

REMOCIÓN DE CROMO DE AGUAS RESIDUALES DE CURTIEMBRES USANDO QUITOSAN OBTENIDO DE DESECHOS DE CAMARON

Studies of chromium removal from tannery wastewaters by chitosan biosorbents obtained shrimp (*Litopenaus vanamei*).

RESUMEN

El cromo es el mayor contaminante en la industria de curtiembres. El método de precipitación química es empleado para remover cromo pero su uso conduce a la formación de precipitados de este metal. El intercambio iónico y la separación por membrana son tratamientos costosos. En este estudio se empleó quitosano como bioadsorbente para remover cromo de las aguas residuales de la industria de curtiembres. El quitosano adsorbió 52 mg Cr (III)/g a un pH de 4.0. Modelos *Langmuir and Freundlich* fueron aplicados; observándose que un incremento en la concentración inicial de cromo trae como consecuencia una disminución en el proceso de adsorción.

PALABRAS CLAVES: Bioadsorción, Cromo, Curtiembres, Quitosano.

ABSTRACT

Chromium in the effluent is a major concern for tanning industry. Chemical precipitation methods are commonly employed for the removal of chromium but this leads to formation of chrome-bearing solid waste. Ion exchange and membrane separation methods are relatively expensive. In this study a chitosan bioadsorbent has been employed to remove chromium from tannery effluent. The effect of pH and chromium concentration showed chitosan to exhibit uptake of about 52 mg Cr (III)/g at optimum pH of 4.0. Langmuir and Freundlich models were applied. Increase of initial concentration of Cr resulted to a decrease in adsorption efficiency.

KEYWORDS: bioadsorbent, chromium, tannery, chitosan

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación de las aguas es uno de los aspectos más preocupantes de la degradación de los medios naturales por parte de la civilización contemporánea [1]. Los estudios sobre aguas residuales confirman que la contaminación tiene, generalmente, un origen químico. Los principales agentes contaminantes son pesticidas, hidrocarburos y metales pesados. Los metales pueden provenir de efluentes urbanos (alimentos, productos farmacéuticos, productos de limpieza, etc.) y de fuentes industriales (industrias papeleras, curtiembres, pinturas y pigmentos, etc.).

La recuperación de metales de efluentes acuosos puede llevarse a cabo por diferentes tratamientos [2]. Además de los tratamientos mecánicos de las aguas residuales (sedimentación) o de los biológicos (lodos activados), se utilizan algunos tratamientos químicos para la eliminación de estos metales pesados. Los procesos más comunes implican la precipitación mediante hidróxidos o sulfuros, la oxidación-reducción, intercambio iónico, separación sólido-liquido mediante decantación-flotación

y la separación mediante membranas. Pero el mayor inconveniente de estos tratamientos es la formación de lodos que tienen que estar sujetos a restricciones o la baja eficiencia del proceso en el caso de las membranas. La adsorción en carbón activo ha sido ampliamente estudiada. Se han considerado también otros adsorbentes con el fin de encontrar materiales más eficientes y menos costosos. Así, se está estudiando la bioadsorción en organismos vivos (bacterias, hongos, algas) o por compuestos extraídos de estos organismos [3]. Estos materiales son abundantes y amigables con el medioambiente. Entre estos últimos se encuentran el quitosano.

El quitosano, poli(β -1-4)-2-amino-2-deoxi-D-glucopiranososa, se prepara por desacetilación de los grupos acetamida de la quitina, que es un polímero natural extraído de los caparazones de crustáceos, tales como cangrejos, insectos y camarones. La capacidad del quitosano para formar complejos con distintos iones metálicos está siendo de gran interés para los investigadores [4]. La comparación entre los diferentes estudios realizados es complicada debido a la gran

EDISSON DUARTE R.

Químico, M. Sc.

Grupo de Investigaciones Agroquímicas.

Grupo de Química Ambiental y Computacional

Universidad de Cartagena.

Reyes311@hotmail.com

JESUS OLIVERO VERBEL

Químico Farmacéutico, Ph.D.

Profesor de planta

Grupo de Química Ambiental y Computacional

Universidad de Cartagena

joliverov@unicartagena.edu.co

BEATRIZ E JARAMILLO C.*

Química, Ph.D.

Profesora de planta

Grupo de Investigaciones Agroquímicas.

Universidad de Cartagena.

beatrizjaramilloc@yahoo.com

variabilidad de condiciones experimentales empleadas. Este polímero se caracteriza por un elevado número de grupos amino libres que son muy reactivos para la quelación de cationes metálicos a pH más o menos neutros [5].

El objetivo de este trabajo fue la síntesis de quitosano a partir del exoesqueleto del camarón (*Litopenaus vanamei*) y su uso como adsorbente de iones Cr (III), comparando los resultados de adsorción del quitosano con una muestra de Cromosal BA y una muestra residual de una industria de curtiembres.

2. METODOLOGIA

2.1. Bioadsorbente (Quitosano)

Se utilizaron 10 kg de conchas de camarón de cultivo (*Litopenaus vanamei*), obtenidas de una planta procesadora de camarones OCEANOS S.A, ubicada en el sector industrial de Mamonal 1-504 en la ciudad de Cartagena (Bolívar), las cuales se dividieron en 3 partes iguales, realizando todas las experiencias por triplicado.

Obtención de quitina. Los exoesqueletos de camarón, molidos y tamizados, se sometieron a un proceso de despigmentación química [6] con una mezcla de solventes: éter de petróleo, agua y acetona en la proporción 15/10/75 en un matraz provisto de agitación magnética, por dos horas a temperatura ambiente [7]. Posteriormente, se filtró el producto en un embudo Buchner, se secó en una estufa eléctrica a 50°C durante 6 horas. El producto obtenido en la fase anterior se somete a una descalcificación mediante tratamiento con ácido clorhídrico 1 M durante tres horas a temperatura ambiente, en un matraz con agitación constante. La relación masa de exoesqueleto molido/volumen de disolución ácida fue 1/10. Finalmente, se procedió a filtrar en un embudo Buchner, haciendo lavados con agua destilada hasta alcanzar la neutralidad del medio. El tratamiento siguiente fue la desproteización química [7], la cual se llevó a cabo en un matraz equipado con condensador de reflujo, mediante el empleo de hidróxido de sodio al 4,5%, con una relación masa/volumen de disolución básica de 1/15. El proceso se realizó durante 3 horas, a 65°C y con agitación constante. El producto obtenido se purificó filtrando en un embudo Buchner y realizando lavados con agua destilada caliente hasta lograr la eliminación del exceso de base.

Obtención de quitosano. Este es un proceso de modificación química de la quitina, en el cual las unidades acetilo son eliminadas, para ello se agregaron 10 g de la quitina obtenida en un matraz de 250 mL de capacidad, provisto de un refrigerante para reflujo. Una solución de hidróxido de sodio al 50% (100 mL) fue adicionada a una temperatura de 95°C. El sistema se

mantuvo en reflujo, con agitación en una atmósfera de aire, durante 180 minutos. El producto se purificó por filtrado en un embudo Buchner, realizando lavados con agua destilada, hasta lograr eliminar la alcalinidad del medio [8].

2.2. Caracterización del Quitosano

2.2.1. Análisis por espectroscopia infrarroja. Las muestras de quitosano fueron preparadas en forma de pastillas con bromuro de potasio (KBr): 40-60 mg de quitosano en polvo y 120 mg de KBr fueron mezclados y triturados en un mortero por 10 min. A 40 mg de esta mezcla se le realizó un proceso de compactación usando un pistón hidráulico con una presión de 8 toneladas por 60 segundos. La pastilla fue dispuesta en un horno a 80°C por 16 horas antes de realizar el análisis [9]. Se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo FTIR-84005. Los espectros obtenidos se compararon con el de una muestra de quitosano patrón marca Sigma (C-3646).

2.3. Aguas residuales de la industria de curtiembres

La solución patrón de Cr₂(SO₄)₃ utilizada en estos ensayos fue preparada a partir del compuesto Cromosal BA suministrado por la industria de curtiembres. Es el mismo compuesto que utilizan en el proceso de curtición. El rango de concentración varío en los diferentes ensayos entre 240 y 260 ppm. El agua de desecho de la industria de curtiembres fue obtenida a la salida del proceso de curtición sin ningún tratamiento (ver **Tabla 1**) excepto una filtración a través de un papel filtro de poro 0.45 µm.

Tabla 1. Composición química del agua residual de la industria de curtiembres

Parámetro	Cantidad
pH	3.3 -3.8
TOC (mg/L)	27000-41000
TKN (mg/L)	160-245
Cr (III) (mg/L)	1000-1300

El contenido de cromo (III) fue determinado por espectroscopia de absorción atómica (AAF).

2.4. Instrumentación

La determinación del contenido de cromo (III) en las muestras fue determinada por un espectrómetro de absorción atómica de llama (AAF) modelo 969 (Unicam) a una longitud de onda de 357.9 nm y 15 mA, usando una llama de aire-acetileno. El grado de desacetilación del quitosano se realizó por medio de un espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier (FT- IR 84005) marca Shimadzu.

2.5. Procedimientos

Digestión de la muestra. Con el fin de determinar el contenido de Cr en las muestras analizadas, la materia orgánica fue destruida de acuerdo al siguiente procedimiento: 25 mL de la muestra fue mezclada con 5 mL de una mezcla de ácido H₂SO₄ concentrado y ácido HNO₃ concentrado (1:1). La solución fue calentada en plancha de calentamiento a 120 °C hasta que un humo blanco de SO₃ apareció. Alícuotas de 5 mL de HNO₃ concentrado fueron adicionadas y calentadas hasta que la solución estuvo clara y no se observó humo café. La solución fue calentada hasta sequedad y 15 mL de 0.5% v/v HNO₃ fueron adicionados, esta mezcla fue calentada hasta disolver las sales solubles. Después la solución fue transferida a un balón aforado de 50 mL completado con 0.5% v/v HNO₃ [10]. Las curvas de calibración en un rango 1.0–5.0 mg L⁻¹ in 0.5% v/v de ácido clorhídrico fueron preparadas. El límite de cuantificación fue calculado de la ecuación LOQ = 10(S_{BL}/b); donde S_{BL} fue la desviación estándar de 10 soluciones patrón y b fue la pendiente de la curva de calibración.

2.5.1. Efecto del pH en el proceso de adsorción de cromo (III). La bioadsorción de cromo (III) se estudió por medio de experimentos en discontinuo. El efecto del pH fue determinado, por triplicado, de la siguiente manera: 0.2 g de quitosano fueron mezclados con 50 mL de una solución 240–260 mg L⁻¹ de Cr (III), a esta mezcla se le agregó una solución de acetato de sodio a valores de pH de 2, 3, 4 y 5. Las soluciones fueron agitadas hasta alcanzar su estado de equilibrio, en un beaker, por 45 minutos. Después del tiempo de equilibrio las mezclas fueron filtradas y la concentración de cromo final fue determinada por AAF.

2.5.2. Análisis de la cinética de adsorción. La tasa de adsorción de cromo por quitosano se estudio, por triplicado, de la siguiente manera: Aproximadamente 0.2 g de quitosano fueron mezclados con 50 mL de solución de Cr (III) con una concentración 240–260 mg L⁻¹, a este mezcla se le agregó una solución de acetato de sodio a pH 4.0, el cual fue el mejor pH de adsorción encontrado en el punto 2.5.1. Las mezclas fueron agitadas a 150 rpm. En intervalos de tiempo de 10 min., fue analizada cada muestra después de un proceso de filtración por AAF.

2.5.3. Isotermas de adsorción y efecto de la concentración de cromo (III). Las isotermas de adsorción fueron determinadas en beakers de 100 mL.; la cantidad de cromo adsorbida (q_{eq}) como función de la concentración del metal fue determinada, por triplicado, de la siguiente manera: 0.2 g de quitosano fueron mezclados con una solución buffer a pH 4.0 y luego se adicionó 50 mL de una solución de Cr (III) con un rango de concentraciones de 20–400 mg L⁻¹. Cada mezcla fue agitada por 45 minutos. El resultado de la mezcla fue

filtrado y la concentración de iones Cr (III) (C_{eq}) del sobrenadante en equilibrio fue determinada por AAF.

2.5.4. Cálculos del porcentaje adsorbido de cromo (III). La cantidad de Cr (III) adsorbida fue calculada como la diferencia entre la cantidad presente en la solución inicial y la cantidad obtenida en la solución final después del tiempo de equilibrio con el quitosano, usando la siguiente formula:

$$q_{eq} = \frac{(C_0 - C_{eq})V}{M} \quad \text{Ecuación (1)}$$

Donde q_{eq} (mg g⁻¹) es la cantidad del metal adsorbida, C_0 y C_{eq} son la concentración del metal en la solución al inicio y al final del proceso de adsorción, respectivamente, V (en litros) es el volumen de solución y M (g) es la masa de quitosano utilizada.

2.5.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía donde se relacionó la adsorción de cromo (III) *versus* el parámetro a estudiar, comparando las diferencias significativas entre los procesos de adsorción con las diferentes variables utilizadas en los ensayos ($P \leq 0.05$); la comparación entre los diferentes niveles de cada variable se hizo mediante el test de *Tukey*.

3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Obtención y caracterización de quitosano

El rendimiento obtenido de quitosano a partir del exoesqueleto del camarón fue del 29%.

3.1.1. Análisis de IR. En los espectros Infrarrojos del quitosano patrón (Sigma Chemical) y del quitosano obtenido en el laboratorio se observaron las bandas características a 3445 cm⁻¹ (tensión del grupo-OH), 3306 cm⁻¹ (tensión del grupo N-H), 2922 y 2852 cm⁻¹ (tensión del grupo C-H), 1652 cm⁻¹ (Amida I), 1580 cm⁻¹ (doblaje del grupo -NH₂), 1313 cm⁻¹ (Amida III), 1152 cm⁻¹ (tensión antisimétrica del puente C-O-C), 1077 y 1032 cm⁻¹ (vibraciones del esqueleto propias de su estructura piranósica [11]. **Figura 1.**

El método IR consistió en correlacionar la relación de absorbancias entre dos bandas de absorción determinadas con el porcentaje de desacetilación del quitosano. La relación de absorbancias escogidas fue 1550/2878 [12]. Al analizar 4 muestras de quitosano comercial, por regresión lineal, se obtuvo la siguiente **ecuación (2)** para determinar el grado de desacetilación:

$$y = 100 - (A_{1550}/A_{2878}) \times 17.12 - 1.30; \quad r = 0.961 \quad \text{Ecuación (2)}$$

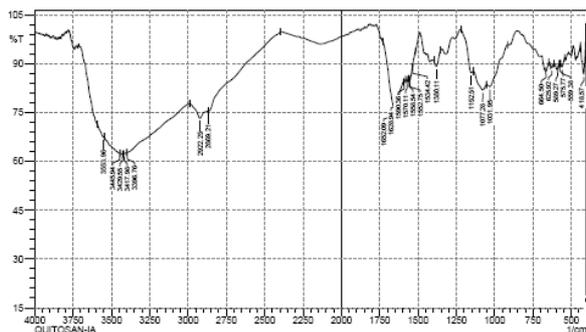


Figura 1. Espectro infrarrojo del quitosano.

El grado de desacetilación del quitosano a 180 minutos correspondió a 79.3%, el cual se encuentra entre los parámetros exigidos para el quitosano comercial.

3.2. Adsorción de cromo (III)

3.2.1. Determinación del pH óptimo de adsorción. El pH es un parámetro importante que afecta la bioadsorción de metales pesados [13]. El efecto del pH en la bioadsorción del Cr (III) fue estudiado en un rango de 2–5. Este rango fue elegido basado en estudios reportados en la literatura [14] y en análisis efectuados en el laboratorio con la muestra cromosal BA utilizada para estos ensayos, la cual precipitó un sólido de color verde a pH superiores a 4.5. Los iones de Cr(III) se unieron fuertemente a un pH de 4. La dependencia del pH ocurre cuando los iones metálicos y los protones compiten por los mismos sitios de unión activos tales como los grupos hidroxilo y grupos amino en la superficie del quitosano [15]. Los resultados de los efectos del pH en la solución de cromosal BA son mostrados en la **Figura. 2**. La capacidad de bioadsorción incrementa con el pH de 2 a 5. Teniendo en cuenta que a pH mayores de 4.5 se forma un precipitado de la sal cromosal BA y que el agua residual de la industria de curtiembres en promedio presenta un pH de 4, se decidió utilizar un pH de 4 para realizar los ensayos.

Los análisis de varianza de una vía donde se relaciona la adsorción de cromo (III) *versus* el pH muestran diferencias significativas entre los procesos de adsorción a los diferentes pH utilizados en este ensayo ($P \leq 0.05$); la comparación entre los diferentes niveles de pH por el test de *Tukey* muestra diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

El Cr(III) existe en solución como $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$ en un rango de pH 4–6 [15], esto implica que la bioadsorción depende de la protonación y desprotonación de los grupos funcionales que componen la estructura del quitosano, relativo a su pK_a [16]. Al incrementar el pH se reduce la repulsión electrostática, exponiendo más ligandos portadores de carga negativa e incrementando la capacidad de adsorción [17].

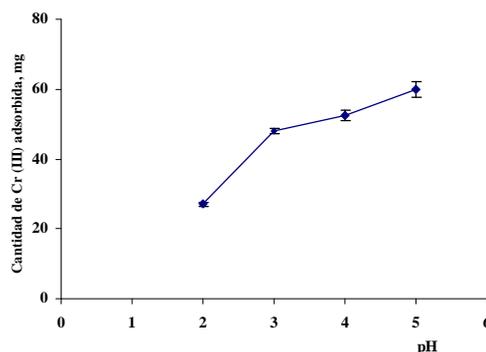


Figura 2. Efecto del pH en la adsorción de Cr (III) en quitosano.

La reducción de la adsorción de los iones metálicos a pH (>4.5) ha sido atribuida a la formación de complejos de hidróxido de cromo los cuales forman un precipitado dando resultados erróneos en la determinación del porcentaje de adsorción del Cr (III) [18].

3.2.2. Isotermas de adsorción. Los resultados obtenidos de la bioadsorción de Cr(III) en quitosano son representados en la **Figura. 3**. El Q_{max} en la **Ecuación (2)** fue 52.2 mg g^{-1} . La capacidad de bioadsorción Cr se incrementa con el incremento de la concentración inicial de Cr. Este incremento es atribuido a la competición por los sitios de unión disponibles. Una alta concentración provee la fuerza necesaria para superar la resistencia en la transferencia de masa del ión metálico entre la solución acuosa y la fase sólida [17]. Este efecto fue claramente demostrado en la **Figura 3**.

El rendimiento en la remoción del Cr (III) a una baja concentración fue alto ($>85\%$) debido a una mayor cantidad de sitios disponibles para la adsorción. Una menor adsorción a altas concentraciones de Cr (III) puede ser debido al hecho que los sitios disponibles para la adsorción en la superficie del quitosano se encuentran saturados [14].

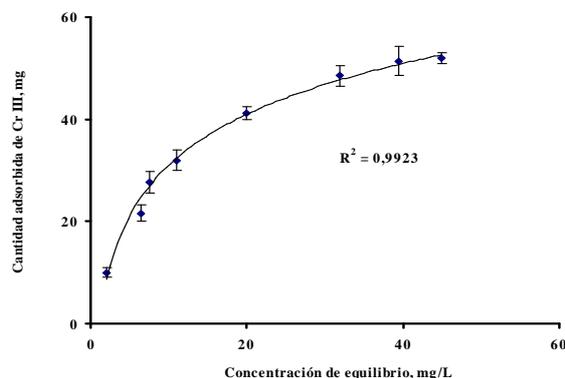


Figura 3. Efecto de la concentración de Cr III sobre la adsorción del quitosano a pH 4.

Los modelos de adsorción Clásicos como Langmuir y Freundlich han sido usados para describir el equilibrio entre los iones del metal adsorbidos en la biomasa (q_{eq}) y

la concentración del metal remanente en la solución (C_{eq}) a una temperatura constante. La ecuación de Langmuir se refiere a una absorción de monocapa dentro de una superficie que contiene un número finito de sitios disponibles:

$$q_{eq} = \frac{bQ_{max}C_{eq}}{1 + bC_{eq}} \quad \text{Ecuación (3)}$$

Donde Q_{max} es la cantidad máxima del ion metálico por unidad de peso de biomasa para formar una monocapa completa en la superficie ($mg\ g^{-1}$), Donde b es una constante relacionada con la afinidad de los sitios de unión con los iones metálicos. Q_{max} representa la capacidad máxima de adsorción de la superficie del adsorbente (16). La ecuación empírica de Freundlich explica la adsorción de superficies heterogéneas:

$$q_{eq} = K_F C_{eq}^{1/n} \quad \text{Ecuación (4)}$$

En la **Ecuación 4**, K_F es un indicador de la capacidad adsorción y n indica el efecto de la concentración en la capacidad de adsorción y representa la intensidad de adsorción [19]. Todos los otros símbolos tienen el mismo significado de la **Ecuación 3**. Los parámetros experimentales de las isotermas de adsorción (para Freundlich and Langmuir) y los datos del coeficiente de correlación (R^2) para Cr (III) obtenido a un valor de pH óptimo, están dados en la **Tabla 2**. Las isotermas de adsorción obtenidas en la adsorción de iones Cr (III) por quitosano se encontró que la de Langmuir predice bien el estudio de la concentración del metal cromo en un rango de (20–400 $mg\ L^{-1}$). Esta observación implica que las condiciones homogéneas predominan en los experimentos. La bioadsorción de Cromo por quitosano se produce por una monocapa uniforme, la energía de adsorción es constante. Para llegar a este resultado se analizaron los resultados de correlación R^2 obtenidos para todas las isotermas.

Tabla 2. Parámetros de los isotermas del quitosano.

Freundlich		Langmuir	
K_f	8.17	Q_{max}	52
$1/n$	0.518	b	0.084
R^2	0.953	R^2	0.993

3.2.3. Tiempo óptimo de adsorción y cinética química.

La cinética de adsorción describe la tasa de adsorción de un soluto la cual gobierna el tiempo de la reacción que define la eficiencia de la adsorción [20-23]. La cinética de remoción de Cr(III) por quitosano se obtuvo al graficar la bioadsorción como una función del tiempo. **Figura. 4.**

La tasa de adsorción del metal fue rápida y el 95% de la adsorción total ocurre en 40 min. La fase inicial de adsorción es rápida en los primeros 10 min. debido a procesos de adsorción físicos o a intercambio iónico con los grupos funcionales que componen la superficie del quitosano. El análisis estadístico de ANOVA de una vía muestra diferencias significativas entre los diferentes tiempos de adsorción ($P \leq 0.05$).

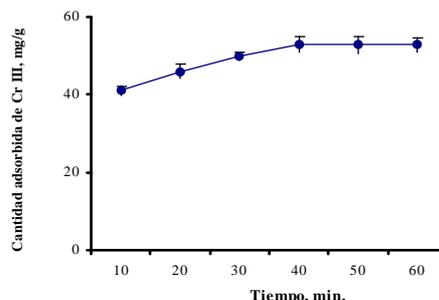


Figura 4. Cinética de absorción del cromo por quitosano.

3.2.4. Adsorción de una muestra residual de la industria de curtiembres. La concentración de cromo en los efluentes de la industria de curtiembres es $456\ mg\ L^{-1}$, estando por encima de los valores permitidos de cromo en las aguas residuales por las normas ambientales colombianas en el cual el límite está por debajo de $0.5\ mg\ L^{-1}$. El resultado de la bioadsorción de cromo se muestra en la **Figura 5**.

La cantidad adsorbida en las aguas residuales de la industria de curtiembres fue del 45%. Este porcentaje de adsorción fue menor comparado con el obtenido de las soluciones patrón de cromosal BA.

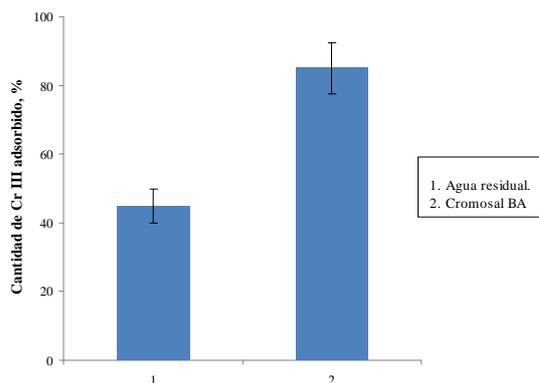


Figura 5. Resultados obtenidos de los porcentajes de adsorción del quitosano en Cromosal BA y Aguas de desecho de curtiembre.

CONCLUSIONES

Los análisis de FT-IR revelaron la presencia de grupos amino e hidroxilos que pueden actuar como sitios de

unión, además confirmaron que el procedimiento de obtención del quitosano fue efectivo, con un rendimiento del 29%, un grado de desacetilación alto y un grado de pureza comparable con el del quitosano comercial. Este quitosano extraído a partir del exoesqueleto del camarón (*Litopenaus vanamei*) obtenido de la industria Océanos S.A de la ciudad de Cartagena demostró una alta capacidad de absorción de Cr(III) en las soluciones patrón preparadas con la solución de cromosal BA en agua desionizada (85%) y un porcentaje de remoción aceptable en las aguas residuales de la industria de curtiembres (45%) diferencias debidas a la complejidad de la matriz e interferencias en las aguas residuales de la industria de curtiembres, la cual contiene gran cantidad de sustancias orgánicas de origen animal y cationes de otros metales que interfieren con la efectividad de la unión de los sitios activos en la superficie del quitosano y disminuye la capacidad de este para adsorber el Cr. Este estudio demuestra que el pH juega un rol importante en la capacidad de adsorción de cromo por quitosano. El pH óptimo fue de 4.0. Los modelos de adsorción de Freundlich y Langmuir confirmaron una adsorción homogénea y uniforme. La bioadsorción de cromo fue rápida (>90% Cr en la solución inicial) en los primeros 40 min.

BIBLIOGRAFIA

- [1]. C. Jeon, W. Höll, "Chemical Modification of Chitosan and Equilibrium Study for Mercury Ion Removal," *Water Research.*, Vol. **37**(19), pp. 4770-4780. 2003.
- [2]. Y. Zhang, Y. C. Banks, "A comparison of the properties of Polyurethane immobilised Sphagnum moss, seaweed, sunflower waste and maize for the biosorption of Cu, Pb, Zn and Ni in continuous flow packed columns". *Water Research.* Vol. **40**(4), pp. 788-798. 2005.
- [3]. M. Tsezos, "Biosorption of metals. The experience accumulated and the outlook for technology development". *Hydrometallurgy.* Vol. **59** (2-3), pp. 241-243. 2001.
- [4]. H. Benaissa, H. B. Benguella, "Effect of anions and cations on cadmium sorption kinetic by chitin. Proceedings of international symposium an environmental pollutions control and waste management". Tunis. pp 815-822. 2002.
- [5]. N. Acosta, I. Aranaz, A. Hera, "Chitin and Chitosan in Wastewater Treatment". Primer Simposio Latinoamericano de Quitina y Quitosán. La Habana, Cuba. pp 482. 2000.
- [6]. T. Cardenas, L. Sanzana, M. L. Innocentini, "Synthesis and characterization of Chitosan-PHB Blends". *Bol. Soc. Chil. Quim.*, Vol. **47** (4) pp 529-535. 2002.
- [7]. G. Parada, G. D. Crespín, R. D. Miranda, I. Katime, "Caracterización de Quitosano por Viscosimetría Capilar y Valoración Potenciométrica". *Revista Iberoamericana de Polímeros*, Vol. **5**(1) pp 1-16. 2004.
- [8]. E. Taboada, G. Cabrera, G. Cardenas, "Retention Capacity of Chitosan for copper and mercury ions". *J.Chilean Chem Soc.*, Vol. **48** (1), pp 7-12. 2003.
- [9]. K. Tanveer, C. Hung, "Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods". *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* Vol. **5**(3) pp 205-212. 2002.
- [10]. C. Monteiro, S. Fraga, V. Yallouz, M. Oliveira, M. H. Ribeiro, "Determination of total chromium traces in tannery effluents by electrothermal atomic absorption spectrometry, flame atomic absorption spectrometry and UV-visible spectrophotometric methods". 2002.
- [11]. R. M. Silverstein, G. Clayton, T. Morrill, "Spectrometric identification of organic compounds". pp. 97-165. 1991.
- [12]. J. Brugnerotto, F.M. Lizardi, W. Goycoolea, J. Argüelles, J. M. Desbrie, "An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization". *Polymer.*, Vol. **42**, pp 3569-3580. 2001.
- [13]. S.Y. Lia, Y. Guo and L. Li, "Study on the process, thermodynamical isotherm and mechanism of Cr(III) uptake by *Spirulina platensis*", *J. Food Eng.* Vol. **75**, pp. 129-136. 2006.
- [14]. M. Vilar, A. Cidália, S. Boaventura, "Influence of pH, ionic strength and temperature on lead biosorption by Gelidium and agar extraction algal waste", *Process Biochem.* Vol. **40**, pp. 3267-3275. 2005.
- [15]. M. Loukidou, T. Zouboulis, T.B. Karapantsios, K. Matis, "Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) biosorption by *Aeromonas caviae*", *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* Vol. **242**, pp. 93-104. 2004.
- [16]. G. Domnez, Z. Aksu, "Removal of chromium from saline wastewater by *Dunaliella* species", *Process Biochem.* Vol. **38**, pp. 751-762. 2002.
- [17]. M. Llhan, S. Nourbakhsh, S. Kilicarslan, H. Ozdag, "Removal of chromium, lead and copper from industrial waste by *Staphylococcus saprophyticus*", *Turk. Electron. J. Biotechnol.* Vol. **2**, pp. 50-57. 2004.
- [18]. P.L. Zhou, L. Haung, L.P. Lin, "Sorption and desorption of Cu and Cd by macroalgae and microalgae", *Environ. Poll.* Vol. **101**, pp. 67-75. 1998.
- [19]. M. Horsfall, M. A. Abia, A. Spiff, "Removal of Cu (II) and Zn(II) ions from wastewater by cassava (*Manihot esculenta*) waste biomass", *Afr. J. Biotechnol.* Vol. **10**, pp. 360-364. 2003.
- [20]. G. Naja, C. Mustin, B. Volesky, B.J. Berthelin, "A high-resolution titrator: a new approach to studying binding sites of microbial biosorbents", *Water Res.* Vol. **39**, pp. 579-588. 2005.
- [21]. E.C.N. Lopes, F.S.C. dos Anjos, E.F.S. Vieira, A.R. Cestari, "An alternative Avrami equation to evaluate kinetic parameters of the interaction of Hg(II) with thin chitosan membranes", *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol. **263**, 2, pp. 542-547. 2003.
- [22]. M.A. García, A. Pinotti, M. Martino, N. Zaritzky, "Electrically treated composite FILMS based on chitosan and methylcellulose blends", *Food Hydrocolloids*, Vol. **23**, 3, pp.722-728. 2009.
- [23]. L. Zhou, Y. Wang, Z. Liu, Q. Huang, "Characteristics of equilibrium, kinetics studies for adsorption of Hg(II), Cu(II), and Ni(II) ions by thiourea-modified magnetic chitosan microspheres". *Journal of Hazardous Materials*, Vol. **161**, pp. 995-1002. 2009.