

BIOADSORCIÓN DE HIERRO UTILIZANDO QUITOSANO (*Poliglucosamina*), AL DETERMINAR METALES PESADOS EN LOS EFLUENTES INDUSTRIALES DEL RÍO TINAQUILLO Y RÍO TAMANACO, DEL ESTADO COJEDES*

BIOADSORPTION OF IRON USING QUITOSAN (POLIGLUCOSAN) TO DETERMINE HEAVY METALS IN INDUSTRIAL EFFLUENTS OF TINACO AND TINAQUILLO RIVES ON COJEDES STATES.

Anaís Balza

*Informe final de investigación. Código: 31107101

IMSc. en Ingeniería Ambiental. Doctorante en Ciencias de la Educación (ULAC). Profesora Asistente. Programa Ingeniería. UUNELLEZ-San Carlos. e-mail: anaibalza@hotmail.com

Recibido: 03-12-2009 / Aceptado: 22-02-2010

RESUMEN

En el presente trabajo, se estudia la factibilidad de emplear adsorbentes naturales, preparados con materia prima de origen natural y de muy bajo costo, permitiendo la remoción de metales pesados presentes en las aguas residuales de algunas industrias, dando respuesta a los problemas planteados en el área de la Zona Industrial de Tinaquillo, municipio Falcón, estado Cojedes. Como biosorbente se utilizó quitosano comercial (Sigma Aldrich) y quitosano sintetizado en el laboratorio por un método modificado, siendo este un biopolímero que posee variados usos, entre ellos su utilidad en el tratamiento de aguas residuales. El estudio realizado determinó que en uno de los tramos estudiados del Río Tinaquillo se detectó la presencia de metales pesados como Aluminio (Al), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Hierro (Fe) y Zinc (Zn), y en concentraciones fuera de la norma según el MARN. Las pruebas de ensayos realizadas para la remoción consistió en variar cantidades de bioadsorbente quitosano (Sigma Aldrich) de 0,25; 0,50 y 1,0 g en 50 mL de muestra, a diferentes tiempos de contacto: 5, 15 y 20 horas, en medio ácido y a temperatura del medio. Al estudiar la remoción de metales pesados, se tomó en cuenta la remoción del hierro (Fe), por ser éste el metal presente en mayor concentración en la muestras, resultando que el bioadsorbente actuó eficientemente en la adsorción del mismo, determinándose una remoción total del 100%, al utilizar 1,0 g de quitosano a un tiempo de contacto de 20 horas, pH=4 y a 26°C, estudiadas por Espectrofotometría de Absorción Molecular de UV-V. Además se comprobó que el bioadsorbente quitosano tiene propiedades

antibacteriales, ya que las muestras de agua captadas, presentan alto contenido de coliformes totales y fecales y al ser tratadas con el mismo, éstas resultaron en un rango < 2 , detectándose un bajo crecimiento bacteriano. De esta forma se está frente a una alternativa viable, ya que la metodología aplicada es sencilla, de muy bajo costo y de gran factibilidad, considerando que el bioadsorbente puede extraerse de las conchas de camarones, los cuales también son desechos contaminantes de la industria camaronera, lográndose con ello descontaminar efluentes que contienen altas concentraciones de metales pesados, que resultan ser muy tóxicos y dañan el ecosistema.

Palabras clave: Metales Pesados, Bioadsorción, Quitosano, Río Tinaquillo.

SUMMARY

In this paper, we study the feasibility of using natural adsorbents prepared with raw material of natural origin and low cost, allowing the removal of heavy metals in wastewater from industries, responding to the specific issues raised in the area of Industrial Zone of Tinaquillo, Falcón Municipality, State Cojedes. Chitosan commercial (Sigma Aldrich) and chitosan synthesized in the laboratory by a modified method was use as biosorbent ubrich is a biopolymer that has many uses, including its usefulness in the treatment of wastewater. The study found that in one of the sections studied of the Tinaquillo River was detected the presence of heavy

metals such as Aluminum (Al), Copper (Cu), Chromium (Cr), Iron (Fe) and Zinc (Zn), at concentrations exceeding MARN rule. The assay tests performed for removal was consist in varying amounts of chitosan Bioadsorbente (Sigma Aldrich) of 0.25, 0.50 and 1.0 g in 50 mL of sample at different contact times: 5, 15 and 20 hours in acid medium and temperature of the medium. In considering the removal of heavy metals were taken into account the removal of iron (Fe), as the metal in greatest concentration in the samples and found that the bioadsorbent acted efficiently in self removal, so getting a total removal of 100%, using 1.0 g of chitosan commercial at a contact time of 20 hours, pH = 4 and 26 °C, studied by Molecular Absorption Spectrophotometry UV-V. In addition it was found that chitosan bioadsorbente also has antibacterial properties, because the water samples captured, have high content of total and fecal coliforms when treated with it, these resulted in a range <2, showing a low bacterial growth. Thus we face viable alternative because the methodology is simple, very low cost and high feasibility whereas bioadsorbent can be extracted from shrimp shells, which are also polluting waste in the shrimp industry, being obtained with it decontaminate effluents containing high concentrations of heavy metals that are very toxic and cause damages to the ecosystem.

Keywords: *Heavy metals, Bioadsorción, Chitosan, Tinaquillo River.*

INTRODUCCIÓN

Las actividades industriales generan contaminación a gran escala con metales pesados en el ambiente. En el caso de aguas superficiales, pueden comprometer seriamente el uso de este recurso como fuente de agua para el consumo humano (Vullo, 2003). Una alternativa para la remoción de metales pesados es la utilización de quitosano, ya que diversos estudios han demostrado que este material adsorbente es capaz de fijar una gran variedad de metales. En este trabajo, se empleó el quitosano como bioadsorbente y a través de un estudio experimental, se determinó su capacidad y eficiencia al remover uno de los metales pesados presente en estos efluentes de la zona industrial de Tinaquillo municipio Falcón, del estado Cojedes, en este caso el metal removido fue hierro, por ser el metal presente en mayor concentración y la metodología establecida permitió optimizar algunas de las condiciones fisicoquímicas para su remoción; siendo este el principal propósito de la investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

Se considera la población de estudio, los efluentes industriales de la zona industrial de Tinaquillo, específicamente en un tramo del Río Tinaquillo y del Río Tamanaco. La recolección de las muestras dependió de los procedimientos analíticos empleados y los propósitos del estudio. El objetivo del muestreo fue el de obtener una parte representativa del material bajo estudio (cuerpo de agua, efluente industrial, agua residual, y otros.) para la cual se analizaron las variables fisicoquímicas de interés. En éste trabajo, se estudiaron 2 tramos de las cuencas del Río Tinaquillo y Río Tamanaco, para un total de 8 muestras recolectadas. Teniendo como variable dependiente: Concentración de metal adsorbido y variables independientes: Tiempo de contacto y cantidad de bioadsorbente.

Optimización de las condiciones de trabajo: (Según CARTAYA *et al*, 2007)

La capacidad de adsorción de los metales a estudiar sobre el bioadsorbente quitosano, se hace ajustándose a pH ácido entre 3 y 4 con HNO₃ concentrado y a 26°C. La cantidad de quitosano a utilizar varía entre 0,25 y 1,0 g en 50 mL de muestra, en un tiempo

de retención entre 5 y 20 horas.

Proceso de Adsorción de los metales pesados (Según DÍAZ *et al*, 2003)

La adsorción de los metales se estudió a través de un proceso mecánico, con lecho fijo de quitosano empaquetado, que opera en continuo, con flujo descendente. Las variables estudiadas fueron: el tiempo de retención, la cantidad de quitosano y pH controlado del medio entre 3 y 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se puede apreciar según Cuadro 1, que las aguas afluentes del Río Tinaquillo donde se descargan residuos provenientes de las actividades industriales, contienen metales pesados; que sobrepasan el límite de acuerdo con la norma permitida, según MARN. Estos metales son: Aluminio, Cobre, Cromo, Hierro y Zinc, siendo el hierro el que presentó mayor concentración en las muestras estudiadas.

Cuadro 1: Determinación de metales pesados (Río Tamanaco) Río La Aguadita. Sector Tamanaco. La Aguadita, Municipio Lima Blanco. (Temporada seca y de lluvia).

Nº	PARÁMETRO	Método*	Cant. (mg/L) (AB1-I)	Cant. (mg/L) (AB2 I)	Cant. (mg/L) (AB3 I)	Método**	AB2-S (mg/L)	Límite (mg/L)
1	Aluminio Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	5,93	0,2
2	Cadmio, Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	ND	0,01
3	Cobalto Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	ND	1,0
4	Cobre Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	21,07	1,0
5	Cromo Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	7,14	0,1
6	Estaño Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	ND	0,01
7	Hierro Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	475,25	1,0
8	Níquel Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	ND	0,05
9	Plomo Total	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	ND	0,05
10	Zinc Total,	ICP – AES	ND	ND	ND	DREL 2400	73,90	5,0

AB1-I= muestra pozo las babas, AB2-I= muestra puente aguadita, AB3-I= muestra sector los mangos (temporada de lluvia), AB-2S= muestra puente aguadita (temporada seca). ND: No Detectable, valor menor al límite de detección del método analítico utilizado. *Espectroscopia por Inducción de plasma Acoplado. Fuente: Laboratorios Larsa (ULA). ** Fotometría simple (sobres productos en polvo). Fuente: Espectrofotómetro HACH DREL 2400 (MARN).

Según los reportes observados en la Cuadro 1, se percibe que en el afluente no se detectó la presencia de metales pesados durante la temporada de lluvia, se presume se deba a la temporada en que fueron tomadas las muestras, ya que en este periodo lluvioso, los ríos se tornan bastante torrentosos, lo que le

permite estar más oxigenado, y de acuerdo a la demanda química de oxígeno (DQO), apreciada en los datos reportados, ciertos metales que pudieran estar presentes fluyan a través de la corriente continua y pueden quedar depositados aguas más abajo, o lo que se prevé, estos son adsorbidos en la capa del subsuelo (biomagnificación) lo que no permitió fluir con las aguas del río de este tramo estudiado (fenómeno éste a considerar para investigaciones futuras), porque las muestras de aguas captadas para este tramo en temporada seca según los datos obtenidos se detectó concentraciones de algunos metales pesados fuera del límite permitido, aunque bajas en comparación a las concentraciones de estos en las aguas del Río Tinaquillo

En la Cuadro 2 Se observa según lo reportado una alta concentración de algunos metales pesados como Al, Cu, Cr, Fe y Zn; en los efluentes del Río Tinaquillo debido a algunas industrias existentes en el parque industrial del municipio Falcón, dedicadas al ramo metal mecánica, que no cuentan con modernos sistemas de control de sus residuos nocivos.

Cuadro 2: Determinación de metales pesados (Río Tinaquillo) Quebrada La Negra, Sector Caja de Agua. Tinaquillo, Municipio Falcón. (Temporada seca y de lluvia)

PARÁMETRO	METODO*	AB4-S (mg/L)	METODO**	AB4-I (mg/L)	LIMITE (mg/L)
Aluminio	ICP – AES	8,22	DREL 2400	2,33	0,2
Cadmio Metal	ICP – AES	ND	DREL 2400	ND	0,01
Cobalto Metal	ICP – AES	ND	DREL 2400	ND	1,0
Cobre Metal	ICP – AES	22,50	DREL 2400	8,40	1,0
Cromo Metal	ICP – AES	ND	DREL 2400	5,43	0,1
Estaño Metal	ICP – AES	ND	DREL 2400	ND	0,01
Hierro Metal	ICP – AES	842,67	DREL 2400	421,40	1,0
Níquel Metal	ICP – AES	ND	DREL 2400	ND	0,05
Plomo Metal	ICP – AES	ND	DREL 2400	ND	0,05
Zinc Metal	ICP – AES	239,29	DREL 2400	44,56	5,0

AB4-S = muestra tomada Quebrada La Negra. (Temporada seca). AB4-I = muestra tomada Quebrada La Negra (temporada de lluvia). ND: No Detectable, valor menor al límite de detección del método analítico utilizado *Espectroscopia por Inducción de plasma Acoplado. Fuente: Laboratorios Larsa (ULA). ** Fotometría simple (sobres productos en polvo) Fuente: Espectrofotómetro HACH DREL 2400 (MARN).

Lo que demuestra que el metal hierro sigue presente en mayor concentración con respecto a los otros metales, esto en la temporada seca, aunque en concentraciones más bajas, para la temporada de

lluvia, (véase Cuadro 1 y 2), lo que se presume que los iones de hierro deben fluir con la corrientes provenientes de las aguas de estos efluentes, pero no los remueve completamente, considerándose que con esta situación, debe realizarse durante toda la época del año, el tratamiento a los efluentes para la remoción de estos componentes tóxicos como son los metales pesados, debido a que las concentraciones siguen sobrepasando el límite estipulado en el decreto 883 del MARN. Además que por efecto de la bioacumulación éstos deben quedar retenidos en algunos organismos vivos a lo largo de la cadena trófica, exhibiendo concentraciones sucesivamente mayores al ascender el nivel

TABLA 3: Cantidad de Hierro (Fe) removido. Quebrada La Negra, Temporada seca. quitosano comercial (Sigma Aldrich)

COD	Cant. quitos (g)	Tiempo retenc. (horas)	Metal remov	Cantidad metal presente (mg/L)	Cantidad metal removido (mg/L)	COD.	Cant. quitos (g)	Tiempo retenc. (horas)	Metal remov	Cantidad metal presente (mg/L)	Cantidad e metal removido (mg/L)
E-1	0,25	5	Fe	842,67	635,34	E-15	0,50	15	Fe	842,67	216,76
E-2	0,25	5	Fe	842,67	635,34	E-16	1,00	15	Fe	842,67	216,76
E-3	0,25	5	Fe	842,67	635,34	E-17	1,00	15	Fe	842,67	216,76
E-4	0,50	5	Fe	842,67	432,00	E-18	1,00	15	Fe	842,67	216,76
E-5	0,50	5	Fe	842,67	432,00	E-19	0,25	20	Fe	842,67	106,46
E-6	0,50	5	Fe	842,67	432,00	E-20	0,25	20	Fe	842,67	106,46
E-7	1,00	5	Fe	842,67	432,00	E-21	0,25	20	Fe	842,67	106,46
E-8	1,00	5	Fe	842,67	432,00	E-22	0,50	20	Fe	842,67	106,46
E-9	1,00	5	Fe	842,67	432,00	E-23	0,50	20	Fe	842,67	106,46
E-10	0,25	15	Fe	842,67	432,00	E-24	0,50	20	Fe	842,67	106,46
E-11	0,25	15	Fe	842,67	432,00	E-25	1,00	20	Fe	842,67	ND
E-12	0,25	15	Fe	842,67	432,00	E-26	1,00	20	Fe	842,67	ND
E-13	0,50	15	Fe	842,67	216,76	E-27	1,00	20	Fe	842,67	ND
E-14	0,50	15	Fe	842,67	216,76						

E-1= ensayo N° 1, E-2= ensayo N° 2. E-n= ensayo N° n. Fuente: Laboratorio de aguas FUNDAUNELLEZ

TRATAMIENTO DE LA MUESTRA CON QUITOSANO PARA REMOVER METALES

Se determinó la remoción del metal Hierro (Fe), en las muestras estudiadas. La Cantidad de adsorbente pesado fue de 0,25, 0,50 y 1,0 g, para un tiempo de retención de 5, 15 y 20 horas, pH controlado de 3 a 4 y a 26°C, en 50 mL de muestra.

REMOCIÓN DE METALES PESADOS CON QUITOSANO

Los resultados obtenidos al utilizar quitosano como adsorbente, utilizado para el estudio de extracción de iones metálicos en soluciones acuosas, demostraron la capacidad de éste al adsorber metales pesados, debido a que es un biopolímero formado a base

de D-glucosamina el cual posee grupos funcionales capaces de extraer iones metálicos. A partir de las pruebas de ensayos estudiadas, se demuestra a través de los análisis espectrofotométricos realizados la remoción de hierro (Fe), que se presentó en mayor concentración según la norma permitida para cursos de agua superficial en ríos. Se observa según los datos reportados la tendencia a que la concentración del metal hierro disminuye al ser tratado con el biopolímero, lo que sería la optimización más adecuada, específicamente cuando se utilizó 1,0 g de quitosano a pH=4 y en un tiempo de retención de 20 horas en una cantidad de muestra de 50 mL, siendo esta la mejor forma de realizar la experiencia, apreciada en la Tabla 3, donde resultó ser un 100% eficiente, ya que no se detectó la presencia del metal, resultando nula (0%) la cantidad de metal en la solución analizada (véase Tabla 3, ensayo E-25, E-26, E27).

En 50 mL de muestra de Quebrada La Negra; 1,0 g de Quitosano, a pH= 4 y T= 26°C.

Cuadro 4: Actividad antimicrobiana del adsorbente Quitosano

QUEBRADA	PARÁMETRO	Cantidad presente antes	Cantidad presente después
La Negra	Coliformes fecales	21000	< 2
	Coliformes totales	21000	< 2

Fuente: Laboratorio de aguas FUNDAUNELLEZ

ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL DEL QUITOSANO

En cuanto a la actividad antibacteriana de este bioadsorbente, los resultados obtenidos en la Cuadro 4, muestran el efecto inhibitor del quitosano al realizar los análisis microbiológicos, con una cantidad de 1,0 g de quitosano y de 50 mL de muestra, sobre el medio de cultivos microbianos, dado que en los mismos disminuye casi en un 99% el crecimiento de bacterias. En este sentido, a partir de estos fenómenos observados, se podría ampliar los estudios a otros microorganismos, a fin de experimentar su efecto inhibitor contra una cepa patógena y determinar la concentración mínima inhibitoria del bioadsorbente, cuidando el empleo de tratamientos térmicos elevados, que implicarían mayores costos energéticos, además que para la remoción de metales pesados no es necesario un aumento de temperatura del medio. Así empleando quitosano permitiría remover los

metales y eliminar parte de los microorganismos durante el proceso de descontaminación en efluentes de aguas superficiales.

DESORCIÓN DE METALES PESADOS CON EDTAYNaCl1,8M

Al experimentar la evaluación de desorción de iones metálicos en este caso hierro, resultó que en solución con EDTA se remueve mayor cantidad de hierro, puesto que el resultado de los lavados arroja mayor captación iones metálicos desorbidos del quitosano, quedando un 32,24% de éste en la solución en comparación cuando se utilizó NaCl 1,8M, que resultó remover un 19,14% de los iones hierro en el bioadsorbente.

DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN

De los gráficos de la figura 1 y 2, se puede observar que la formulación optimizada brinda mayor confiabilidad en los datos, frente a la cantidad de metal adsorbido en función de los cambios de concentración y el tiempo de retención del metal, debido a que r se aproxima a 1, esto significa que el diseño experimental aplicado presenta una asociación lineal casi perfecta.

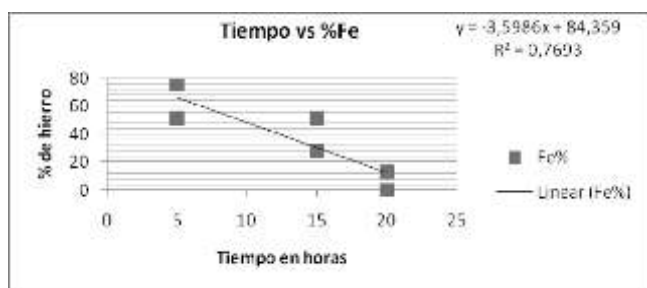


Figura 1: Gráfico adsorción del Fe en función del tiempo de contacto

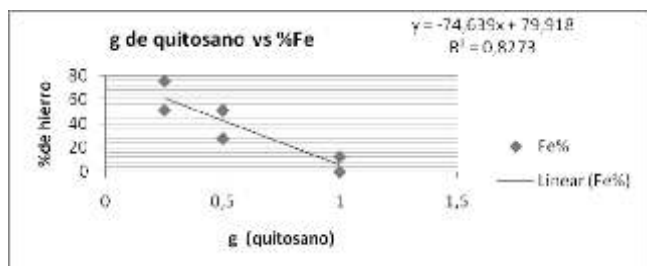


Figura 2: Gráfico adsorción del Fe en función de la cantidad de quitosano

ANÁLISIS ESPECTRAL DE FT-IR DEL BIOADSORBENTE:

Análisis espectral de FT-IR del bioadsorbente Quitosano Comercial y Quitosano Sintetizado

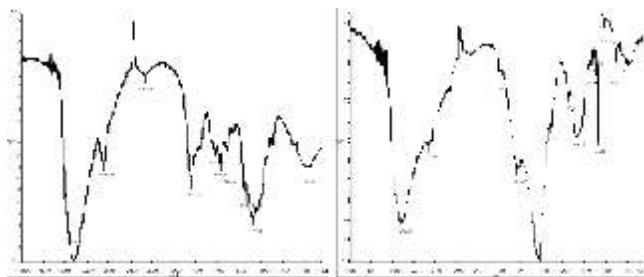


Fig. 3: Espectro de FT-IR de quitosano comercial y sintetizado a nivel de laboratorio
Fuente: Laboratorios Larsa ULA.

Los espectros Infrarojos del quitosano comercial (Sigma Aldrich) y del quitosano sintetizado se muestran en la Figura 3, se observan las bandas características a 3445 cm^{-1} (tensión del grupo-OH), observándose bandas de intensidad media correspondientes a vibraciones de estiramiento del NH ubicadas 3306 cm^{-1} (tensión del grupo N-H), 2922 y 2852 cm^{-1} (tensión del grupo C-H), y la banda de absorción de intensidad media a fuerte relativas a vibraciones de deformación del grupo amino a una frecuencia entre 1650 (Amida I), 1580 cm^{-1} (flexión doble del grupo $-\text{NH}_2$), 1313 cm^{-1} (Amida III), 1152 cm^{-1} (tensión antisimétrica del puente C-O-C), 1077 y 1032 cm^{-1} , bandas de absorción de intensidad media a débil para el enlace C-N de las aminas alifáticas primarias aparecen en la región de 1250 a 1020 cm^{-1} (Silverstein *et al.*, 1991). La desacetilación varía con las condiciones usadas, porque el término quitosano cubre un amplio rango de polímeros relacionados que varía con el contenido de grupos aminos libres.

Mientras que en la figura 4 se puede observar en los espectros IR, la adsorción de algunos metales estudiados, presentó ligeras variaciones en las bandas ubicadas a 1510, 1460, 1270 y 1130 cm^{-1} , correspondientes a grupos funcionales presentes en el quitosano (Grube *et al.*, 2006). En general, se observa que la adsorción de los metales produjo modificación en la estructura del quitosano, esto en la región del IR cerca de los 600 a 400 cm^{-1} , debido al efecto de las vibraciones de tensión y flexión de los enlaces entre

los átomos metálicos y ligandos inorgánicos u orgánicos que ocurre a frecuencias inferiores a 650 cm^{-1} .

Análisis espectral de FT-IR del bioadsorbente Quitosano Comercial más metales pesados

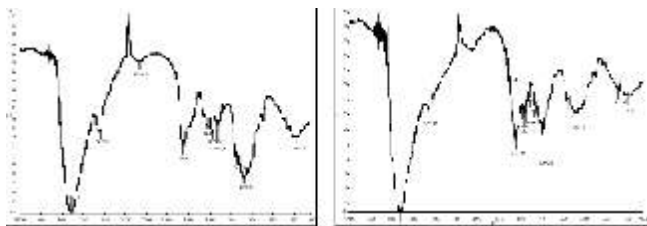


Fig. 4: Espectro de FT-IR de Quitosano Comercial y Quitosano comercial más metales pesados. Fuente: Laboratorios Larsa- ULA.

CONCLUSIONES

- Se desarrolló un método innovador para el análisis de metales pesados basado en el empleo un bioadsorbente para la remoción de hierro de efluentes industriales. Durante la determinación de metales pesados para el tramo estudiado del Río Tinaquillo, se detectó la presencia de los metales: Aluminio, Cobre, Cromo, Hierro y Zinc sobrepasando el límite de concentración de la norma permitida según MARN, estando el hierro presente en mayor concentración con respecto a los otros metales, lo que indica que no se está cumpliendo con las especificaciones de la Norma del Decreto 883, por lo que el agua proveniente de estos ríos no está aptas para consumo humano.

- El bioadsorbente utilizado (quitosano) resultó efectivo en un 100% para la remoción del metal hierro, en las muestras de agua analizadas. Al tratarse la remoción, del metal hierro las condiciones más óptimas de ensayo fueron: a un tiempo de contacto de 20 horas y utilizando 1,0 g de quitosano, a $\text{pH}=4$ y a temperatura del medio de 26°C , demostrado a través de EAM UV-V, e interpretado a través de la caracterización del bioadsorbente por Espectroscopia de Infrarrojo (IR).

- El bioadsorbente resultó además, ser un antibacteriano eficaz, ya que las muestras analizadas con el mismo presentaron un bajo crecimiento microbiano, reduciendo la cantidad de coliformes totales y fecales a un rango casi no detectable. Las pruebas microbiológicas señalan que las aguas naturales de ninguno de los tramos de los ríos estudiados

pueden emplearse como fuente de abastecimiento para consumo humano por estar sobre los límites fijados por la norma ambiental.

RECOMENDACIONES

- Estudiar la remoción del resto de los metales encontrados como el aluminio, cobre, cromo y zinc; que también resultaron en concentraciones fuera de la norma según decreto 883 del MARN, en estos efluentes, realizando pruebas de ensayo con el quitosano.

- Estudiar la recuperación de metales pesados a través de la desorción y la eficiencia del bioadsorbente al ser reutilizado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cartaya, O.; Ramírez, A.; Peniche, C. y Reynaldo, I. 2007. Adsorción de iones metálicos por quitosanas. Vol. 10, N° 31 enero-abril p. 61 – 64.
- Díaz, A.; Arias, J. y Gelves, G. 2003. Biosorción de Fe, Al y Mn de drenaje de ácidos de minas de carbón empleando Algas Marinas (*Sarfaassum* sp.) procesos continuos.
- Grube, M.; Lin, G.; Lee, H. y Kokorevicha, S. 2006. "Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy". *Geoderma* 130:324-333.
- Silverstein, M.; Clayton, G. y Morrill, T. 1991. *Spectrometric identification of organic compounds*. P. 97-165.
- Vullo, D. 2003. Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. *Revista Química Viva*. 2(3):1666-7948.