La capacidad de adsorción de ion cúprico y plumboso fue evaluada determinando la concentración de los mismos iones en partes por millón (ppm), para lo cual se extrajo 250mL de solución cada 3 hora, hasta las 6 horas posteriores de iniciadas las pruebas. Las muestras colectadas se analizaron por espectrometría de masas.

Las muestras para evaluar la capacidad adsorbente fueron recolectadas cada tres horas desde la hora cero hasta las 6 horas de tratamiento. Se colectó 250ml de solución de Sulfato de Cobre en frascos estériles, conservándose la muestra con ácido nítrico a un pH < 2. De la misma manera se procedió a la recolección de las muestras de la solución de Sulfato de Plomo. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas al Laboratorio para su análisis.

#### Análisis de Resultados

Los resultados obtenidos en cada ensayo fueron tratados estadísticamente mediante la prueba T de Student para evaluar la significancia de las diferencias observadas entre las medias del factor de evaluación.

## RESULTADOS

El porcentaje promedio de adsorción de ión cúprico por pellets de *T. viride* FP-UNT 01 a las tres horas fue de 6,9%, mientras que a las seis horas fue de 9.1% (Fig. 1).

Se observa que el promedio porcentual de adsorción de ión plumboso por pellets de *T. viride* FP-UNT 01, según la Fig. 2 fue de 7.327 ppm equivalente al 19,4% y 9.341 ppm equivalente al 24,3% a las tres y seis horas, respectivamente.

En relación a la comparación porcentual promedio entre la adsorción de ión cúprico y plumboso por *T. viride* FP-UNT 01, a las seis horas del ensayo se observa que *Trichoderma* adsorbió 9.1% de ión cúprico y 24.3% de ion plumboso (Fig. 3).

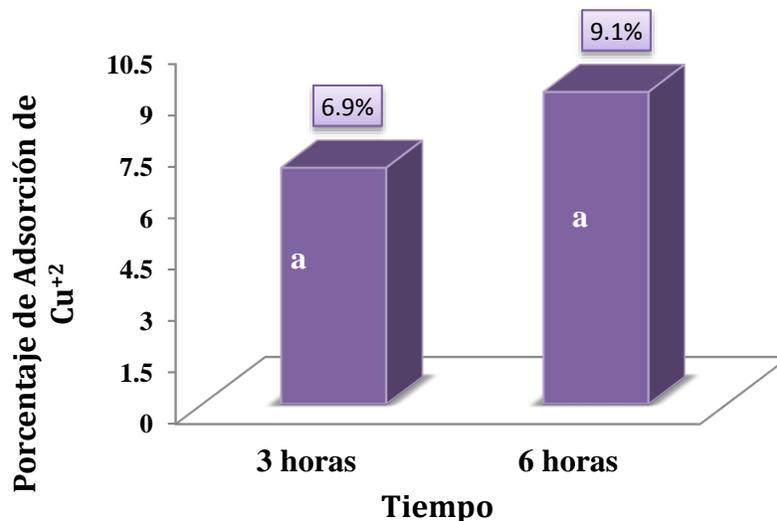


Fig. 1. Porcentaje promedio de adsorción de ión cúprico (Cu<sup>2+</sup>) por pellets de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de una solución ideal de sulfato de cobre a las tres y seis horas de tratamiento. a = p > 0.05, no existe diferencia significativa. a: adsorción de Cu<sup>2+</sup>

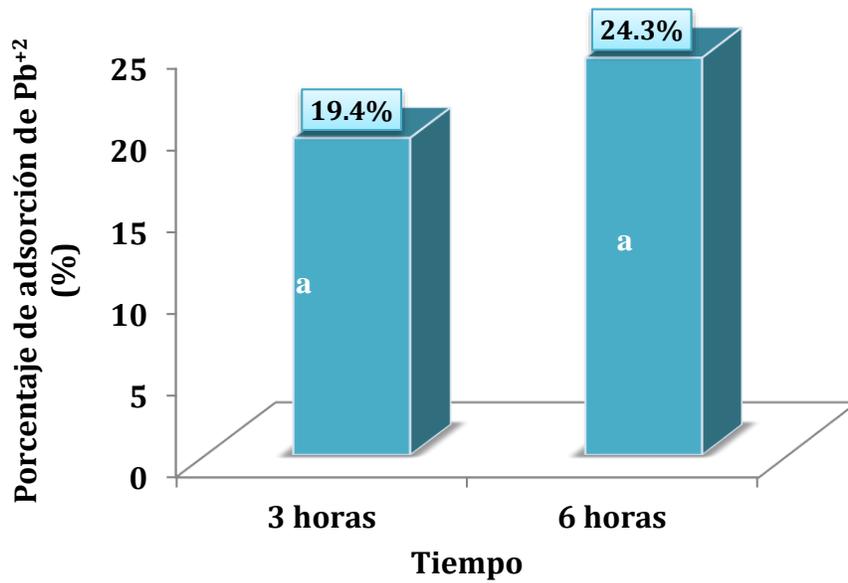


Fig. 2. Porcentaje promedio de adsorción de ión plumboso (Pb<sup>2+</sup>) por pellets de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de una solución ideal de sulfato de plomo (II) a las tres y seis horas de tratamiento. a = p > 0.05, no existe diferencia significativa. a: adsorción de Pb<sup>2+</sup>

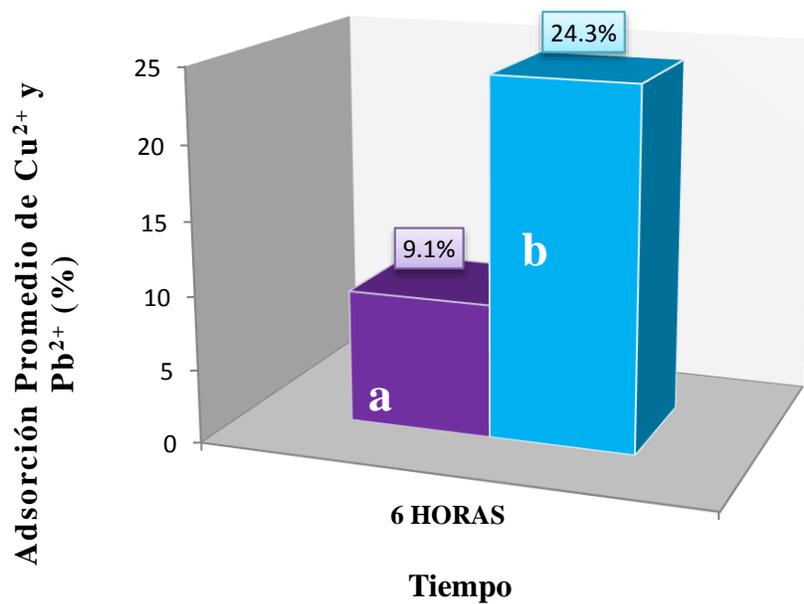


Fig. 3. Comparación porcentual de la adsorción promedio de ión cúprico (Cu<sup>2+</sup>) y plumboso (Pb<sup>2+</sup>) por pellets de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de soluciones ideales a las seis horas de tratamiento. a ≠ b; p < 0,05; existe diferencia significativa entre la adsorción de Cu<sup>2+</sup> y de Pb<sup>2+</sup> por *T. viride* FP-UNT 01. a: adsorción de Cu<sup>2+</sup>. b: adsorción de Pb<sup>2+</sup>

## DISCUSIÓN

Se verificó que *T. viride* FP-UNT 01 adsorbe ambos iones metálicos y probablemente la fijación de los metales se produce casi exclusivamente sobre o en la pared de las células, en la cual participan activamente grupos aminos, carboxilos, hidroxilos, presentes en la quitina, quitosano, glucanos, proteínas, etc.; polímeros que forman las paredes de los hongos y presentan cierta afinidad en la fijación de los iones<sup>12,23</sup>. Sin embargo, el porcentaje promedio de adsorción de ión cúprico se produce en un porcentaje menor al 10%; esto puede deberse a que los sitios de fijación de los iones en las paredes de los hongos no han sido ocupados completamente por el metal, es decir no llegan a saturarse.

El hecho de que la adsorción de ión cúprico y plumboso entre las tres y seis horas del tratamiento se produce sin diferencia significativa, como lo demostró la prueba estadística, corrobora que la mayor adsorción de *T. viride* FP-UNT 01, tanto para los iones de cobre y plomo se dio dentro de las tres primeras horas de iniciado el tratamiento; como lo demuestra estudios realizados determinando que el equilibrio de adsorción para cobre por *T. viride* se dio en tres primeras horas<sup>39,40</sup>.

El tiempo para encontrar un buen equilibrio de adsorción es muy importante en este proceso, ya que de esto depende la cantidad de adsorción de los iones; tanto en las Figura 1 y 2 la adsorción ocurrió en las tres primeras horas, pues la diferencia de adsorción con las seis horas es menor del 5% para ambos casos, lo cual se sustenta en que un proceso de adsorción encuentra su equilibrio cuando no se observan cambios en la concentración del metal de la solución mayor a 0,5% de la concentración inicial<sup>31,34,40</sup>. Muchos autores están de acuerdo en un tiempo de equilibrio de 20 a 60 minutos para la adsorción de metales por la biomasa fúngica bajo condiciones neutras<sup>2,4,5,40</sup>. Tal vez porque se lleva a cabo bajo condiciones ácidas en el presente trabajo, la adsorción necesitó de tres horas para alcanzar su equilibrio.

Otro parámetro importante en bioadsorción es la fuerza iónica, lo que influye en el tiempo para captar el soluto a la superficie de la biomasa, el efecto de la fuerza iónica puede ser atribuido a la competencia entre los iones, los cambios en la actividad de metal, o las propiedades de la doble capa eléctrica<sup>31,32,34</sup>. Cuando dos fases, por ejemplo, superficie de la biomasa y de solutos en disolución acuosa, están en contacto, están obligados a estar rodeados por una doble capa eléctrica debido a la interacción electrostática; por lo tanto, la adsorción disminuye con el aumento de la fuerza iónica<sup>32,34,35,36</sup>, haciendo que al transcurrir las horas la adsorción se mantenga o aumente en una mínima cantidad (Figs 1 y 2); asimismo, esta explicación concuerda con los datos encontrados en donde la comparación porcentual para cada ensayo en algunos casos es menor a la sexta hora cuando debería ser al contrario.

Al prestar atención a la adsorción de *T. viride* FP-UNT 01 a las seis horas, tanto en las figuras 1 y 2, nos damos cuenta que no hay un aumento significativo con respecto a las tres horas, así mismo en algunos ensayos transcurrido este tiempo la adsorción disminuye, siendo probable que exista una pequeña desorción lo cual podría deberse a que, a medida que el pH de la solución aumenta el número de protones se disocian más rápido de los grupos funcionales en la pared celular de los hongos<sup>35,40</sup>. Lo mismo se determinó que la adsorción de Cu, Cd y Zn por *T. viride* fue 5.5 veces más rápido a un pH de 4, asimismo que es capaz de retener metales en abundante cantidad en su micelio que en sus esporas<sup>39</sup>, es por eso que en el presente trabajo los pellets utilizados fueron hechos con la mayor cantidad de micelio posible.

La comparación porcentual de la adsorción entre ion cúprico y plumboso, donde observamos que existe diferencia significativa entre la adsorción de los iones de cobre y plomo por *T. viride* FP-UNT 01 habiendo una diferencia del 15.2% a las seis horas de tratamiento; sustentándose en que plomo según estudios realizados encuentra un equilibrio de adsorción sumamente rápido, entre los 10 y 20 min y después de alcanzar el equilibrio la cantidad de adsorción de éste no cambia significativamente con el tiempo<sup>35</sup>.

Se verificó, también, que si existe adsorción de ion cúprico y plumboso, sin embargo *T. viride* FP-UNT 01 es capaz de adsorber mayor cantidad de ion plumboso que cúprico; esto concuerda con lo reportado por Iskandar cuando al evaluar la bioadsorción de cobre y plomo por hongos filamentosos encontró que el género *Trichoderma* posee mayor capacidad para adsorber Pb(II) que Cu(II)<sup>35</sup>; también podría deberse a que el flujo de recirculación de la solución fue muy rápido, lo que impidió un contacto ión-sorbente lo suficientemente largo para una adecuada fijación del ión<sup>39,40</sup>, en el caso de cobre.

*T. viride* FP-UNT 01 a las seis horas adsorbió solo 9.1% de ión cúprico mientras que de ión plumboso adsorbió el 24.3% notándose que *T. viride* tiene mayor capacidad para absorber plomo; una de las razones sería que existe diferencia en el tamaño iónico de los metales, radios iónicos, potencial de electrodo, la afinidad a los grupos funcionales en los biosorbentes, así como en el modo de interacción entre los iones metálicos y el biosorbente<sup>35,39</sup>, debido a lo cual pudo adsorber en menor tiempo mayor cantidad de ión plumboso; por el contrario la adsorción de ión cúprico es menor ya que los radicales de la pared de este hongo posiblemente fueron saturados por el metal en contacto más rápido<sup>40</sup>, no quedando espacio para seguir adsorbiéndolo por más tiempo.

## CONCLUSIONES

- *T. viride* FP-UNT 01 tiene la capacidad de adsorber ión cúprico y ión plumboso.
- *T. viride* FP-UNT 01 adsorbe mayor cantidad de ión plumboso que ión cúprico.
- La mayor adsorción de ión cúprico y plumboso por *T. viride* FP-UNT 01 ocurrió en las tres primeras horas de iniciado el tratamiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sinchi GM. Evaluación del comportamiento ambiental de los contaminantes en residuos sólidos mineros metalúrgicos (RSMM) por el método de extracciones secuenciales y aplicación de modelos de movilidad y transporte. Rev Int Invest UNMSM 2007; 10(19): 78-86.
2. Cañizares VRO. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Rev Latinoam Microbiol 2000; 42: 131-43.
3. Cuevas GW. Metales pesados en maíz (*Zea mays*) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. Rev Int Contam Ambient 2004; 2(20): 59-68.
4. Cartaya O, Marrero O, Reynaldo I, Peniche C. Adsorción de iones  $\text{Cu}^{2+}$  por quitosana y su aplicación al suelo para la protección de las plantas ante la toxicidad del metal. Cultivos Tropicales 2008; 29(3): 87-91.
5. Pérez L, Moreno AM, González J. Índices de acumulación de metales pesados en granos y hojas de trigo. Schironia 2004; 3: 5-9.
6. Instituto Nacional de Salud (INS). Censo hemático de plomo y evaluación clínica epidemiológica en poblaciones seleccionadas de La Oroya Antigua, noviembre 2004-enero 2005. Lima 2005.
7. Astete J, Cáseres W, Gastañeda MC, Lucero M, et al. Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2009; 26(1): 15-19.
8. Pebe G, Villa H, Escate L, Cervantes G. Niveles de plomo sanguíneo en recién nacidos de La Oroya, 2004-2005. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2008; 25(4): 355-60.
9. Vega JM, Salinas JE, Gutiérrez MR, Mandamiento RD, et al. Lead levels and cognitive abilities in Peruvian children. Rev Bras Psiquiatr 2006; 28(1): 33-39.
10. Espinoza R, Hernández M, Narciso J, Gastañaga C, et al. Determinants of blood-lead levels in children in Callao and Lima metropolitan area. Salud Publica Mex 2005; 45 (2): 209-219.
11. Ginocchio R, carvallo G, Toro I, Bustamante E, Sepúlveda S. Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in central Chile. Environ Pollut 2004; 127: 343-52.
12. Chung B. Control de los contaminantes químicos en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2008; 25 (4): 413-18.
13. Ribera H, Chira J, Zambrano K, Petersen P. Dispersion secundaria de los metales pesados en sedimentos de los ríos Chillón, Rímac y Lurín departamento de Lima. FIGMMG 2007; 10(20): 19-25.
14. Huaranga MF, Méndez GE, Quilca LV, Huaranga AF. Contaminación por metales pesados en la cuenca del río Moche, 1980-2010, La Libertad-Perú. Scientia Agropecuaria 2012; 3: 235-47.
15. Bishnoi NR, Kumar R, Bishnoi K. Biosorption of Cr (VI) with *Trichoderma viride* immobilized fungal biomass and cell free Ca-alginate beads. Indian J Med Microbiol 2007; 45: 657-664.
16. Bishnoi NR, Garima. Fungus - An alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: A review. J Sci Ind Res 2005; 64: 93-100.
17. Mendoza JC, Perea YS, Pretin C, Silveti A, et al. Biosorción de Cromo, Arsénico y Plomo de soluciones acuosas por cultivos bacterianos en suspensión. Rev Lat Amb Cien 2010; 1 (2): 67-73.

18. Cárdenas G, Moctezuma FJ, Acosta R. Aislamiento de hongos resistentes a metales pesados a partir de agua de diferentes ríos de la huasteca potosina. *Rev Acad Inv* 2010; 1: 54-60.
19. Nirmal Kumar JL, Cini O, Kumar RN. Biosorption of Heavy Metals from Aqueous Solution by Green Marine Macroalgae from Okha Port, Gulf of Kutch, India. *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 2009; 6 (3): 317-23.
20. Rajiv Kumar A, Gunjan C, Singh Ahluwalia S, Goyal D. Biosorption of Pb<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> by Non-Living Biomass of *Spirulina sp.* *Indian J Microbiol* 2010 ; 50(4):438-42.
21. Moyano A, García Sánchez A, Fernández Toirán LM, Charro E. Metales pesados en hongos de áreas contaminadas. *Rev Cien Agr* 2004; 13-22.
22. González Chávez MC, Carrillo González R, Wright SF, Nichols KA. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environ Pollut* 2004; 130: 317-323.
23. Sandana Mala JG, Unni Nair B, Rengarajulu Puvanakrishnan. Bioaccumulation and biosorption of chromium by *Aspergillus niger* MTCC 2594. *J Gen Appl Microbiol* 2006; 52: 179-186.
24. Sun YM, Hornig CY, Chang FL, Cheng LC, Tian WX. Biosorption of Lead, Mercury, and Cadmium Ions by *Aspergillus terreus* Immobilized in a Natural Matrix. *Poll J Microbiol* 2010; 59 (1): 37-44.
25. Ahmad I, Zafar SH, Ahmad F. Heavy metal biosorption potential of *Aspergillus* and *Rhizopus sp.* Isolated from wastewater treated soil. *J Appl Sci Environ Manag* 2005; 9: 123 126.
26. Hussein KA, Hassan SH, Joo JH. Potential capacity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the biosorption of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>. *J Gen Appl Microbiol* 2011; 57 (6): 347-55.
27. Tan WS, Ting AS. Efficacy and reusability of alginate-immobilized live and heat-inactivated *Trichoderma asperellum* cells for Cu (II) removal from aqueous solution. *Bioresour Technol* 2012; 123:290-5.
28. Akhtar K, Khalid AM, Akhtar MW, Ghauri MA. Removal and recovery of uranium from aqueous solutions by Ca-alginate immobilized *Trichoderma harzianum*. *Bioresour Technol* 2009; 100 (20): 4551-8.
29. Schwartz JA, Olarte KT, Michalek JL, Jandu GS, et al. Regulation of Copper Toxicity by *Candida albicans* GPA2. *Eukaryotic Cell* 2013; 12 (7): 954-61.
30. Rojas C. 2000. Aislamiento y selección de hongos con capacidad bioadsorbente de Ion ferroso, a partir de relaves frescos procedentes de Corporación Minera Nor Perú- La Libertad. Tesis de Biólogo Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.
31. Khalid AH, Sedky HAH, Jin HJ. Potential capacity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the biosorption of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>. *J Gen Appl Microbiol* 2011; 57: 347-355.
32. Iskandar NL, Zainudin NA, Tan SG. Tolerance and biosorption of copper (Cu) and lead (Pb) by filamentous fungi isolated from a freshwater ecosystem. *J Environ Sci* 2011; 23 (5): 824 -30.
33. Martínez-Juárez VM, Cárdenas-González JF, Torre-Bouscoulet ME, Acosta- Rodríguez I. Biosorption of Mercury (II) from Aqueous Solutions onto Fungal Biomass. *Bioinorg Chem Appl* 2012; 2012: 156190.
34. Jafari N, Senobari Z. Removal of Pb (II) ions from aqueous solutions by *Cladophora rivularis* (Linnaeus) Hoek. *Scient World J* 2012; 2012:793606.
35. Wang B, Wang K. Removal of copper from acid wastewater of bioleaching by adsorption onto ramie residue and uptake by *Trichoderma viride*. *Bioresour Technol* 2013; 136: 244-50.
36. Kalmykova Y, Strömvall AM, Steenari BM. Adsorption of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn on *Sphagnum* peat from solutions with low metal concentrations. *J Hazard Mater* 2008; 152 (2): 885-891.
37. Dhankhar R, Hooda A. Fungal biosorption – an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. *Environ Technol* 2011; 32 (5-6): 467-91.
38. Dönmez G, Aksu Z. Removal of chromium (VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochem* 2002; 38: 751-62.
39. Argumedo DR, Alarcón A, Ferrera CR, Peña CJJ. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánico e inorgánico. *Rev Int Contam Ambient* 2009; 25 (4): 257-69.
40. Rojas, C. Aislamiento y selección de hongos con capacidad bioadsorbente de ión ferroso a partir de relave fresco procedente de la corporación minera Nor-Perú. Tesis para obtener el título de Biólogo Microbiólogo 2000. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú.