

**XVI. reál- és humántudományi Erdélyi Tudományos Diákköri Konferencia
(ETDK)
Kolozsvár, 2014. május 17-18**

A fitoextrakció alkalmazása Crystal Violet festékanyagot tartalmazó szennyvizek tisztításában

Szerzők:

Elek Szabolcs Zoltán

Babe⁹-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Kémia-és Vegyészmérnöki Kar, Szerves
anyagok kémiája és technológiája, kőolaj- és szénkémia szak, IV. év

Témavezetők:

Dr. Majdik Kornélia, egyetemi docens,

Babe⁹-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Kémia-és Vegyészmérnöki Kar , magyar
tanszék

Dr. Nagy Boldizsár, tanársegéd,

Babe⁹-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Kémia-és Vegyészmérnöki Kar , magyar
tanszék

Tartalomjegyzék

I. Elméleti rész

I.1 Bevezető	3
I.2. Crystal Violet (Kristályibolya) színezék.....	4
I.3. <i>Elodea canadensis</i> (Vizihinár)	5
I.4 Fitoremediáció	6

II. Gyakorlati rész

II.1. A kutatás célja	7
II.2. Anyagok és módszerek	8
2.1 A tápoldat elkészítése	8
2.2 Felhasznált műszerek	8
2.3 Fitoextrakciós kísérletek	9
II. 3. A fitoremediáció paramétereinek tanulmányozása	
3.1. A kísérleti idő hatása	9
3.2. A biomassa mennyiségének hatása	10
3.3. A kezdeti kristályibolya koncentrációjának hatása	11
3.4. A hőmérséklet hatása a fitoextrakcióra	12
II.4. FT-IR analízis	13
II.5 Degradációs folyamatok vizsgálata a bioremediációban	15
II.6 A stressz által indukált fotoszintetikus pigmentek mennyiségi meghatározása	17
II.7. Következtetések	19

III. Bibliográfia

20

I. Elméleti rész

I.1. Bevezető

A színezékek komoly környezeti problémát jelentenek napjainkban. A festékekkel szennyezett vizek tönkre teszik a talajt, negatívan befolyásolják vízi élővilág életét, mutagén hatásuk van [1].

A mesterséges színezékek lebontása, komoly környezeti problémát jelent hosszú távon nagy stabilitásuk miatt. A degradáció a szerkezet függvénye, számos színezék aromás rendszereket tartalmaz, mely nagymértékben megnöveli a stabilitást [2].

A természeti szennyezettség méretei jelentősek, több mint 100.000 színezék ismert és iparilag használt, a felmérések szerint az ipar 700.000 tonnát bocsát ki évente [3]. Ezen színezékek jelenléte a természetes vizekben, gátolják a napsugarak bejutását a vízbe, ezáltal negatívan befolyásolják a vízi állatok fejlődését. [1].

Az évek során különböző módszereket alkalmaztak a szennyvíztisztításban, ezek lehetnek fizikai, kémiai, elektrokémiai vagy biológiai eljárások [4]. Napjaink kutatásai olyan módszerek kidolgozására irányulnak, melyek egyszerű technológián alapulnak, kis befektetést igényelnek, illetve nem okoznak újabb környezeti szennyezést [2].

A biológiai folyamatokon alapuló módszerek a leggazdaságosabbak közé tartoznak a szerves színezőanyagok eltávolítására. Ugyanakkor, ez a módszer nem alkalmazható sok textilipari szennyvíznél, mivel toxikus hatása miatt mikroorganizmusok ezen körülmények között nem életképesek.

A fizikai-kémiai folyamatokon alapuló módszerek során, egy erős oxidálószer, alkalmaznak (AOPs-Advanced Oxidation Processes). Hátránya a módszernek, hogy másodlagos termékekhez vezet, amit hasonló folyamatokkal nem lehet eltávolítani és esetlegesen veszélyesebb az eredeti szennyező anyagoknál [5].

Az adszorpciós eljárások hatékony tisztítási technikának bizonyultak, és nem utolsó sorban olcsó a kivitelezésük. Széles körben használt adszorbens az aktív szén,

melynek nagy a fajlagos felülete és ebből következően nagyon jó az adszorpciós tulajdonsággal rendelkezik.

Az aktív szén használata gazdaságilag nem előnyös, technológiai szempontból nehéz az aktív szén visszanyerése, ezért korlátozott mennyiségben használják ipari szennyvizek tisztítására [4].

Az utóbbi években számos kutatás új adszorbensek keresésére irányul. Az új típusú adszorbensek között kiemelt jelentőségűek a bioszorbensek, melyek természetes biomasszák alkalmazásán alapulnak [6]. Irodalmi adatok igazolják, hogy a biomasszák alkalmazása illetve a mikroorganizmusokkal történő degradációs folyamatok helyettesíthetik az aktív szént használatát [4].

A növényi biomasszák (levelek, gyökér, fa, magok, stb.) ígéretesnek tűnnek. Ezek a növényi adszorbensek kitűnő adszorpciós tulajdonságokkal rendelkeznek (nagy adszorpciós képesség, újrafelhasználhatóság, nem szennyezik a környezetet), melyek fontosak az adszorpciós eljárásokhoz. [7].

Az utóbbi időben több tudományos cikk jelent meg a különböző növényi adszorbensek hatékonyságáról, szennyvizek tisztításának alkalmasságáról.

I.2. Crystal Violet (Kristályibolya) színezék

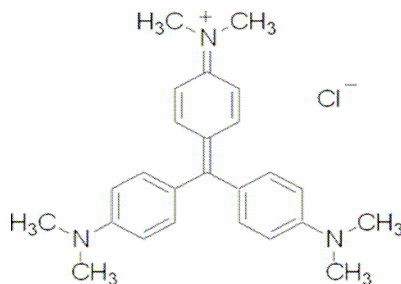
A kristályibolya a trifenil származék családjába tartozik, hexametil pararozanilin klorid, molekulaképlete $C_{25}H_{30}N_3Cl$. Magas koncentrációban toxikus hatása van, emiatt biológiai szennyezőn tényező [8].

Széles körben használják a papír, bőr, textil, kozmetika és az élelmiszer iparban. A textil ipar nagy mennyiségben használja ezeket a vegyületeket, nylon, gyapjú, pamut és selyem, valamint zsírok, olajok, lakkok, viaszok és műanyagok festésére. Továbbá, néhány trifenilmetán származékot, köztük a kristályibolyát, gyógyszerek színezésére használják [5].

A hagyományos módszerekről bebizonyosodott, hogy nem tudják kellő hatással kivonni a kristályibolya festékeket a szennyvizekből. A bioszorpció alkalmazása alternatív lehetőség a szennyvíztisztításra.

A kristályibolya festékanyag, erős színezék, nagyon nehéz degradálni, és sokáig ott marad a környezetben. Inhalálás esetén toxikus hatással rendelkezik és a bőr érintkezésével irritációt okoz [9]. A kristályibolya vegyületek, veszélyt jelentenek a vízi ökoszisztémára, nem csak a vizek elszíneződését okozzák, de ugyanugy komoly veszélyt jelent a vízi élővilágra, és ezek esetleges jelenléte az ivóvizekben, veszélyt jelenthetnek, rákkeltő hatása lehet emberi szervezetre [1].

Kémiai szerkezetét a 1. ábra tartalmazza.



1. ábra. Crystal Violet kémiai szerkezete

I.3. *Elodea canadensis* (Vizihinár)

Az *Elodea canadensis* egy örök zöld vízinnövény, vagy víz alatti makrofita, nagyrészt Észak- Amerikából származik. Először a brit szigeteken jegyezték fel, 1836-ban. A palánta szára és gyökere fejlődik leghamarabb, iszapban növesztik. Végtelen hosszúra is megnőhet a szára. Egy példány elérheti a 3m, vagy akár többet is.

A levelei világos zöldek, áttetsző, hosszúkas, 6-17 mm hosszúak általában és 1-4mm szélesek. Teljes mértékben víz alatt él.

Kedvező környezetben gyorsan növeszthető, ellenben sekély tavakban, kanálisokban, lassan folyó tavak mentén megfulladhat. 10-25°C –os hőmérsékletű vizet igényel és közepes megvilágítást, fényt.

Más néven még Anacharisnak nevezték, valamint vízi kakukkfűnek, vagy árokmenti mohának is nevezik napjainkban.



1.kép. Vízihínár (*Elodea canadensis*)

I.4. Fitoremediáció

A fitoremediáció egy olyan technológiai folyamat, amely során növényeket használnak talaj, iszap, illetve szennyvizek tisztítására. Ez egy hatékony módszer a szennyezések eltávolítására vagy lebontására [10]. A fitoremediáció különböző módszereket tartalmaz :

- fitoextrakció
- rizofiltráció
- fitostabilizáció
- fitodegradáció
- fitovolatilizáció

A növények alkalmazása előnyt jelent, könnyen és gyorsan tudnak alkalmazkodni a szennyezett környezethez. A növényeket a bioremediáció után fel lehet dolgozni, vagy eltávolítani a szennyvizekből.

A fitoremediáció alkalmazható fémek, növényvédőszer, oldószer, policiklikus aromás vegyületek, illetve mesterséges színezékek eltávolítására [11]. Ez a folyamat az utóbbi években nagy sikerességet hozott.

A fitoremediáció előnyei :

- olcsó, esztétikai, nem igényel energiát,
- nagy területen használható, ami nem veszíti el tápértékét és biológiai tulajdonságait,
- alkalmazható kezelésként,
- lehet alkalmazni szerves és szervetlen anyagokhoz,

A fitoremediáció hátrányai:

- A szennyezett növényt fel kell dolgozni,
- A növények fejlődését korlátozza a színezékek nagy koncentrációja, ezért inkább kisebb koncentrációnál alkalmazzák,
- Függ a hőmérséklettől és az éghajlattól,
- Lassú folyamat,
- Nem minden növény halmozza fel és tolerálja a szennyezést.

A fitoremediáció összességében egy hatékony módszer lehet a környezeti szennyeződések eltávolítására, a módszer alkalmazásának lehetőségét a paraméterek megfelelő kiválasztása biztosítja.

II. Gyakorlati rész

II. 1 . A kutatás célja

A kutatómunkám célja fitoremediációs technika kidolgozása szerves szennyezők (kristályibolya) eltávolítására mesterséges szennyvizekből. A kísérletekben alkalmazott tesztnövény az *Elodea canadensis* (vízihínár). A kísérletek során vizsgáltuk a bioszorpció folyamat paramétereit, a növény remediációs képességét, a szerves szennyezők biodegradációját, a szerves szennyező által kiváltott stresszhatást a növényekben, illetve a fitoextrakció folyamat mechanizmusát.

II.2. Anyagok és módszerek

2.1 A tápoldat elkészítése

A fitoextrakció céljából *Elodea canadensis* növényt használtunk. A növényt az Kolozsvári Agronomiai Intézet- Növénybiológiai tanszékéről kaptuk és egy akklimatizációs periódus után használtuk fel a kísérletekre. Az akklimatizáció illetve a kísérletek Hoagland tápoldatban történtek.

A Hoagland tápoldat a következő makro és mikro elemeket tartalmazza: 1.25 mM KNO_3 , 1.25 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.5 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25 mM KH_2PO_4 , 11.6 μM H_3BO_3 , 4.5 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 10 μM $\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$, 0.19 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.12 μM $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, and 0.08 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Ezután különböző koncentrációju mesterséges szennyvizet állítottunk elő 1g/L koncentrációjú kristályibolya törzsoldatból, amelyet Hoagland tápoldattal hígítottunk.

2.2 Felhasznált műszerek

A vizgálatok során a következőket használtuk:

- Laboratóriumi eszközök: Berzelius pohár, Erlenmeyer pohár, 10 ml lombik, mérőhenger, mikor pipetta.
- Laboratóriumi műszerek: UV-VIS spektrofotométer, pH mérő, állandó hőmérsékletet biztosító termosztát , analitikai mérleg.

2.3 Fitoextrakciós kísérletek

A fitoremediációs eljárás hatékonyságát különböző paramétereken tanulmányoztuk (idő, növényi biomassa mennyisége , kezdeti színezék koncentráció, hőmérséklet, kezdeti pH). A kísérletet addig folytattuk, amíg beállt az egyensúly, és a

kristályibolya festékanyag koncentrációja nem változott. A fitoremediációs folyamatokat 28 napos intervallumban vizsgáltuk.

A festékanyag koncentrációjának meghatározása UV-VIS spektrofotométerrel történt, $\lambda=590$ nm-en,

A növények fitoremediációs hatékonyságát a következő képlettel számoltuk ki:

$$\% = \frac{E}{C_k - C_v} \cdot 100$$

E% - fitoremediációs hatékonyság,

C_k – kezdeti koncentráció,

C_v – végső koncentráció.

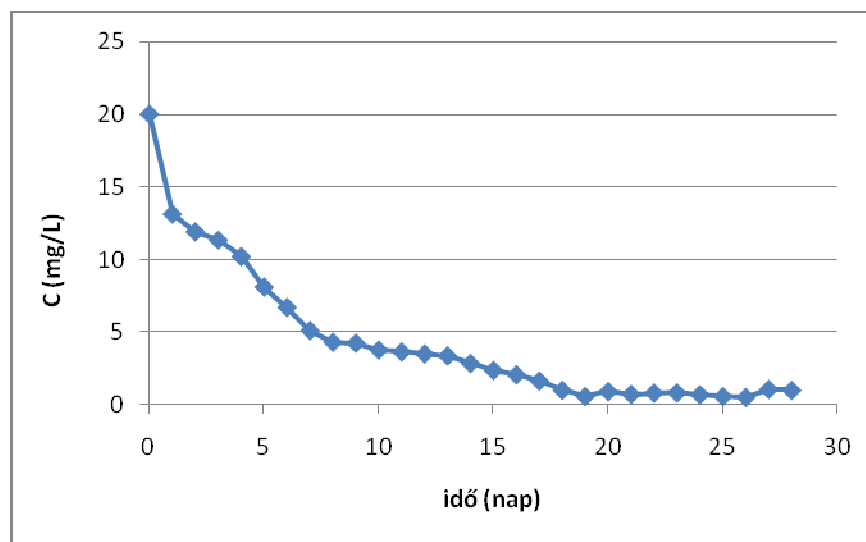
II. 3. A fitoremediáció paramétereinek tanulmányozása

3.1. A kísérleti idő hatása

Az idő hatásának vizsgálatánál 3-4 g-os vízhínár (*Elodea canadensis*) fitoextrakciós hatékonyságát figyeltük 28 napon keresztül, 5 különböző koncentráció : 20mg/L, 30mg/L, 50mg/L, 70mg/L, 90mg/L esetében.

A kísérletek alapján kijelenthető, hogy a koncentráció csökkenés 10-15 nap után elér egy minimális szintet, ahol beáll az egyensúly.

Az eredmények a 2. ábrán láthatóak.



2. ábra. Fitoextrakciós kísérletek hatékonysága a kísérleti idő függvényében ($C_k = 20\text{mg/L}$, *Elodea canadensis* $m = 3\text{-}4\text{g}$, $T = 23^\circ\text{C}$)

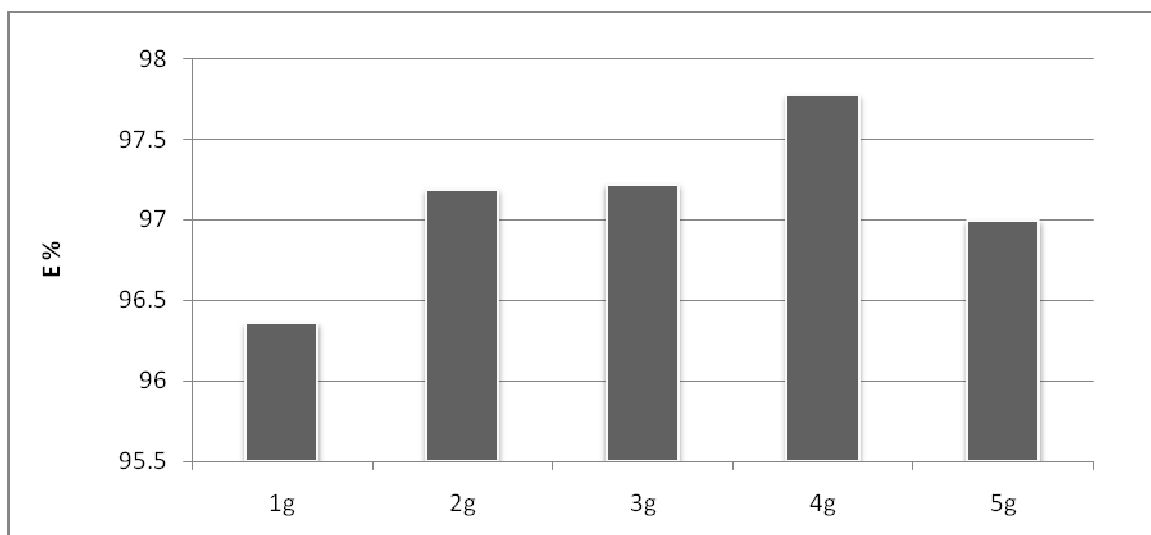
A kísérletünk során tanulmányoztuk az időbeni koncentráció változást 28 napig, az egyensúly beálltaig. Az egyensúly beállta ebben az esetben, 18 nap után történik, a koncentráció 0,5 mg/L értékig csökken.

3.2. A biomassa mennyiségének hatása

Azonos festékanyag koncentráció mellett változtattuk a biomassa mennyiségét (1g, 2g, 3g, 4g, 5g) és vizsgáltuk a fitoextrakciós hatékonyság változását.

Az oldatok kiinduló koncentrációja 26mg/L volt, 250 ml térfogaton dolgoztunk.

A koncentráció változást 10 napon keresztül vizsgáltuk, a mintavétel naponta, ugyanabban az időpontban történt.

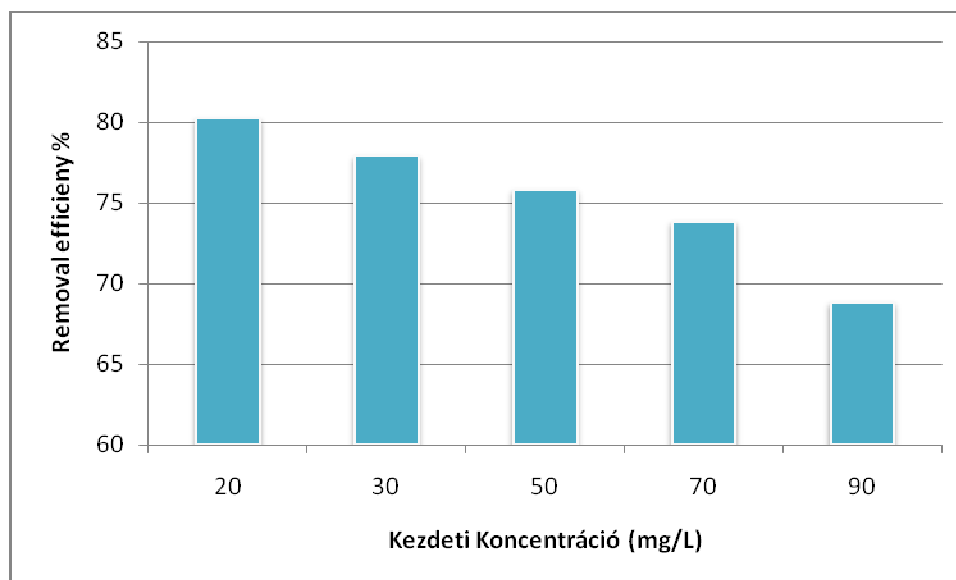


3. ábra. Fitoextrakciós kísérletek hatékonysága a növényi mennyiség függvényében ($C_k = 26.10 \text{ mg/L}$, $T = 23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)

Kísérleteink igazolják, hogy 4 g biomassa esetében értük el a legjobb eredményeket. A további növelés, már nem vezet magasabb hatékonysághoz. Eredményeink igazolják, hogy minden esetben, van egy maximális biomassa mennyiség, amely alkalmazása a legjobb eredményekhez vezet.

3.3. A kezdeti kristályibolya koncentrációjának hatása

A kísérletek 5 különböző kezdeti koncentráción történtek, azonos mennyiségű növényt használva (4g). A következő kezdeti koncentrációkra készítettük el az oldatokat: 20mg/L, 30mg/L, 50mg/L, 70mg/L, 90mg/L. A koncentrációk változást a következő táblázat szemlélteti.



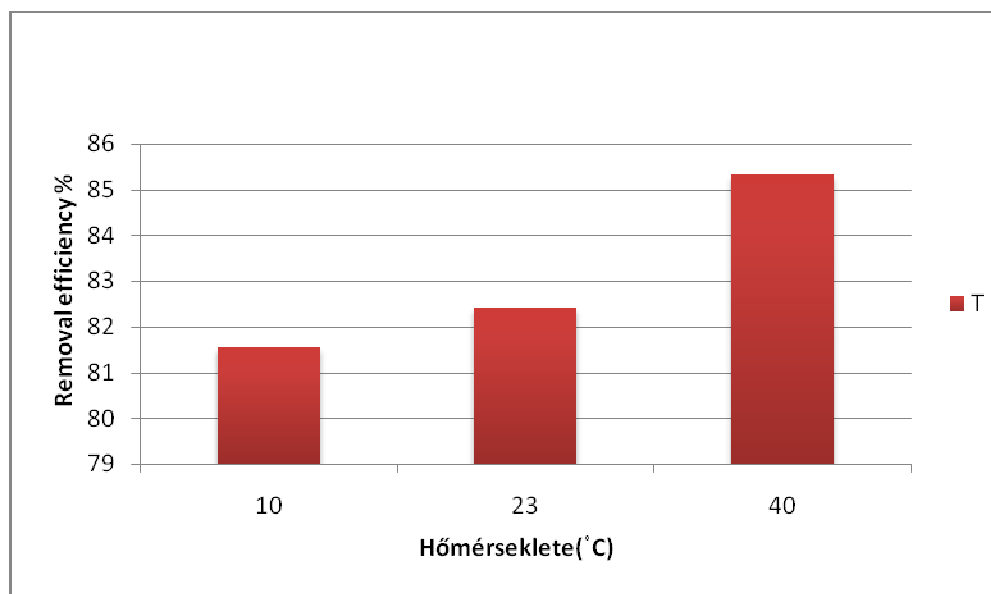
4. ábra. Kezdeti koncentráció hatása a vízhínár (*Elodea canadensis*) fitoextrakciós hatékonyságára, (*Elodea canadensis* m = 4g, T = 23±1 °C)

A kísérletek igazolják, hogy a legkisebb kezdeti koncentrációnál a leghatékonyabb a fitoextrakció. Ahogy a 4.ábra is szemlélteti, a koncentráció növelésével csökken a növény fitoextrakciós hatékonysága. A jelenséget a transzport folyamatok sebességével magyarázhatjuk a fitoextrakció során.

3.4. A hőmérséklet hatása a fitoextrakcióra

A kísérletek során tanulmányoztuk a hőmérsékletet, mint befolyásoló tényezőt a fitoremediációs eljárás hatékonyságára. A kísérleteket 3 különböző hőmérsékleten (10°C, 23 °C, 40 °C) végeztük termosztátban, a kezdeti festékanyag koncentráció 26mg/L volt, 4 g növény mellett.

A fitoextrakciós kísérletet 10 napig végeztük, amíg beállt az egyensúly. a növényeket a mesterséges szennyvízben, amíg stabilizálódott a koncentráció.

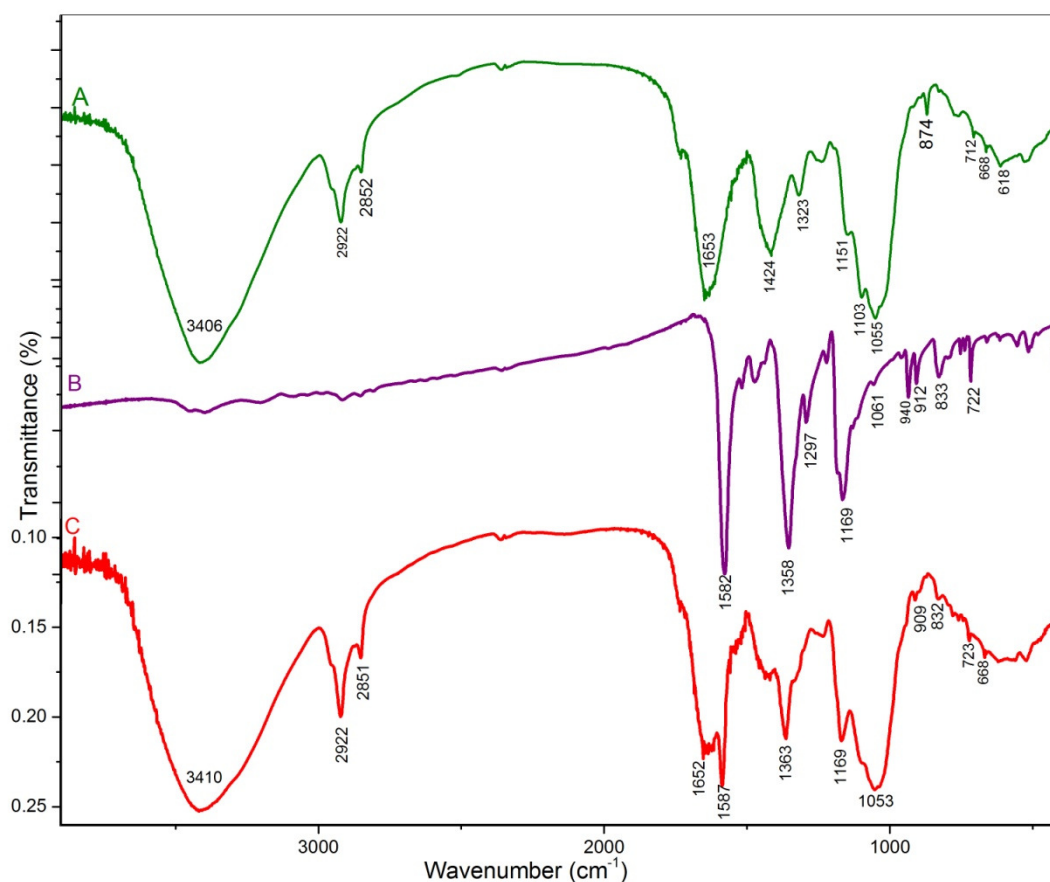


5. ábra. Hőmérséklet hatása a fitoextrakcióra, kristályibolya kezdeti koncentrációja $C_i = 26\text{mg/L}$

A hőmérséklet hatás a fitoextrakciós folyamatokban egy fontos paraméter. Az általunk elvégzett kísérletben látható, hogy a leghatékonyabb eredményeket 40 fokon mértük. A kapott eredmények összhangban vannak a *Chara* makroalga növényre kapott eredményekkel [10]. A hőmérséklet további emelése, nem vezetett javuló eredményekhez. A kapott eredmények magyarázatául a festékanyag mobilitásának változását látjuk. Magasabb hőmérsékletnél a növény fizikai állapota negatívan változik.

II.4. FTIR analízis

A növény sejtfala különböző szerves ionokat tartalmaz: Mg^{2+} , Ca^{2+} és szerves komponenseket, mint pl: proteinek, zsírok, polimer szénhidrátok (cellulóz, xilán, stb.). A karbonsav és foszfát csoportok jelentik azokat a funkciós csoportokat, melyek savas tulajdonsággal rendelkeznek és ezek fontos szerepet játszanak. A fitoextrakció folyamatának jellemzésére felvettük az IR spektrumait a vízhínárnak a szennyezés előtt illetve a szennyezés után. A kapott spektrumokat összehasonlítottuk a kristályibolya spektrumaival is. Az eredményeket a 6. ábra mutatja.



6. ábra. Zöld spektrum: Vízhínár (*Elodea canadensis*), lila spektrum: kristályibolya (*Crystal Violet*), piros spektrum: Vízhínár + kristályibolya

A nem kezelt növény FT-IR spektruma tartalmazza a sejtfal jellemző rezgéseit az NH csoportrezgést, a karbonil csoport jellemző rezgését, illetve a C=C és C=N vegyértékrezgéseket a megfelelő rezgési tartományokban.

A fitoremediáció után újra felvettük a növény IR spektrumát, és számos változást észleltünk a spektrumon. A jobb összehasonlíthatóság miatt a festékanyag, kristályibolya, IR spektrumát is felvettük. Az összehasonlító ábrán látható, hogy a 4000-2000 cm^{-1} között nem látható semmilyen különbség az IR spektrumban, amit azzal magyarázunk, hogy ebben az intervallumban a festékanyag nem ad IR jelet. A szennyezett növényben a festékanyag intenzitása láthatóan megjelent. A szennyezett növény esetében új jelek jelennek meg a 1587 cm^{-1} -nél és a 1363 cm^{-1} -nél, ami megegyezik a festékanyagból származó jelekkel. Az összehasonlító ábrán azt

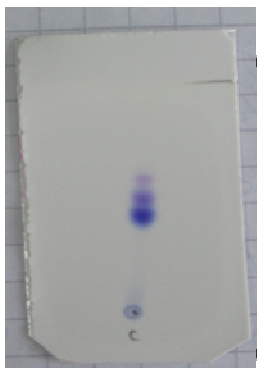
tapasztaltuk, hogy a $1350\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ között nem tapasztalható jelentős különbség a nem kezelt növény és a szennyezett növény között, ami jelek átfedésével magyarázható a növény illetve festékanyag esetében.

Következtetés: A növény tartalmazza a színezékre jellemző maximumokat is, amit egyértelműen bizonyítja a fitoextrakció jelenségét. Tehát a bioremediáció során a festékanyag bizonyítottan feljut a növény sejtjeibe. A szennyezett növényben 2 új jel jelenik meg.

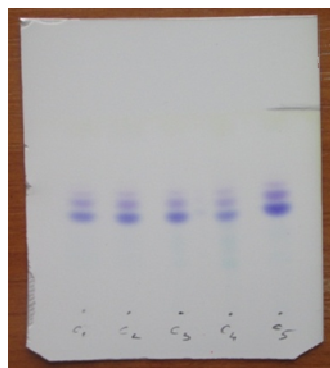
II.5 Degradációs folyamatok vizsgálata a bioremediációban

A fitoextrakciós körülmények között a szennyvízben oldott festékanyag, a növény jelenléte miatt degradációs folyamatokban is résztvehet. A degradáció jelenlétét vékonyréteg krommatográfiával vizsgáltam.

A szerves anyagokat a mesterséges szennyvízből extrakcióval izoláltam a bioremediáció után, két esetben: A különböző hőmérsékleten végzett bioremediációs kísérletek esetében (a) és a különböző kezdeti koncentrációkkal végzett kísérletek esetében (b). Az extrakciót etil acetáttal végeztem vízes fázis/szerves fázis 1:1 arányban. Az extrakció során a festékanyag illetve a degradációs termékek a szerves fázisba kerülnek. Az extrakciót 10 perc rázogatás, 10 perc pihentetés az elválasztó tölcserben, végeztem. A szerves fázist elválasztás után szárazra koncentráltam, majd felvettem 5 ml etanollal. Az etanolos oldatot VRK-val analizáltam. A mobilfázis metanol, etil- acetát, butanol, víz és ecetsav (1:2:3:1: 0.2) arányban volt.

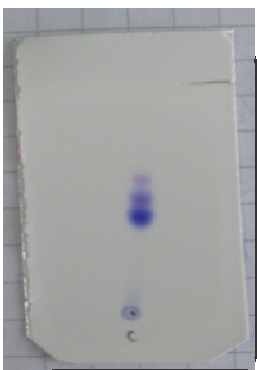


2.a



2.b

2.kép. Az etilacetáttal végzett extrakció során kapott minták összehasonlítása a színezékkal.(a) és a különböző kezdeti koncentrációkkal végzett kísérletek esete (b)



3.a



3.c

3. kép. Az etilacetáttal végzett extrakció során kapott minták összehasonlítása a színezékkal.(a). A különböző hőmérsékleten végzett bioremediációs kísérletek esete (a)

A kromatogrammok alapján megállapítható, hogy a kísérleti körülményeink között nem történik degradáció, a kromatogrammon látható szennyeződések, meghatalálhatóak a festékanyagban is.

A bioremediációs folyamat további jellemzésére a növényi mintákat is elemeztük. VRK vizsgálatokat végeztünk a nem szennyezett növényekből szerves anyag extrahálásával a nem szennyezett növényekből illetve a bioremediációnak kitett, a szennyezett növényekből. A hőmérséklet hatásvizsgálataiból származó növényeket használtam fel, a kísérlethez, illetve egy nem kezelt vízhínárt, standardként. A növényeket összemozsaráltam, felhígítottam 5ml etanollal, majd 10 perc rázogatós után,

vékonyréteg kromatográfiát készítettem az etanolos oldatból, ugyanabban a mobilfázisban.



4.kép. A szennyezett és kontrol vízihínár vékonyréteg analízise

Az összehasonlítás igazolja, hogy a bioremediáció során a festékanyag felszívódott a vízihínárba, de degradációs termékeket itt sem mutattunk ki.

A kromatográfiós vizsgálatok alapján kijelenthetjük, hogy a mi kísérleti körülményeink között nem keletkeznek degradációs termékek.

II.6 A stressz által indukált fotoszintetikus pigmentek mennyiségi meghatározása

A bioremediáció során az alkalmazott növények a szennyezés miatt toxikus stressznek vannak kitéve, melyre különböző biológiai válaszokat adnak.

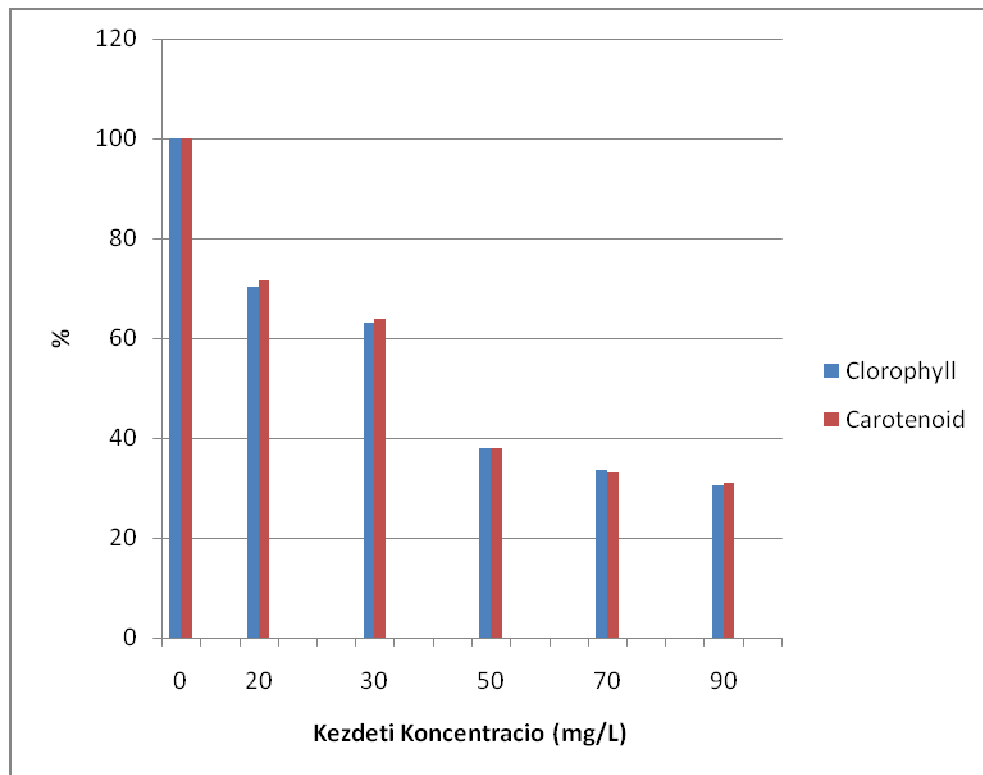
A fitoextrakciós kísérleteknél megvizsgáltuk, hogy a növényekben mennyiségileg mennyire változnak meg a fotoszintetikus pigmentek (karotenoid, összklorofill) koncentrációja.

A fitoextrakciós kísérletek után a növényekből ($m = 1g$) etanollal (95%) történő extrahálással vontuk ki a klorofill és a karotenoid pigmenteket. A mennyiségi meghatározásokat UV spektrometriával végeztük ($\lambda = 470, 648nm$).

A kapott eredményeket a 7. ábra tartalmazza. A kísérleteket 5 különböző kezdeti koncentráción végzett fitoextrakciónak kitett növényeket végeztük.

Látható, hogy a kezelések hatására a klorofill és karotenoid szint mind az 5 esetben lecsökken. A nem kezelt növény klorofill és karotenoid szintjét 100%-nak vettük.

A további eredmények a kezelt növények fotoszintetikus pigmentjének csökkenését ehhez viszonyítva százalékban mutatják.



7. ábra. A kontrol és a kezelt növények fotoszintetikus pigmentjeinek tartalma a fitoextrakciós kísérletek után

II.7. Következtetések

A végzett kutatómunka, igazolja, hogy a vízhínár képes fitoextrakcióra, kísérleteink egyértelműen igazolják, hogy a vízinövény jelentős mennyiségű festékanyagot szívott fel a mesterséges szennyvízből.

Kísérleteink bemutatják az egyes paraméterek hatását a fitoextrakciós folyamatra, melyeknek nagy jelentőségük van a gyakorlati alkalmazás szempontjából. A fitoextrakciós mechanizmus tisztázása érdekében vizsgáltuk a felszívódás és megkötés körülményeit, illetve a degradációs folyamatok lehetőségeit. A klorofill és karotenoid fotoszintetikus pigmentek változásának meghatározásával, a növény biológiai válaszait vizsgáltuk, a toxikus hatásra.

III. Bibliografía

1. Ricardo E. Palma-Goyes, Fernando L. Guzmán-Duque, Gustavo Penuela, Ignacio González, Jose L. Nava, Ricardo A. Torres-Palma, *Chemosphere* 81, **(2010)**, 26-32.
2. Parshetti G. K., Parshetti S.G., Telke A. A., Kalyani D. C., Doong R. A., Govindwar S. P., *Journal of Environmental Sciences*, 23(8), 1384–1393, **2011**.
3. Sharma Mona, Anubha Kaushik, C.P. Kaushik, *International Biodeterioration & Biodegradation* 65 **(2011)** 513-521.
4. Paula Durango-Usuga, Fernando-Guzmán-Duque, Rosa Mosteo, Mario V. Vazquez, Gustavo Penuela, Ricardo A. Torres-Palma, *Journal of Hazardous Materials* 179 **(2010)** 120-126
5. R.M.Reema, P. Saravanan, M. Dharmendra Kumar & S. Renganathan, *Separation Science and Technology*, 46:6, 1052-1058, **2011**
6. Luyi Zhang, Huayong Zhang, Wei Guo, Yonglan Tian, *Applied Clay Science*, 93-94 **(2014)** 85-93
7. Flávio A. Pavan, Eveline S. Camacho, Eder C. Lima, Guilherme L. Dotto, Vivian T.A. Branco, Silvio L.P. Dias, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2 (2014), 230-238
8. Sharma Mona, Anubha Kaushik, C.P. Kaushik, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65, (2011), 513- 521
9. Kagalkar A. N., Jadhav M. U., Bapat A. V., Govindwar S. P., *Bioresource Technology*, 102, 10312–10318, **2011**
10. Sureshvar K., Bharathiraja B., Jayakumara M, Jayamuthunagaib J., Balaji I., *International Journal of Chemical Sciences*, 8(1), 687-700, **2010**
11. Martin A. Schoonen, Jan M.T. Schoonen, *Journal of Colloid and Interface Science*, 422 **(2014)**, 1-8