

# IMPACTO DEL ARSÉNICO EN EL AMBIENTE Y SU TRANSFORMACIÓN POR MICROORGANISMOS

## Impact of Arsenic on the Environment and its Microbial Transformation

Edelweiss Airam Rangel Montoya<sup>1</sup>, Lilia E. Montañez Hernández<sup>1</sup>,  
Miriam P. Luévanos Escareño<sup>1</sup> y Nagamani Balagurusamy<sup>1‡</sup>

### RESUMEN

El arsénico (As) es uno de los metaloides más tóxicos presentes en el medio ambiente y la especiación de éste depende de diversos factores químicos, físicos y biológicos. La distribución y contaminación del arsénico se debe a procesos naturales y antropogénicos, y su problemática se debe a su fácil movilización en el ambiente. Las altas concentraciones de arsénico en agua y suelo se han convertido en un problema global, ya que las exposiciones prolongadas a este metaloide pueden causar daños crónicos a la salud. Dicha situación es particularmente importante en la Comarca Lagunera en México. Por lo tanto, se ha vuelto necesaria la búsqueda de nuevas estrategias para la remoción de este metaloide, entre las cuales, la biorremediación microbiana ha cobrado importancia como una alternativa amigable con el ambiente en la solución de este problema. Los microorganismos juegan un papel fundamental en la especiación del arsénico, ya que un gran número de estos tiene la capacidad de transformar el arsénico a pesar de su toxicidad puesto que han desarrollado diferentes mecanismos que les permiten utilizar el arsénico en su metabolismo, ya sea en su forma reducida de arsenito, o en su forma oxidada de arseniato mediante reacciones de óxido-reducción transformación enzimática, metilación, quelación, exclusión e inmovilización. Este trabajo, trata sobre el impacto que tiene la especiación de arsénico, especialmente del arsenito (As III), en el medio ambiente, el riesgo que representa la contaminación para la salud, así como los mecanismos bioquímicos microbianos para la oxidación del arsenito,

disminuir su toxicidad y el desarrollo de estrategias limpias y amigables con el medio ambiente para la remoción de arsénico de aguas y suelos contaminados.

**Palabras clave:** *arsenito; arseniato; arsenito oxidasa; biotransformación.*

### SUMMARY

Arsenic is one of the most toxic metalloids found in nature, and speciation of arsenic depends on a diversity of chemical, physical and biological factors. Arsenic distribution and contamination on Earth is a consequence of many natural and anthropogenic processes, and is mainly due to its easy mobilization in the environment. High concentrations of arsenic in water and soil have become a global problem and long exposures to this metalloid can cause chronic damage to health, a particularly important problem in the Comarca Lagunera of Mexico. Therefore, it is important to look for new strategies for the efficient removal of arsenic. In this regard, microbial bioremediation offers an alternative environment friendly method to tackle this problem. Microorganisms play a major role in arsenic speciation since many of them have the capacity to transform it despite its toxicity. They have developed many different mechanisms such as oxido-reductions, enzymatic transformations, methylation, chelation and immobilization to utilize arsenic, in its reduced arsenite form or the oxidized arsenate form, in their metabolism. This study examines impact of arsenic speciation, especially As (III), on the environment and health as well as the biochemical mechanisms involved in the microbial oxidation of arsenite to reduce its toxicity, aiming to develop clean environment friendly strategies for removing arsenic from contaminated water and soil.

**Index words:** *arsenite; arsenate; arsenite oxidase; biotransformation.*

<sup>1</sup> Lab. de Biorremediación de la Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Carretera Torreón-Matamoros km. 7.5. 27400 Torreón, Coahuila, México.

<sup>‡</sup> Autor responsable (bnagamani@uadec.edu.mx)

## INTRODUCCIÓN

El arsénico (As) ocupa el lugar 20 en abundancia de los elementos en la corteza terrestre y se distribuye de manera no uniforme por todo el mundo, dependiendo de la región geográfica, características geoquímicas del suelo y actividad industrial (Mandal y Suzuki, 2002; Santini y vanden Hoven, 2004; Heinrich-Salmeron *et al.*, 2011).

Alrededor de un tercio del arsénico presente en la atmósfera proviene de fuentes naturales como reacciones ambientales, actividad biológica, emisiones volcánicas, y el resto proviene de un amplio rango de actividades antropogénicas (Campos *et al.*, 2007; Alam *et al.*, 2014).

El As se clasifica como uno de los elementos químicos más tóxicos y carcinogénicos, representando un serio problema ambiental en varias regiones de México y el mundo (Iliná *et al.*, 2009; Yamamura y Amachi, 2014).

La Comarca Lagunera se localiza en la parte noreste de México y desde 1963 se reportan elevadas concentraciones de arsénico en el suelo, agua y agua subterránea (Rosas *et al.*, 1999).

La toxicidad del arsénico en el agua es eliminada con un proceso oxidativo para la transformación de la forma más tóxica de As (III) a la forma menos tóxica de As (V) (Dastidar y Wang, 2009; Yamamura y Amachi, 2014; Cha *et al.*, 2015). El As puede oxidarse mediante procesos químicos o biológicos. La oxidación química del arsénico es lenta y los compuestos químicos utilizados, tales como cloro, hipoclorito de calcio, permanganato de potasio, pueden derivar en elevados costos, generar una contaminación secundaria y ser ineficientes a bajas concentraciones de arsénico (Santini *et al.*, 2000; Simeonova *et al.*, 2004; Tsai *et al.*, 2009), por lo que se prefiere el proceso biológico.

Desde hace algunos años se han realizado estudios sobre bacterias que presentan la capacidad de oxidar el As (III), buscando comprender el sistema que involucra este paso en el metabolismo de estas bacterias, con el fin de utilizarlas como una tecnología para el tratamiento de agua y suelos contaminados con arsénico. El presente artículo de revisión cubre diferentes aspectos del arsénico, desde su presencia e impacto en el medio ambiente, hasta los distintos mecanismos de transformación del arsénico en los microorganismos, enfocándose principalmente en la oxidación del arsenito.

## Aspectos Generales del Arsénico

El As se encuentra presente en la atmósfera, suelo, rocas, cuerpos de agua, minerales y organismos de formas inorgánica, orgánica y metilada (Tsai *et al.*, 2009; Valenzuela *et al.*, 2009; Basu *et al.*, 2014). La problemática del arsénico es el resultado de su fácil movilización bajo condiciones naturales. Sin embargo, el hombre ha tenido un importante impacto en la generación de formas tóxicas del As a través de la actividad minera, uso de combustibles fósiles, de pesticidas orgánicos, herbicidas y desecantes agrícolas, así como el uso del arsénico como un aditivo de alimentos para ganado y aves de corral (Campos *et al.*, 2007; Garelick *et al.*, 2008; Valenzuela *et al.*, 2009; Shankar *et al.*, 2014).

El arsénico se puede encontrar en diferentes estados de oxidación: arseniato As (V), arsenito As (III), As elemental (0) y arseniuro As (-III) (Tsai *et al.*, 2009); encontrándose más frecuentemente como arsenito o arseniato. El arsenito es 70 veces más tóxico que las especies metiladas y 10 veces más tóxico que el arseniato, el cual es poco soluble en agua y, por tanto, menos biodisponible (Kumaresan y Riyazuddin, 2001; Valenzuela *et al.*, 2009).

Cuando el arsénico se encuentra en formas insolubles, como un mineral en combinación con sulfuro y hierro: oropimente (por ejemplo: trisulfuro de arsénico  $As_2S_3$ ) y rejalgar (por ejemplo: Arsenopirita  $FeAsS$ ), no se considera tóxico. En cambio, cuando se encuentra en formas solubles, como As (III) y As (V), es tóxico para los organismos vivos (Santini *et al.*, 2000).

La presencia de As (V) y As (III) depende de factores físicos, químicos y biológicos, en este último, los microorganismos juegan un papel fundamental, ya que muchas bacterias son capaces de transformar As (III) a As (V) y viceversa, como un mecanismo de defensa de algunas especies bacterianas (Macur *et al.*, 2004; Stolz *et al.*, 2010).

El estado de oxidación del As y su movilidad se controlan fundamentalmente por las condiciones redox (potencial redox Eh) y el pH (Figura 1). En sistemas acuosos, el As se encuentra, en general, como especie disuelta, formando oxianiones.

El As (III) se encuentra como  $H_3AsO_3$  y sus correspondientes productos de disociación ( $H_4AsO_3^+$ ,  $H_2AsO_3^-$ ,  $HAsO_3^{2-}$  y  $AsO_3^{3-}$ ), los cuales, en condiciones oxidantes, son dominantes a pH alcalinos. Sin embargo,

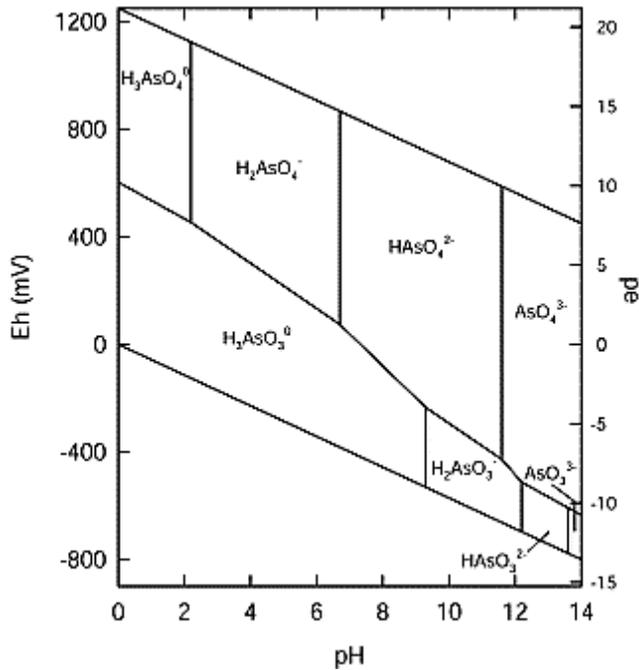


Figura 1. Eh (potencial redox) y pH de las especies acuosas de arsénico en un sistema  $\text{As-O}_2\text{-H}_2\text{O}$  a 25 °C y 1 bar de presión total (Smedley y Kinniburgh, 2002).

la forma sin carga del As (III)  $[\text{As}(\text{OH})_3]$  es dominante en ambientes reducidos y anóxicos, siendo así el más tóxico y difícil de eliminar. Por su parte el As (V) está presente en la forma  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  y sus correspondientes productos de disociación ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$  y  $\text{AsO}_4^{3-}$ ), siendo dominante bajo condiciones oxidantes a pH ácidos en ambientes acuosos y aeróbicos (Oremland y Stolz,

2003; Campos *et al.*, 2007; Tsai *et al.*, 2009; Bowell *et al.*, 2014) (Figura 2).

La comprensión del comportamiento geoquímico del arsénico y su movilización es importante para el desarrollo de estrategias que ayuden en la descontaminación de agua y suelo afectados por la contaminación de arsénico (Sarkar *et al.*, 2013).

### Toxicidad de las Especies de Arsénico

El arsénico (As) es considerado dentro de las toxinas esenciales porque se requiere en pequeñas cantidades para el crecimiento y el metabolismo, pero es tóxico en altas concentraciones (Krumova *et al.*, 2008). La toxicidad para los humanos de un compuesto con arsénico depende en gran medida de su forma química, diferenciándose dos grupos de compuestos: inorgánicos y orgánicos. Los compuestos inorgánicos del arsénico son los más tóxicos y aparecen, sobre todo, en aguas, donde se encuentran principalmente en forma de pentóxido de arsénico ( $\text{As}_2\text{O}_5$ ) o trióxido de arsénico ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ). La toxicidad de estos compuestos depende del estado de oxidación, estado físico, solución o tamaño de las partículas de polvo, la velocidad de absorción en las células, la velocidad de eliminación y la solubilidad en el medio biológico. Además, la exposición a compuestos de arsénico inorgánico se ha asociado a diversos tipos de cánceres como de hígado, pulmones y piel, así como a diabetes (Basu *et al.*, 2014).

Por otra parte, los compuestos orgánicos de arsénico se encuentran frecuentemente en alimentos y suponen

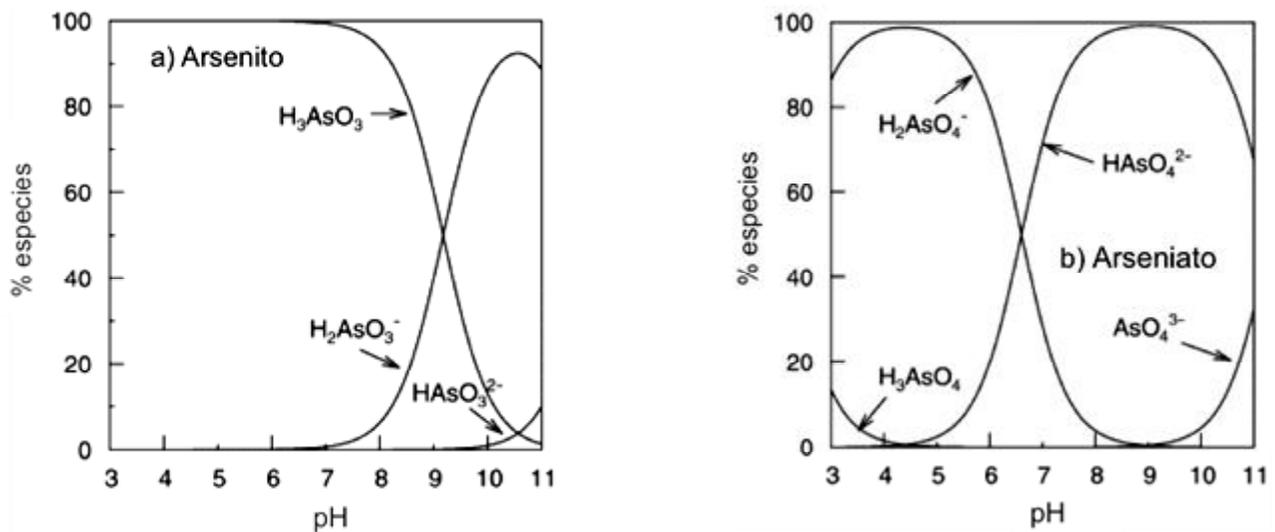


Figura 2. Especiación de a) arsenito y b) arseniato en función del pH. Las condiciones redox se han elegido de tal manera que el estado de oxidación indicado domina la especiación en ambos casos (Smedley y Kinniburgh, 2002).

la vía principal de exposición de la población al arsénico (Aragonés, 2001; Ferrer, 2003).

La escala de toxicidad de los compuestos de arsénico decrece en el siguiente orden: arsina ( $H_3As$ ) > arsenito (As III) > arseniato (As V) > compuestos arsenicales > arsénico elemental. El arsénico elemental no es común y las arsinas orgánicas solo se encuentran en ambientes muy reducidos (Mandal y Suzuki, 2002; Tsai *et al.*, 2009; Calvaca *et al.*, 2013).

De todos los compuestos de arsénico, el gas arsina se considera la forma más tóxica, seguida del arsenito, arseniatos y los compuestos orgánicos del arsénico. La arsina es un gas incoloro más denso que el aire, el cual se forma al contacto del hidrógeno con el arsénico. El gas ingresa al organismo por vía respiratoria y pasa directo a la circulación, donde actúa enzimáticamente sobre la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa de los eritrocitos, oxidando la hemoglobina y formando metahemoglobinuria, reduciendo en forma drástica el contenido de glutación de los glóbulos rojos, lo que la convierte en uno de los agentes hemolíticos más potentes (Bucio, 2004).

El As (III) entra en las células a un pH neutro por acuagliceroporinas (proteínas de transporte de glicerol) en bacterias, levaduras y mamíferos, y su toxicidad reside en su capacidad para unirse a los grupos sulfhidrilo de los residuos de cisteína en las proteínas, lo que

las inactiva y lo hace altamente tóxico. También actúa como disruptor endócrino mediante la unión a receptores hormonales e interfiere con la señalización de las células (Santini y vanden Hoven, 2004; Krumova *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2009).

Por su parte, la toxicidad del As (V) se debe principalmente a que puede sustituir al fosfato, pues posee una estructura análoga y, por consiguiente, puede inhibir la fosforilación oxidativa y entrar a las células a través del sistema de transporte del fosfato (Santini y vanden Hoven, 2004; Tsai *et al.*, 2009; Rosen *et al.*, 2011).

### El Arsénico en el Medio Ambiente

El arsénico puede penetrar en el aire, el agua y el suelo a través de tormentas de polvo y aguas de escorrentía, por lo que la contaminación por arsénico está muy extendida debido a su fácil dispersión (Emsley, 2001; Gillispie *et al.*, 2015). Cuando hay mayor presencia geológica natural de arsénico, se pueden encontrar altos niveles en aguas subterráneas (Figura 3), como es el caso de Bangladesh, India, China, Taiwán, Mongolia, Chile, Argentina, México y numerosos lugares de Estados Unidos de Norteamérica (Anawar *et al.*, 2003; Mondal *et al.*, 2006; Campos *et al.*, 2007).

Las principales fuentes de contaminación de arsénico por causa humana son la quema de carbón y la fundición



Figura 3. Distribución de acuíferos con problemas de As en el mundo (Smedley y Kinniburgh, 2002).

de metales industriales y, más recientemente, la industria de semiconductores y la liberación de minerales ricos en arsénico durante la extracción minera de otros compuestos (Mukhopadhyay *et al.*, 2002).

La contaminación de aguas subterráneas por arsénico es una grave amenaza para la humanidad, ya que el arsénico puede incorporarse fácilmente en la cadena alimenticia y favorecer su distribución de amplia difusión en todo el reino animal y vegetal (Mandal y Suzuki, 2002; Rakib y Bhuiyan, 2014).

Dependiendo de las condiciones físico-químicas del medio ambiente, algunos compuestos de arsénico se pueden solubilizar fácilmente en agua y, de ahí, ser tomados por los microorganismos, dando lugar a altos niveles de biodisponibilidad (Tsai *et al.*, 2009).

Debido a su toxicidad, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera perjudicial para el ser humano el consumo de agua con una concentración de arsénico superior a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ . Este metaloide también ocupa el primer lugar en la lista de productos contaminantes de agua de la Agencia de Protección Ambiental (EPA), por lo que en 2006 se redujo en Estados Unidos la concentración de arsénico en agua potable de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (WHO, 2003; EPA, 2006).

En México es en la Norma Oficial Mexicana 127 (NOM-127-SSA1-1994) donde se establecen los límites permisibles de calidad del agua para uso y consumo humano que deben cumplir los sistemas de abastecimiento públicos y privados, siendo  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  la concentración límite de arsénico en el agua potable según Norma Mexicana modificada en 2000 (NOM-127-SSA1-1994) (Cuadro 1). Por otra parte, en la Norma Oficial Mexicana 147 (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004) se establece la concentración límite de arsénico para suelo de uso agrícola/residencial/comercial, siendo ésta de  $22 \text{mg kg}^{-1}$ .

**Cuadro 1. Límite máximo de concentración de arsénico (As) en agua potable.**

Organismo	Concentración As
	$\mu\text{g L}^{-1}$
Organización Mundial de la Salud	10
Agencia de Protección Ambiental (2006)	10
NOM-127-SSA1-1994 (2000)	25

## La Problemática del Arsénico en la Comarca Lagunera

México posee una compleja geología, con rocas ígneas, sedimentarias y un ambiente tectónico activo, factores que predisponen a la contaminación del medio ambiente natural de las aguas subterráneas, siendo el arsénico una de las principales causas de efectos adversos en la salud por la ingestión de aguas subterráneas contaminadas con este metaloide (Armienta y Segovia, 2008; Jasso-Pineda *et al.*, 2015).

La problemática de contaminación por arsénico se localiza principalmente en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Hidalgo, Nuevo León, Puebla, Sonora y San Luis Potosí. El área afectada es de aproximadamente  $3200 \text{km}^2$ , siendo la Comarca Lagunera, en los estados de Coahuila y Durango, la región donde se reportan las mayores concentraciones. La primera intoxicación crónica por arsénico en esta región se reportó en 1958, y desde entonces se habla de casos por contaminación endémica (Cebrián *et al.*, 1994; Del Razo *et al.*, 1994; Ramírez, 2008; Rosas-Castor *et al.*, 2014).

La Comarca Lagunera es una de las áreas más importantes de la agricultura y ganadería; además, es la principal cuenca lechera en el país. Por lo tanto, la explotación del agua subterránea es un componente importante de su crecimiento económico. Sin embargo, esto ha causado una continua elevación de la concentración de arsénico en el agua del subsuelo, la cual se utiliza para consumo animal, humano y riego agrícola. A su vez, el uso de esta agua para riego puede producir altos niveles de arsénico en el pasto y contribuir a que aumenten los niveles de arsénico en el ganado y sus productos derivados (Rosas *et al.*, 1999; Armienta y Segovia, 2008; Ramírez, 2008).

En esta región existe el problema de hidroarsenicismo crónico regional endémico (HACRE) que es una enfermedad causada por el consumo de agua contaminada con arsénico. El arsénico se acumula en el organismo, en la orina, piel, uñas de los dedos y cabello por exposición crónica, y a ciertas concentraciones ocasiona afecciones severas (Iliná *et al.*, 2009; Basu *et al.*, 2014).

Las altas concentraciones de As en la Comarca Lagunera se deben principalmente a las características

geológicas del área. La movilización del As, así como su presencia en el agua subterránea, son producto de las reacciones de disolución de óxidos de Fe y desorción debido a los valores altos de pH (Mejía-González *et al.*, 2014).

Una investigación fue realizada por Rosas *et al.* (1999) en las explotaciones lecheras de la zona para determinar la distribución de arsénico en el ambiente agrícola. El contenido de arsénico en pozos agrícolas varió de 7 a 740  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Cuadro 2). En el suelo, las concentraciones de arsénico llegaron a 30  $\mu\text{g g}^{-1}$  y éste se encontró retenido principalmente en las fracciones del limo y arcilla. El suelo de la Comarca Lagunera está constituido principalmente por arcilla con bajo contenido de materia orgánica y un pH alcalino ( $> 8$ ). El arsénico en los suelos normalmente se limita a la fracción de arcilla que contiene aluminio amorfo y oxihidróxidos de hierro.

### Procesos de Remoción de Arsénico

Los residuos generados de las actividades antropogénicas que involucran el uso del arsénico han ocasionado la contaminación de numerosos sitios, por lo que es importante tomar medidas para la eliminación de este elemento de aguas y suelo con presencia de arsénico.

Existen diversos tratamientos para la remoción de arsénico del agua, los cuales se basan en métodos químicos; generalmente se realiza un paso previo de oxidación que transforma el As (III) a As (V), ya que el As (III) tiene una carga eléctrica neutra a pH de 4 a 10 mientras que el As (V) presenta una carga eléctrica negativa que hace más eficiente su remoción. Posteriormente, el As se remueve del agua por técnicas convencionales, basadas en fenómenos de interacciones físico-químicas a nivel superficial en las que se incluyen: precipitación-coprecipitación, coagulación y filtración, ósmosis inversa, adsorción, intercambio iónico y

sedimentación (Katsoyiannis *et al.*, 2004; Vaclavikova *et al.*, 2008). Para la elección de uno de estos tratamientos se debe tener en cuenta su eficiencia, costos, tamaño de población a la que sirve, condiciones de mercado, entre otros (Simeonova *et al.*, 2004; Dastidar y Wang, 2009; Kim *et al.*, 2010; Carro y Francisca, 2013; Basu *et al.*, 2014).

El paso de oxidación de As (III) se lleva a cabo generalmente utilizando oxígeno, ozono, hipoclorito, cloro, permanganato, peróxido de hidrógeno y radiación UV; sin embargo, estos procesos químicos pueden dar lugar a la formación de subproductos perjudiciales o difíciles de eliminar del agua. Por lo tanto, esta etapa se puede sustituir por una oxidación biológica mediante la utilización de microorganismos debido a la alta resistencia y tolerancia que tienen hacia las formas inorgánicas del arsénico y a la capacidad que pueden presentar para transformarlo (Wang y Zhao, 2009). Así, la oxidación microbiana representa una estrategia alternativa que puede ayudar en la preservación del medio ambiente por la eliminación de contaminación secundaria (Ahmed, 2001; Ghurye y Clifford, 2001; Simeonova *et al.*, 2004; Dastidar y Wang, 2009; Ito *et al.*, 2012; Bahar *et al.*, 2013; Huang, 2014).

Diversos estudios que involucran el tratamiento biológico de agua contaminada con arsénico se han realizado en los últimos años con el fin de optimizar el inóculo, el diseño del biorreactor así como de los parámetros cinéticos y fisicoquímicos para obtener mayores eficiencias de remoción.

Mondal *et al.* (2008) utilizaron un reactor de biocolumna, la cual contenía a la bacteria *Ralstonia eutropha* MTCC 2487 inmovilizada en carbón activado granular. Esta bacteria pertenece al grupo de las bacterias reductoras de As (V), por lo que el mecanismo de dicho reactor consistió en acumular el As (III) producido en el tratamiento de agua residual que contenía concentraciones proporcionales tanto de As (V) como de As (III). Después de tres días de operación, 99% del arsénico fue removido del agua por bio-adsorción. A pesar de la excelente eficiencia demostrada por este sistema, los autores resaltan ciertos problemas importantes que surgen al tratar de emplear esta estrategia. El primero involucra la regeneración de la columna con una solución de lavado, y el segundo, la disposición de dicha solución que ahora se encontrará saturada con arsénico.

Como ya se ha indicado, la oxidación de As (III) es preferida, ya que el producto As (V) es más fácil de

**Cuadro 2. Concentraciones de arsénico en pozos de la Comarca Lagunera (Rosas *et al.*, 1999).**

Sitio	Concentración
	$\mu\text{g L}^{-1}$
Francisco I. Madero	740
Tlahualilo	590
San Pedro	490

remover, por lo tanto la búsqueda y el empleo de microorganismos capaces de oxidar As (III) se ha vuelto fundamental a la hora de implementar sistemas de tratamiento de aguas. Así, Le *et al.* (2012) aislaron y caracterizaron un consorcio quimiolitotrófico de bacterias con capacidad de oxidar As (III), el cual enriquecieron con el propósito de emplearlo en un futuro como inóculo para un biorreactor.

La bacteria *Rhodococcus equi*, aislada de agua contaminada con arsénico, fue inmovilizada en una cama de celulosa para el tratamiento tanto de agua sintética como de agua naturalmente contaminada en un reactor escala laboratorio. Utilizando diversas concentraciones de arsénico (en la forma  $As_2O_3$ ) que variaron entre las 50 a 100 ppb, se obtuvo una eficiencia máxima de 95% de remoción de arsénico (Bag *et al.*, 2010). En otro estudio a escala laboratorio, se probó la eficiencia de gránulos de porcelana cubiertos con *Azotobacter* y cemento (Gauri *et al.*, 2011). En este caso, se comparó la eficiencia de remoción de arsénico en reactores tipo batch entre los gránulos que contenían tanto la bacteria como el cemento con aquellos que solo contenían la bacteria. Los resultados de los investigadores demostraron que se obtenía un mayor rendimiento de remoción (96%) con los gránulos que contenían cemento en lugar de utilizar solo biomasa (65%). En este caso, el cemento actuó como un agente adsorbente.

En 2012, Dastidar y Wang reportaron el uso de *Thiomonas arsenivorans* str. b6 en un biorreactor de lecho empacado. Se mantuvo un influente de As (III) de 500-4000 mg L<sup>-1</sup>, y un tiempo de residencia hidráulica (TRH) de 0.2-1 día durante 137 días. Posterior a este tiempo se obtuvo una eficiencia de oxidación de arsenito de 48.2 a 99.3%. En ese mismo año, Ito *et al.*, aislaron bacterias de la especie *Ensifer adhaerens*, las cuales fueron utilizadas para tratar agua residual sintética. En este caso se obtuvo una eficiencia máxima de oxidación

de As de 92%, manteniendo un influente de 1 mg L<sup>-1</sup> de As (III) con un tiempo de retención de 1 h.

Estudios a escala piloto también se han realizado. Michon *et al.* (2010) utilizaron un consorcio bacteriano CAs01 aislado de una mina de oro como inóculo de un reactor piloto de dos camas biológicas, el cual trató agua sintética, obteniendo una eficiencia de oxidación de más de 90%. Los autores sugirieron que la remoción total de arsénico podía lograrse por medio de un soporte sólido como hidróxido de hierro o hierro elemental con arena y, por consecuencia, en un estudio posterior, investigaron tanto la oxidación de As (III) así como la remoción de éste y As (V) en dos reactores diferentes, utilizando la bacteria *Thiomonas arsenivorans* como inóculo (Wan *et al.*, 2010). En ambos reactores se añadió una cama de arena; sin embargo, a uno de ellos se le agregó hierro elemental y al otro no. El funcionamiento de los dos reactores se monitoreó por 33 días, encontrándose que la adición de hierro favoreció la remoción química de As (III), así como de As (V), teniendo una influencia sobre la actividad y diversidad de la bacteria.

La búsqueda y la optimización de sistemas para el tratamiento de agua y suelos contaminados que engloben tanto tratamientos biológicos como fisicoquímicos aún continúan, pero se espera que en un futuro puedan implementarse a gran escala.

### Mecanismos de Transformación de Arsénico por Bacterias

Las bacterias poseen una gran diversidad metabólica, debido a su capacidad de obtener energía empleando diferentes reacciones de óxido-reducción; por lo tanto, un número importante de microorganismos son capaces de utilizar arsénico, ya sea en su forma oxidada de arseniato o en la forma reducida de arsenito, para su metabolismo (Cuadro 3). Las bacterias pueden superar

**Cuadro 3. Reacciones que catalizan microorganismos que metabolizan arsénico (As) (Stolz y Oremland, 1999).**

Metabolismo	Reacción
Reducción de arseniato mediante la oxidación de lactato	$CH_3CHOHCOO^- + 2HAsO_2^- + 3H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 2HAsO_2 + 2H_2O + HCO_3^-$
Reducción de arseniato mediante oxidación de acetato	$CH_3COO^- + 4HAsO_4^{2-} + 7H^+ \rightarrow 2HCO_3^- + 4HAsO_2 + 4H_2O$
Oxidación de arsenito dependiente de oxígeno	$2HAsO_2 + 2H_2O + O_2 \rightarrow 2HAsO_4^{2-} + 4H^+$

los efectos tóxicos del arsénico por medio de un decremento en las concentraciones de sus iones o modificándolo químicamente a especies relativamente menos tóxicas (Anderson *et al.*, 1992; Mukhopadhyay *et al.*, 2002; Mandal *et al.*, 2007).

En la naturaleza, existen diversas especies de microorganismos que responden al arsénico a través de diferentes mecanismos; éstos incluyen reacciones de óxido-reducción mediadas por enzimas, metilación, quelación, exclusión e inmovilización. Es por esto que comprender el nivel molecular y genético del metabolismo del arsénico será una base de conocimientos importante para el desarrollo de enfoques eficientes en la biorremediación de arsénico, lo que representará una forma amigable con el ambiente para la eliminación de metales pesados (Krumova *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2009; Slyemi y Bonnefoy, 2012).

Los microorganismos que transforman el As (V) y As (III) son diversos en su filogenia y fisiología (Cavalca *et al.*, 2013). Para la transformación del arsénico existen tres principales sistemas enzimáticos: arsenito oxidasa, arseniato reductasa y arseniato reductasa citoplasmática (Figura 4). Un gran número de bacterias Gram negativas y Gram positivas emplean un mecanismo común de resistencia a arsénico basado en el operón *arsRDABC* que codifica cinco genes, el cual corresponde al sistema de desintoxicación de arsénico más estudiado e implicado en la reducción del arseniato a arsenito mediante la enzima arseniato reductasa que expulsa el arsenito fuera de la célula usando una bomba de expulsión de arsénico

(Croal *et al.*, 2004; Silver y Phung, 2005; Tsai *et al.*, 2009; Kruger *et al.*, 2013).

En este ámbito, Ghosh *et al.* (2015) concluyeron que un ciclo de oxidación-reducción entre As (III) y As (V) es necesario para garantizar la supervivencia de las bacterias que habitan nichos contaminados por arsénico. En su estudio, probaron la resistencia de 6 cepas bacterianas aisladas de la rizósfera de la planta hiperacumuladora *Pteris vittata* al arsenito o arseniato y la relación que existe entre ésta, el transporte de fósforo y la producción de sideróforos. Aunque la mayoría de las cepas aisladas reducían As (V), la existencia de bacterias capaces de oxidar As (III) eran necesarias para establecer un equilibrio entre las concentraciones de ambas especies de arsénico y, de esta forma, evitar la acumulación de arsénico dentro de la célula.

Por lo tanto, es preciso reconocer que debe existir una cooperación entre los diferentes sistemas y mecanismos para transformar el arsénico que se encuentra en los microorganismos con el fin de aprovechar dicha relación para optimizar las técnicas de biorremediación, sobre todo aquellas que se aplican *in situ*.

### La Enzima Arsenito Oxidasa

Green (1918) describió por primera vez la oxidación del arsenito por bacterias en *Bacillus arsenoxydans*; y a la fecha se han reportado un gran número de bacterias oxidantes de arsenito, las cuales en su mayoría se tratan

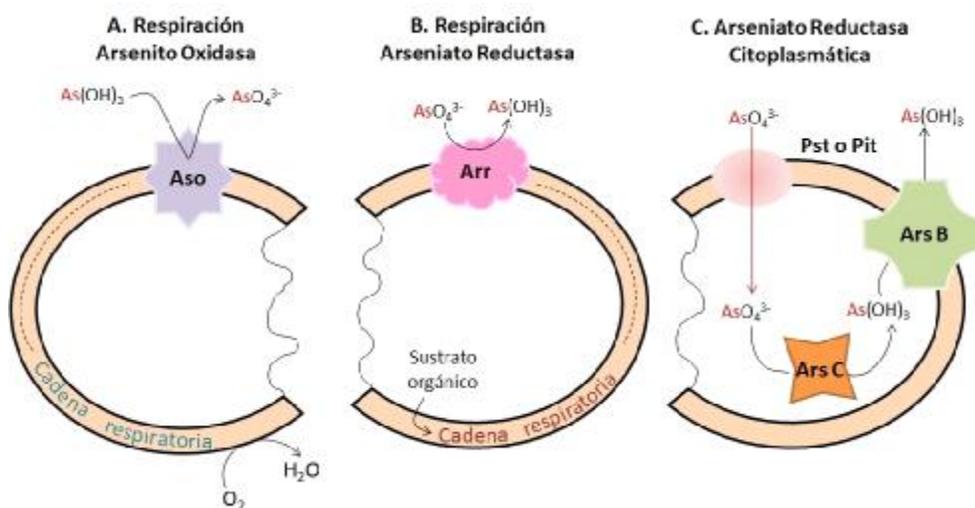
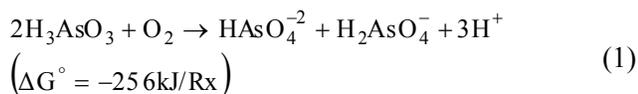


Figura 4. Ubicación y funciones de los sistemas respiratorios arsenito oxidasa y arseniato reductasa, así como del sistema arseniato reductasa citoplasmática (Silver y Phung, 2005).

de organismos heterótrofos. Algunas procariotas heterótrofas pueden oxidar el As (III) a As (V) bajo condiciones aerobias o anaerobias. Entre este grupo se encuentran miembros de la clase  $\beta$ -Proteobacteria (Muller *et al.*, 2003) y especies de los géneros *Alcaligenes* (Anderson *et al.*, 1992), *Thermus* (Gihring *et al.*, 2001), *Hydrogenophaga* (van den Hoven y Santini, 2004), *Arthrobacter* (Prasad *et al.*, 2009), *Ralstonia* (Lieutaud *et al.*, 2010) y *Pseudomonas* (Rehman *et al.*, 2010). Algunas bacterias quimiolitotótrofas también pueden utilizar el As (III) como un donador de electrones y obtener energía de la oxidación de éste, las cuales incluyen microorganismos de las clases  $\alpha$ - $\gamma$ -Proteobacterias, y de los géneros *Rhizobium/Agrobacterium* (Santini *et al.*, 2000) y *Thiomona* (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002).

La oxidación de arsenito por microorganismos con metabolismo quimiolitotótrofo es usualmente preferida a la de los microorganismos con metabolismo heterótrofo, ya que tienen requisitos nutricionales más bajos y poseen un potencial menor para la producción de metabolitos orgánicos nocivos. Sin embargo, existen pocos estudios sobre bacterias con metabolismo quimiolitotótrofo capaces de oxidar arsenito (Santini *et al.*, 2000; Dastidar y Wang, 2009; Bahar *et al.*, 2013; Rangel-Montoya y Balagurusamy, 2015). Ilialetdinov y Abdrashitova (1981) reportaron la primera bacteria quimiolitotótrofa con capacidad de oxidar el arsenito de un cultivo de *Pseudomonas arsenitoxidans*, sin embargo este microorganismo se ha perdido.

En las bacterias heterótrofas, la oxidación se considera más un mecanismo de desintoxicación que uno que pueda apoyar en el crecimiento de la bacteria (Ecuación 1), aun cuando la oxidación de arsenito a arseniato de acuerdo con la siguiente reacción es exérgica (Santini *et al.*, 2000).



La secuencia de la reacción anterior se completa cuando los electrones o equivalentes reductores generados en el curso de la reacción pasan a un aceptor de electrones fisiológico, el cual puede ser un tipo de citocromo *c* o azurina (Ellis *et al.*, 2001; Heath *et al.*, 2012).

La oxidación del arsenito permite a los microorganismos tolerar niveles más altos de arsénico y, aunque el arsenito también puede metilarse, éste primero se oxida directamente a arseniato, el cual es menos tóxico, antes de la metilación. Anteriormente, se había pensado que este último mecanismo era utilizado como un paso de desintoxicación, pero estudios recientes sugieren que no todos los productos metilados de arsénico son menos tóxicos que el arseniato (Anderson *et al.*, 1992; Mukhopadhyay *et al.*, 2002; Tsai *et al.*, 2009; Slyemi y Bonnefoy, 2012).

Por otro lado, la oxidación microbiana del arsenito es un eslabón crítico en el ciclo biogeoquímico del arsénico, ya que la conversión de arsenito a especies menos móviles y tóxicas afecta la movilidad y distribución de las especies de arsénico. Además, este proceso favorece la colonización de otras especies bacterianas no tolerantes a arsénico, importantes en los demás ciclos biogeoquímicos. (Campos *et al.*, 2007; Mandal *et al.*, 2007; Huang, 2014).

El mecanismo de oxidación del arsenito involucra a los genes *aioA* y *aioB* que codifican para la subunidad grande catalítica molibdopterina y la subunidad pequeña tipo Rieske de la enzima arsenito oxidasa AioAB (van Lis *et al.*, 2012). Anteriormente, estos genes se denominaban de diferente manera en organismos: *aox*, en aquellos identificados en un cultivo de la  $\beta$ -proteobacteria ULPAs1; *aro* o *aso*, en la cepa NT-26, una bacteria quimiolitotótrofa que oxida As (III), y en *A. faecalis* (Weeger *et al.*, 1999; Santini *et al.*, 2000). Sin embargo, el uso de diferentes denominaciones causaba confusiones, especialmente para anotaciones del genoma y también porque cada nombre generaba un conflicto con otras nomenclaturas. Por lo tanto, para tener más coherencia en la designación de los genes involucrados en la oxidación del arsenito, Lett *et al.* (2012) propusieron esta nueva nomenclatura unificando así los nombres de los genes involucrados en la oxidación aeróbica procariota del arsenito.

La enzima arsenito oxidasa consiste en dos subunidades heterólogas ( $\alpha_1\beta_1$ ), las cuales están asociadas íntimamente, y juntas presentan una masa molecular aproximadamente de 100 kDa. La subunidad grande catalítica (825 residuos) tiene un centro de molibdeno y un cluster [3Fe-4S] y un peso aproximado de 85 kDa; por su parte, la subunidad pequeña (133 residuos) contiene un cluster tipo Rieske [2Fe-2S] y una masa molecular aproximada de 14 kDa (Figura 5 y 6).



Figura 5. Modelo de la Arsenito Oxidasa, con el sitio activo en forma de embudo representado en la parte superior, el cofactor Mo-pterin, y aminoácidos que lo enlazan (Mukhopadhyay *et al.*, 2002).

Esta enzima es miembro de la familia dimetil sulfóxido (DMSO) reductasas de las enzimas que contienen molibdeno. Aunque la subunidad grande de la arsenito oxidasa tiene relativamente poca homología de secuencia en comparación con los otros cinco miembros de la DMSO reductasas para las que se han determinado

estructuras, la topología general es similar tanto respecto de la división en cuatro dominios como para el pliegue de los dominios individuales. La diferencia más significativa entre la arsenito oxidasa y las otras enzimas es la ausencia de cualquier enlace covalente entre la proteína y el átomo de molibdeno (Anderson *et al.*, 1992; Ellis *et al.*, 2001; Santini y vanden Hoven, 2004; Heinrich-Salmeron *et al.*, 2011). Esta enzima se encuentra generalmente unida a la superficie externa de la membrana interna, como se ha observado en *Alcaligenes faecalis* (Anderson *et al.*, 1992), *Herminiimonas arsenicoxydans* str. ULPAs1 (Muller *et al.*, 2006), *Thiomonas* sp. str. 3As (Duquesne *et al.*, 2008), y *Arthrobacter* sp. (Prasad *et al.*, 2009); o puede estar presente en el espacio periplasmático como en *Rhizobium* sp. str. NT-26 (Santini *et al.*, 2000) e *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14 (vanden Hoven y Santini, 2004). La arsenito oxidasa se expresa en la fase estacionaria de los microorganismos; sin embargo, cuando el medio es enriquecido con extracto de levadura, la enzima aparece al final de la fase exponencial (Philips y Taylor, 1976).

Anderson *et al.* (1992) purificaron y caracterizaron la arsenito oxidasa (Cuadro 4) de *Alcaligenes faecalis*, reportando una actividad enzimática específica de

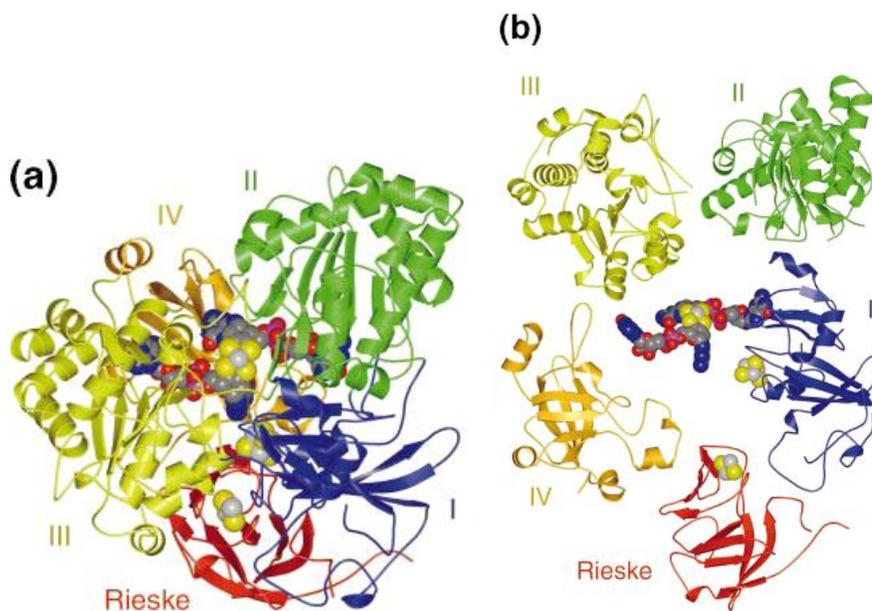


Figura 6. Diagrama de la arsenito oxidasa. (a) Dominios I-IV de la subunidad grande están representados en azul, verde, amarillo y naranja, respectivamente. (b) Vista ordenada de la arsenito oxidasa que muestra los dominios individuales (Ellis *et al.*, 2001). La subunidad Rieske está representada en rojo. También se muestran el cofactor molibdeno y los cluster [3Fe-4S] y [2Fe-2S].

**Cuadro 4. Actividades específicas reportadas de arsenito oxidasa.**

Microorganismo	Actividad enzimática específica $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$	Condiciones óptimas		Valores cinéticos	Referencia
		pH	Temperatura $^{\circ}\text{C}$		
<i>Alcaligenes faecalis</i>	0.023 (Extracto enzimático) 2.88 (Enzima purificada)	6.0	25	$V_{\text{max}}$ : 2.88 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ Km: 8 $\mu\text{M}$	Anderson <i>et al.</i> , 1992
<i>Rhizobium</i> sp. (str. NT-26) (Quimiolitotrófica)	0.06 Extracto enzimático (0.04% extracto de levadura en MS) 0.24 Extracto enzimático (MS)	5.5	†	$V_{\text{max}}$ : 2.4 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ Km: 61 $\mu\text{M}$	Santini <i>et al.</i> , 2000
<i>Hydrogenophaga</i> sp. (str. NT-14)	0.09 (Extracto enzimático) 5.6 (Enzima purificada)	5.5	†	$V_{\text{max}}$ : 6.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ Km: 35 $\mu\text{M}$	vanden Hoven y Santini, 2004
<i>Arthrobacter</i> sp.	0.01 (Extracto enzimático) 16 (Enzima purificada)	6.0	25	$V_{\text{max}}$ : 2.45 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ Km: 26 $\mu\text{M}$	Prasad <i>et al.</i> , 2009
04-SP1qa	0.162 (Extracto enzimático)	8.0	40	$V_{\text{max}}$ : 3.37 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ Km: 5.20 $\mu\text{M}$	Rangel-Montoya y Balagurusamy, 2015
14-SP1qh	0.16 (Extracto enzimático)	7.0	40	$V_{\text{max}}$ : 3.70 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ Km: 14.39 $\mu\text{M}$	Rangel-Montoya y Balagurusamy, 2015

† No reportaron temperatura óptima.

0.023  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  en el extracto crudo y de hasta 2.88  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  en la enzima purificada, observando la mayor actividad enzimática a pH 6.

Santini *et al.* (2000) reportaron la actividad enzimática de una cepa quimiolitotrófica NT-26 identificada después como una especie de *Agrobacterium/Rhizobium*. Al cultivarse esta cepa con 0.04% de extracto de levadura, al igual que Anderson *et al.* (1992), se alcanzó una actividad específica enzimática de 0.06  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  en el extracto crudo, la cual fue tres veces mayor que la obtenida en el extracto de *A. faecalis*, y 10 veces mayor cuando la cepa se creció en medio mínimo de arsenito sin extracto de levadura alcanzando una actividad enzimática específica de 0.24  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína en el extracto celular.

Por su parte, Prasad *et al.* (2009) llevaron a cabo la purificación de esta enzima de *Arthrobacter* sp. y reportaron una actividad en el extracto crudo de 0.01  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  y de hasta 16  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  en la enzima purificada, exhibiendo la máxima actividad a pH 6 y a una temperatura de 25  $^{\circ}\text{C}$ .

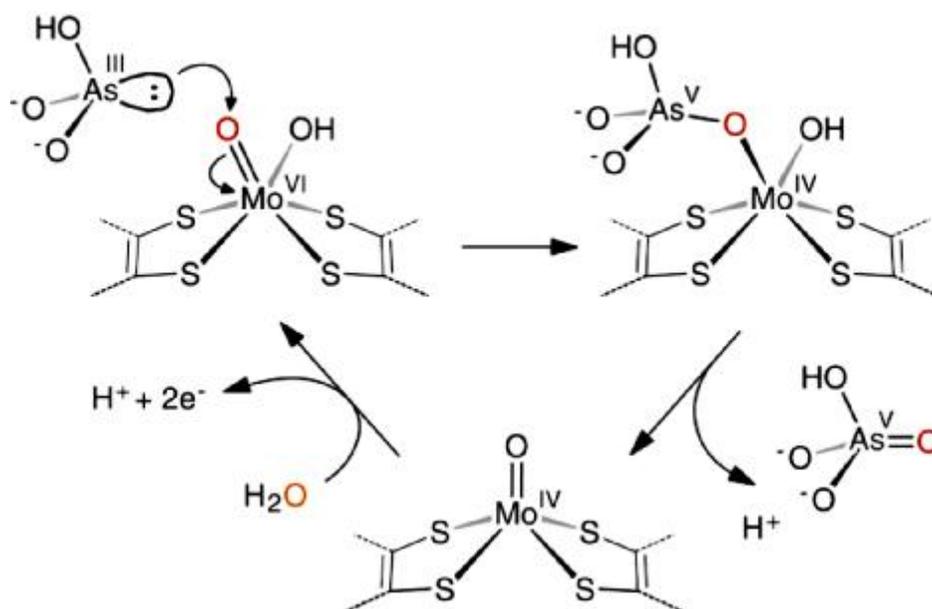
En 2010, Lieutaud *et al.* caracterizaron la enzima arsenito oxidasa de *Ralstonia* sp. str. 22. aislada de muestras de suelo de la mina Salsigne al sur de Francia. Mediante un análisis filogenético encontraron que el grupo de genes que codifican para la arsenito oxidasa fue resultado de una transferencia horizontal de genes de una especie relacionada estrechamente con *Achromobacter* sp. str. SY8. Además, reportaron como inhibidores de la arsenito oxidasa sustratos de sulfito y sulfuro, con lo que resaltan la relación del metabolismo del arsénico y el azufre. Recientemente, Rangel-Montoya y Balagurusamy (2015) aislaron 25 cepas bacterianas oxidantes de arsenito de suelos contaminados con arsénico de la Comarca Lagunera con el fin de caracterizar sus parámetros cinéticos y evaluar su potencial como agentes para la remediación de suelos contaminados en esta región. Las temperaturas óptimas reportadas por los autores llegaron a los 40  $^{\circ}\text{C}$ , demostrando que la enzima arsenito oxidasa de estas cepas está adaptada al clima árido de la Comarca Lagunera.

### Mecanismo de Reacción y Regulación de la Arsenito Oxidasa

El arsenito, al encontrarse en una forma sin carga, entra a la célula mediante el transportador de acuaporina (Huang, 2014). Posteriormente, la arsenito oxidasa cataliza la oxidación de arsenito de acuerdo con el siguiente mecanismo: el acceso al centro de molibdeno es proporcionado por un canal hidrofílico; cerca de la base de dicho canal está un conjunto de residuos de aminoácidos, que incluyen His195, Glu203, Arg419, y His423, los cuales representan el sitio de unión de la enzima con el sustrato. La forma oxidada del centro de molibdeno posee un grupo terminal Mo=O; el sitio de unión del arsenito, que se transporta por acuagliceroporinas. Los residuos indicados posicionan al par de electrones del arsénico adecuadamente para el ataque nucleofílico sobre el grupo Mo=O del centro de molibdeno oxidado. Esta reacción produce molibdeno reducido mediante la unión coordinada del producto (arseniato) con el metal (Figura 7). La reacción reductora del ciclo catalítico se completa por la disociación de los productos de la esfera de coordinación de molibdeno para generar la enzima reducida en la estructura

cristalina. Finalmente, el ciclo catalítico se completa con la reacción oxidativa, que implica la reoxidación, con la adición y la desprotonación de agua para regenerar el grupo oxo (Mo=O), que devuelve la enzima al estado oxidado (Ellis *et al.*, 2001; Dastidar y Wang, 2009).

La regulación de los genes que codifican para este enzima también ha sido investigada. Un estudio realizado por Slyemi *et al.* (2013) sobre la organización y regulación del operón de la arsenito oxidasa en *Thiomonas arsenitoxydans* reveló la presencia de un cluster de genes diferente al cluster de *aioAB* que codifica las subunidades de AioAB. Este segundo cluster está compuesto por dos genes que codifican un citocromo *c* y un metalorregulador perteneciente a la familia ArsR/SmtB. Estos genes se co-transcriben con *aioAB*, por lo que sugieren que el citocromo *c* está involucrado en la oxidación del arsenito y que este operón se encuentra regulado por el metalorregulador. Un estudio posterior por el mismo grupo reveló la presencia de otro metalorregulador adicional dentro del misma familia ArsR/SmtB, AioF, que solo se encuentra en *T. arsenitoxydans*, lo que parece indicar que la regulación del operón de la arsenito oxidasa difiere entre las bacterias que lo contienen (Moinier *et al.*, 2014).



**Figura 7. Representación esquemática del mecanismo de reacción de la oxidación de arsenito por la enzima arsenito oxidasa.** El átomo de oxígeno que es transferido desde el agua al arsenito durante el ciclo catalítico es resaltado con rojo (Ellis *et al.*, 2001).

*Pseudomonas xanthomarina* str. S11 (Koechler *et al.*, 2015), aislada de una mina de oro antigua contaminada con arsénico en Salsigne, Francia, presentó una alta capacidad para oxidar arsenito a arseniato en presencia de hasta 42.72 mM de arsenito. Además, Koechler *et al.* (2015) realizaron estudios sobre la expresión de la arsenito oxidasa encontrando la presencia de tres clusters *ars*. Uno de éstos se encuentra en un plásmido organizado como una isla de arsénico el cual contiene el operón *aioAB* y los genes involucrados en el metabolismo del fósforo. Esta “isla de arsénico” se encuentra conservada en un gran número de bacterias con capacidad de oxidar arsénico y se sugiere que su evolución y presencia en distintos grupos de bacterias es resultado tanto de transferencia vertical como horizontal (Li *et al.*, 2013). Además, los autores sugieren que la presencia en la isla de los genes *pho*, *pst* y *phn*, involucrados en el metabolismo de fosfato en condiciones de estrés, puede estar relacionada con el transporte y utilización de este elemento para funciones vitales, aun en presencia de grandes concentraciones de arsénico.

El genoma de *Rhizobium* sp. NT-26, una bacteria autótrofa aislada de una mina de oro en Australia (Santini *et al.*, 2000), sugirió que la expresión de los genes de la “isla de arsénico”, localizada en un mega plásmido, está relacionada con la expresión de genes relacionados con la movilidad flagelar o formación de bio-películas, que se encuentran codificados en el cromosoma (Andres *et al.*, 2013). De esta manera, el metabolismo del arsénico parece ejercer una influencia en la exploración y colonización de nuevos nichos por parte de este microorganismo.

Aunque la capacidad de transformar arsénico se ha demostrado en un gran número de microorganismos, no cabe duda que aún se requieren estudios que ayuden a comprender la regulación y producción de las enzimas involucradas en este proceso con el fin de optimizar nuevos métodos que pueden aplicarse al tratamiento de aguas y suelos contaminados por arsénico. Estudios que involucran la modificación genética y el hallazgo de microorganismos capaces de transformar arsénico bajo condiciones extremas han aparecido en años recientes con el objetivo de optimizar la actividad de los organismos capaces de transformar arsénico para su aplicación en la remediación de agua y suelos contaminados de una manera más eficiente y ecológica (Kostal *et al.*, 2004; Ferrer *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2013; Osborne *et al.*, 2013; Dangayach *et al.*, 2014; Rahman *et al.*, 2014).

## CONCLUSIONES

La presencia de grandes concentraciones de arsénico en el medio ambiente es un problema en el ámbito mundial que tiene un impacto negativo en la salud humana y se incrementa más cada día debido a diferentes actividades antropogénicas. Es por esto que el estudio de microorganismos que exhiben la capacidad de transformar el arsénico, y en particular oxidar arsenito, es de particular interés para la descontaminación de suelos y aguas residuales y subterráneas con presencia de arsénico. La comprensión de las vías metabólicas involucradas en la transformación del arsénico molecular y genético representa un paso importante hacia el desarrollo de nuevos mecanismos y tecnologías de biorremediación que ayuden a la preservación del medio ambiente a través del empleo de microorganismos para la oxidación biológica del arsenito ya que ésta no conduce a una contaminación secundaria.

## LITERATURA CITADA

- Ahmed, M. F. 2001. An overview of arsenic removal technologies in Bangladesh and India. pp. 251-269. *In*: M. F. Ahmed, M. A. Ali, and Z. Adeel (eds.). Technologies for arsenic removal from drinking water: a compilation of papers presented at the International Workshop on Technologies for Arsenic Removal from Drinking Water. Bangladesh University of Engineering and Technology and United Nations University. Dhaka, Bangladesh.
- Alam, M. S., Y. Wu, and T. Cheng. 2014. Silicate minerals as a source of arsenic contamination in groundwater. *Water, Air, Soil Pollut.* 225: 2201-2215.
- Anawar, H., J. Akai, K. Komaki, H. Terao, T. Yosioka, T. Ishizuka, S. Safiullah, and K. Kikuo. 2003. Geochemical occurrence of arsenic in the groundwater of Bangladesh sources and mobilization processes. *J. Geochem. Explorat.* 77: 109-131.
- Anderson, G., J. Williams, and R. Hille. 1992. The purification and characterization of arsenite oxidase from *Alcaligenes faecalis*, a molybdenum-containing hydroxylase. *J. Biol. Chem.* 267: 23674-23682.
- Andres, J., F. Arsène-Ploetze, V. Barbe, C. Brochier-Armanet, J. Cleiss-Arnold, J. Y. Coppée, M. A. Dillies, L. Geist, A. Joublin, S. Koechler, F. Lassalle, M. Marchal, C. Médigue, D. Muller, X. Nesme, F. Plewniak, C. Proux, M. H. Ramírez-Bahena, C. Schenowitz, O. Sismeiro, D. Vallenet, J. M. Santini, and P. N. Bertin. 2013. Life in an arsenic-containing gold mine: Genome and physiology of the autotrophic arsenite-oxidizing bacterium *Rhizobium* sp. NT-26. *Genome Biol. Evol.* 5: 934-953.
- Aragón S., N., M. Palacios D., A. Avello de Miguel, P. Gómez R., M. Rodríguez, M. Martínez C. y M. J. Rodríguez B. 2001. Nivel de arsénico en abastecimientos de agua de consumo de origen subterráneo en la comunidad de Madrid. *Rev. Esp. Salud Públ.* 75: 421-432.

- Armenta, M. A. and N. Segovia. 2008. Arsenic and fluoride in the groundwater of Mexico. *Environ. Geochem. Health* 30: 345-353.
- Bag, P., P. Bhattacharya, and R. Chowdhury. 2010. Bio-Detoxification of arsenic laden ground water through a packed bed column of a continuous flow reactor using immobilized cells. *Soil Sediment Contaminat.* 19: 455-466.
- Bahar, M. M., M. Megharaj, and R. Naidu. 2013. Bioremediation of arsenic-contaminated water: Recent advances and future prospects. *Water Air Soil Pollut.* 224: 1722-1741.
- Basu, A., D. Saha, R. Saha, T. Ghosh, and B. Saha. 2014. A review on sources, toxicity and remediation technologies for removing arsenic from drinking water. *Res. Chem. Intermed.* 40: 447-485.
- Battaglia-Brunet, F., M. C. Dictor, F. Garrido, C. Crouzet C., D. Morin, K. Dekeyser, M. Clarens, and P. Baranger. 2002. An arsenic(III)-oxidizing bacterial population: Selection, characterization, and performance in reactors. *J. Appl. Microbiol.* 93: 656-667.
- Bowell, R. J., C. N. Alpers, H. E. Jamieson, D. K. Nordstrom, and J. Majzlan. 2014. The environmental geochemistry of arsenic-an overview-. *Rev. Mineral. Geochem.* 79: 1-16.
- Bucio J., W. 2004. Intoxicación por arsina. *Rev. Médica IMSS* 43: 57-60.
- Campos, V., C. Valenzuela, M. Alcorta, G. Escalante, and M. Mondaca. 2007. Isolation of Arsenic resistance bacteria from volcanic rocks of Quebrada Camarones, Parina Region, Chile. *Gayana* 71: 150-155.
- Carro P., M. E. and F. M. Francisca. 2013. Arsenic entrapment in reactive columns of residual soils. *J. Environ. Eng.* 139: 788-795.
- Cavalca, L., A. Corsini, P. Zaccheo, V. Andreoni, and G. Muyzer. 2013. Microbial transformations of arsenic: perspectives for biological removal of arsenic from water. *Future Microbiol.* 8: 753-768.
- Cebrián, M. E., M. A. Albores, G. García-Vargas, L. M. Del Razo, and P. Ostrosky-Wegman. 1994. Chronic arsenic poisoning in humans: The case of Mexico. pp. 93-107. *In: J. O. Nriagu (ed.). Arsenic in the Environment, Part II: Human Health and Ecosystem Effects.* John Wiley and Sons. New York, NY, USA.
- Cha, Y., Y. M. Kim, J. W. Choi, S. Sthiannopkao, and K. H. Cho. 2015. Bayesian modeling approach for characterizing groundwater arsenic contamination in the Mekong River basin. *Chemosphere* DOI:10.1016/j.chemosphere.2015.02.045.
- Chen, J., J. Qin, Y. G. Zhu, V. Lorenzo, and B. P. Rosen. 2013. Engineering the soil bacterium *Pseudomonas putida* for arsenic methylation. *Appl. Environ. Microbiol.* 79: 4493-4505.
- Croal, L., J. Gralnick, D. Malasarn, and D. Newman. 2004. The genetics of geochemistry. *Annu. Rev. Genet.* 38: 175-202.
- Dangayach, S., P. Sharma, P. Singhai, and N. Gupta. 2014. Microbial removal of arsenic: Mechanisms and applications. *As. J. Multidis. Stud.* 2: 159-170.
- Dastidar, A. and Y. Wang. 2009. Arsenite oxidation by batch cultures of *Thiomonas arsenivorans* strain b6. *J. Environ. Eng.* 135: 708-715.
- Dastidar, A. and Y. T. Wang. 2012. Modeling arsenite oxidation by chemoautotrophic *Thiomonas arsenivorans* strain b6 in a packed-bed bioreactor. *Sci. Total Environ.* 432: 113-121.
- Del Razo, L., J. Hernández, G. García Vargas, P. Ostrosky Wegman, C. Cortinas de Nava, and E. Cebrián. 1994. Urinary excretion of arsenic species in a human population chronically exposed to arsenic via drinking water. A pilot study. pp. 91-100. *In: W. R. Chappell, C. O. Abernathy, and C. R. Cothorn (eds.). Arsenic. Exposure and health.* Sci. Technol. Lett. Norwood, UK.
- Duquesne, K., A. Lieutaud, J. Ratouchniak, D. Muller, M. C Lett, and V. Bonnefoy. 2008. Arsenite oxidation by a chemoautotrophic moderately acidophilic *Thiomonas* sp: From the strain isolation to the gene study. *Environ. Microbiol.* 10: 228-237.
- Ellis, P., T. Conrads, R. Hille, and P. Kuhn. 2001. Crystal structure of the 100 kDa arsenite oxidase from *Alcaligenes faecalis* in two crystal forms at 1.64 Å and 2.03 Å. *Structure* 9: 125-132.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2006. Edition of the drinking water standards and health advisories. Environmental Protection Agency (EPA/822-R-06-013). Washington, DC, USA.
- Emsley, J. 2001. Nature's building blocks: An A-Z guide to the elements. Oxford University Press. New York, NY, USA.
- Ferrer, A. 2003. Intoxicación por metales. Metal poisoning. *Anal. Sis. San. Navarra* 26: 141-153.
- Ferrer, M., F. Martínez Abarca, and P. N. Golyshin. 2005. Mining genomes and 'metagenomes' for novel catalysts. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16: 588-593.
- Garelick, H., H. Jones, A. Dybowska, and E. Valsami-Jones. 2008. Arsenic pollution sources. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 197: 17-60.
- Gauri, S. S., S. Archanaa, K. C. Mondal, B. R. Pati, S. M. Mandal, and S. Dey. 2011. Removal of arsenic from aqueous solution using pottery granules coated with cyst of *Azotobacter* and portland cement: Characterization, kinetics and modeling. *Bioresour. Technol.* 102: 6308-6312.
- Ghurye, G. and D. Clifford. 2001. Laboratory study on the oxidation of Arsenic III to Arsenic V. EPA/600/R-01/021. (NTIS PB2001-108523). Environmental Protection Agency. Washington, DC, USA.
- Gihring, T. M., G. K. Druschel, R. McCleskey, R. Hamers, and J. Banfield. 2001. Rapid arsenite oxidation by *Thermus aquaticus* and *Thermus thermophilus*: Field and laboratory investigations. *Environ. Sci. Technol.* 35: 3857-3862.
- Gillispie, E. C., T. D. Sowers, O. W. Duckworth, and M. L. Polizzotto. 2015. Soil pollution due to irrigation with arsenic-contaminated groundwater: Current state of science. *Curr. Pollut. Rep.* 1: 1-12.
- Green, H. H. 1918. Description of a bacterium which oxidizes arsenite to arsenate, and of one which reduces arsenate to arsenite, isolated from a cattle-dipping tank. *South Afr. J. Sci.* 14: 465-467.
- Ghosh, P., B. Rathinasabapathi, M. Teplitski, and L. Q. Ma. 2015. Bacterial ability in AsIII oxidation and AsV reduction: Relation to arsenic tolerance, P uptake, and siderophore production. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.12.046.
- Heath, M. D., B. Schoepp-Cothenet, T. H. Osborne, and J. M. Santini. 2012. Arsenite oxidase. pp. 81-97. *In: J. M. Santini and S. A. Ward (ed.). The metabolism of arsenite.* CRC press. England.
- Heinrich-Salmeron, A., A. Cordi, C. Brochier-Armanet, D. Halter, C. Pagnout, E. Abbaszadeh-Fard, D. Montaut, F. Seby, P. Bertin, P. Bauda, and F. Arsène-Ploetze. 2011. Unsuspected diversity of arsenite oxidizing bacteria as revealed by widespread distribution of the *aoxB* gene in prokaryotes. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 4685-4692.

- Huang, J. H. 2014. Impact of microorganisms on arsenic biogeochemistry: A review. *Water Air Soil Pollut.* 225: 1848.
- Iliná, A., J. Martínez-Hernández, E. Segura-Ceniceros, J. Villarreal-Sánchez y K. Gregorio-Jáuregui. 2009. Biosorción de arsénico en materiales derivados de maracuyá. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25: 201-216.
- Ilialetdinov, A. N. and S. A. Abdrashitova. 1981. Autotrophic oxidation of arsenic by a culture of *Pseudomonas arsenitoxidans*. *Mikrobiologiya* 50: 197-204.
- Ito, A., J. Miura, N. Ishikawa, and T. Umita. 2012. Biological oxidation of arsenite in synthetic groundwater using immobilised bacteria. *Water Res.* 46: 4825-4831.
- Jasso-Pineda, Y., F. Díaz-Barriga, L. Yáñez-Estrada, F. J. Pérez-Vázquez y I. N. Pérez-Maldonado. 2015. DNA damage in Mexican children living in high-risk contaminated scenarios. *Sci. Total Environ.* 518: 38-48.
- Katsoyiannis, I. A., A. I. Zouboulis, and M. Jekel. 2004. Kinetics of bacterial As(III) oxidation and subsequent As(V) removal by sorption onto biogenic manganese oxides during groundwater treatment. *Ind. Eng. Chem. Res.* 43: 486-493.
- Kim, H. C., C. G. Lee, J. A. Park, and S. B. Kim. 2010. Arsenic removal from water using iron-impregnated granular activated carbon in the presence of bacteria. *J. Environ. Sci. Health* 45: 177-182.
- Kostal, J., R. Yang, C. H. Wu, A. Mulchandani, and W. Chen. 2004. Enhanced arsenic accumulation in engineered bacterial cells expressing *ArsR*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 4582-4587.
- Koehler, S., F. Arsène-Ploetze, C. Brochier-Armanet, F. Goulhen-Chollet, A. Heinrich-Salmeron, B. Jost, D. Lièvreumont, M. Philipps, F. Plewniak, P. N. Bertin, and M. C. Lett. 2015. Constitutive arsenite oxidase expression detected in arsenic-hypertolerant *Pseudomonas xanthomarina* S11. *Res. Microbiol.* 20: 1-10.
- Kruger, M. C., P. N. Bertin, H. J. Heipieper, and F. Arsène-Ploetze. 2013. Bacterial metabolism of environmental arsenic-mechanisms and biotechnological applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 3827-3841.
- Krumova, K., M. Nikolovska, and V. Groudeva. 2008. Isolation and identification of arsenic-transforming bacteria from arsenic contaminated sites in Bulgaria. *Biotechnol. Biotechnol. Eq.* 22: 721-728.
- Kumaresan, M. and P. Riyazuddin. 2001. Overview of speciation chemistry of arsenic. *Curr. Sci.* 80: 837-846.
- Le N., A., A. Sato, D. Inoue, K. Sei, S. Soda, and M. Ike. 2012. Bacterial community succession during the enrichment of chemolithoautotrophic arsenite oxidizing bacteria at high arsenic concentrations. *J. Environ. Sci.* 24: 2133-2140.
- Lett, M. C., D. Muller, D. Lièvreumont, S. Silver, and J. Santini. 2012. Unified nomenclature for genes involved in *Prokaryotic* aerobic arsenite oxidation. *J. Bacteriol.* 194: 207-208.
- Li, H., M. Li, Y. Huang, C. Rensing, and G. Wang. 2013. *In silico* analysis of bacterial arsenic islands reveals remarkable synteny and functional relatedness between arsenate and phosphate. *Front. Microbiol.* 4: 347-356. doi: 10.3389/fmicb.2013.00347.
- Lieutaud, A., R. van Lis, S. Duval, L. Capowiez, D. Muller, R. Lebrun, S. Lignon, M. L. Fardeau, M. C. Lett, W. Nitschke, and B. Schoepp-Cothenet. 2010. Arsenite oxidase from *Ralstonia* sp. 22: Characterization of the enzyme and its interaction with soluble cytochromes. *J. Biol. Chem.* 285: 20433-20441.
- Liu, S., F. Zhang, J. Chen, and G. Sun. 2011. Arsenic removal from contaminated soil via biovolatilization by genetically engineered bacteria under laboratory conditions. *J. Environ. Sci.* 23: 1544-1550.
- Macur, R., C. Jackson, L. Botero, T. McDermott, and W. Inskeep. 2004. Bacterial populations associated with the oxidation and reduction of arsenic in an unsaturated soil. *Environ. Sci. Technol.* 38: 104-111.
- Mandal, B. K. and K. T. Suzuki. 2002. Arsenic round the world: A review. *Talanta* 58: 201-235.
- Mandal, S. M., K. C. Mondal, S. Dey, and B. R. Pati. 2007. A rapid colony screening method for the detection of arsenate-reducing bacteria. *Indian J. Microbiol.* 47: 167-169.
- Mejía-González, M. A., L. González-Hita, R. Briones-Gallardo, A. Cardona-Benavides y P. Soto Navarro. 2014. Mecanismos que liberan arsénico al agua subterránea de la Comarca Lagunera, estados de Coahuila y Durango, México. *Tecnol. Cienc. Agua* 5: 71-82.
- Michon, J., C. Dagot, V. Deluchat, M. C. Dictor, F. Battaglia-Brunet, and M. Baudu. 2010. As(III) biological oxidation by CAsO1 consortium in fixed-bed reactors. *Process Biochem.* 45: 171-178.
- Moinier, D., D. Slyemi, D. Byrne, S. Lignon, R. Lebrun, E. Talla, and V. Bonnefoy. 2014. An *ArsR*/*SmtB* family member is involved in the regulation by arsenic of the arsenite oxidase operon in *Thiomonas arsenitoxydans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 80: 6413-6426.
- Mondal, P., C. B. Majumder, and B. Mohanty. 2006. Laboratory based approaches for arsenic remediation from contaminated water: Recent developments. *J. Hazardous Mat.* 137: 464-479.
- Mondal, P., C. B. Majumder, and B. Mohanty. 2008. Treatment of arsenic contaminated water in a laboratory scale up-flow biocolumn reactor. *J. Hazardous Mat.* 153: 136-145.
- Mukhopadhyay, R., B. Rosen, L. Phung, and S. Silver. 2002. Microbial arsenic: from geocycles to genes and enzymes. *FEMS Microbiol. Rev.* 26: 311-325.
- Muller, D., D. Lièvreumont, D. Simeonova, J. C. Hubert, and M. C. Lett. 2003. Arsenite oxidase *aox* genes from a metal-resistant beta-proteobacterium. *J. Bacteriol.* 185: 135-141.
- Muller, D., D. Simeonova, P. Riegel, S. Manganot, S. Koehler, D. Lièvreumont, P. N. Bertin, and M. C. Lett. 2006. *Herminiimonas arsenicoxydans* sp. nov., a metalloresistant bacterium. *Int. J. Syst. Evolut. Microbiol.* 56: 1765-1769.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-127-SSA1-1994 (modificada en 2000). 2000. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. México, D. F.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. 2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. México, D. F.
- Oremland, R. S. and J. M. Stolz. 2003. The ecology of arsenic. *Science* 300: 939-944.
- Osborne, T. H., M. D. Heath, A. C. Martin, J. A. Pankowski, K. A. Hudson-Edwards, and J. M. Santini. 2013. Cold-adapted arsenite oxidase from a psychrotolerant *Polaromonas* species. *Metallomics* 5: 318-324.
- Philips, S. E. and M. L. Taylor. 1976. Oxidation of arsenite to arsenate by *Alcaligenes faecalis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 32: 392-399.

- Prasad, K. S., V. Subramanian, and J. Paul. 2009. Purification and characterization of arsenite oxidase from *Arthrobacter* sp. *Biometals* 22: 711-721.
- Rahman S., K. H. Kim, S. K. Saha, A. M. Swaraz, and D. K. Paul. 2014. Review of remediation techniques for arsenic (As) contamination: A novel approach utilizing bio-organisms. *J. Environ. Manage.* 134: 175-185.
- Rakib, M. A. and M. Bhuiyan. 2014. Arsenic contamination: Food toxicity and local perception. *Int. J. Sci. Res. Environ. Sci.* 2: 1-7.
- Ramírez V., R. 2008. Arsénico en el agua subterránea de la Comarca Lagunera. ¿es realmente un problema grave? *Buenaval* 1: 46-58.
- Rangel-Montoya, E. A. y N. Balagurusamy. 2015. Bioprospección de bacterias oxidantes de arsenito de suelo de la comarca lagunera. *Rev. Chapingo Serie Cienc. Forest. Amb.* 21: 41-56. DOI: 10.5154/r.rchscfa.2014.05.024.
- Rehman, A., S. Awais, and S. Hasnain. 2010. Isolation and characterization of arsenite oxidizing *Pseudomonas lubricans* and its potential use in bioremediation of wastewater. *African J. Biotechnol.* 9: 1493-1498.
- Rosas, I., R. Belmont, A. Armienta, and A. Baez. 1999. Arsenic concentrations in water, soil, milk and forage in Comarca Lagunera, Mexico. *Water Air Soil Pollut.* 112: 133-149.
- Rosas-Castor, J. M., J. L. Guzmán-Mar, J. M. Alfaro-Barbosa, A. Hernández-Ramírez, I. N. Pérez-Maldonado, A. Caballero-Quintero, and L. Hinojosa-Reyes. 2014. Evaluation of the transfer of soil arsenic to maize crops in suburban areas of San Luis Potosi, Mexico. *Sci. Total Environ.* 497: 153-162.
- Rosen, B. P., A. A. Ajees, and T. R. McDermott. 2011. Life and death with arsenic. *Arsenic life: an analysis of the recent report "A bacterium that can grow by using arsenic instead of phosphorus"*. *Bioessays* 33: 350-357.
- Santini, J. M., L. I. Sly, R. D. Schnagl, and J. M. Macy. 2000. A new chemolithoautotrophic arsenite-oxidizing bacterium isolated from a gold mine: Phylogenetic, physiological, and preliminary biochemical studies. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 92-97.
- Santini, J. M. and R. N. vanden Hoven. 2004. Molybdenum-containing arsenite oxidase of the chemolithoautotrophic arsenite oxidizer NT-26. *J. Bacteriol.* 186: 1614-1619.
- Sarkar, A., S. K. Kazy, and P. Sar. 2013. Characterization of arsenic resistant bacteria from arsenic rich groundwater of West Bengal, India. *Ecotoxicology* 22: 363-376.
- Shankar, S., U. Shanker, and N. Shikha. 2014. Arsenic contamination of groundwater: A review of sources, prevalence, health risks, and strategies for mitigation. *Sci. World J.* 2014.304524, DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/304524>.
- Silver, S. and L. T. Phung. 2005. Genes and enzymes involved in bacterial oxidation reduction of inorganic arsenic. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 599-608.
- Simeonova, D., D. Lièvreumont, F. Lagarde, D. A. E. Muller, V. I. Groudeva, and M. C. Lett. 2004. Microplate screening assay for the detection of arsenite-oxidizing and arsenate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 237: 249-253.
- Slyemi, D. and V. Bonnefoy. 2012. How prokaryotes deal with arsenic. *Environ. Microbiol. Rep.* 4: 571-586.
- Slyemi, D., D. Moinier, E. Talla, and V. Bonnefoy. 2013. Organization and regulation of the arsenite oxidase operon of the moderately acidophilic and facultative chemoautotrophic *Thiomonas arsenitoxydans*. *Extremophiles* 17: 911-920.
- Smedley, P. L. and D. G. Kinniburgh. 2002. A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.* 17: 517-568.
- Stolz, J. F. and R. S. Oremland. 1999. Bacterial respiration of arsenic and selenium. *FEMS Microbiol. Rev.* 23: 615-627.
- Stolz, J. F., P. Basu, and R. S. Oremland. 2010. Microbial arsenic metabolism: New twists on an old poison. *Microbe* 5: 53-59.
- Tsai, S. L., S. Singh, and W. Chen. 2009. Arsenic metabolism by microbes in nature and the impact on arsenic remediation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20: 659-667.
- Vaclavikova, M., G. P. Gallios, S. Hredzak, and S. Jakabsky. 2008. Removal of arsenic from water streams: An overview of available techniques. *Clean Techn. Environ. Policy* 10: 89-95.
- Valenzuela, C., V. L. Campos, J. Yañez, C. A. Zarror, and M. A. Mondaca. 2009. Isolation of arsenite-oxidizing bacteria from arsenic-enriched sediments from Camarones River, Northern Chile. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 82: 593-596.
- van Lis, R., W. Nitschke, T. P. Warelow, L. Capowicz, J. M. Santini, and B. Schoepp-Cothenet. 2012. Heterologously expressed arsenite oxidase: A system to study biogenesis and structure/function relationships of the enzyme family. *Biochim. Biophys. Acta* 1817: 1701-1708.
- vanden Hoven, R. N. and J. M. Santini. 2004. Arsenite oxidation by the heterotrophy *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14: The arsenite oxidase and its physiological electron acceptor. *Biochim. Biophys. Acta* 1656: 148-155.
- Wan, J., J. Klein, S. Simon, C. Joulian, M. C. Dictor, V. Deluchat, and C. Dagot. 2010. AsIII oxidation by *Thiomonas arsenivorans* in up-flow fixed-bed reactors coupled to As sequestration onto zero-valent iron-coated sand. *Water Res.* 44: 5098-5108.
- Wang, S. and X. Zhao. 2009. On the potential of biological treatment for arsenic contaminated soils and groundwater. *J. Environ. Manage.* 90: 2367-2376.
- Weeger, W., D. Lièvreumont, M. Perret, F. Lagarde, J. C., Hubert, M. Leroy, and M. C. Lett. 1999. Oxidation of arsenite to arsenate by a bacterium isolated from an aquatic environment. *BioMetals* 12: 141-149.
- WHO (World Health Organization). 2003. Arsenic in drinking-water. Guidelines for drinking-water quality Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud (WHO/SDE/WSH/03.04/75). Geneva, Switzerland. (Consulta: abril 12, 2014).
- Yamamura, S. and S. Amachi. 2014. Microbiology of inorganic arsenic: From metabolism to bioremediation. *J. Biosci. Bioengineer.* 118: 1-9.