

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

Recibido para publicación: septiembre 25 de 2012.

Aceptado en forma revisada: noviembre 20 de 2012.

### **Espectroscopia infrarroja: una técnica alternativa para la identificación de microorganismos**

### **Infrared spectroscopy: an alternative technique for the identification of microorganisms**

[Aparicio Marengo Dilia](#),<sup>1</sup> Ariza Daza José,<sup>2</sup> Calvo Trujillo Maiween, Daza Cuello Jhon<sup>2</sup>, Echávez Plata Eyleen<sup>2</sup>

## RESUMEN

El presente artículo es una revisión de la espectroscopia infrarroja como una técnica alternativa para la caracterización microbiana, permitiendo la discriminación a nivel de género, especie y aún entre cepas y serotipos. La espectroscopia infrarroja se basa en la absorción de los rayos infrarrojos de luz por varias moléculas en una muestra. Esta permite analizar todas las longitudes de onda del espectro infrarrojo simultáneamente, siendo las que pertenecen a la región media la de mayor utilidad práctica, cuya extensión se encuentra entre un rango de 4000 y 650  $\text{cm}^{-1}$ , ofreciendo un método rápido y confiable para el análisis de compuestos orgánicos, células y tejidos entre otras. La capacidad de expresar una huella dactilar específica permite que la espectroscopia infrarroja pueda ser utilizada para la identificación de cepas microbianas desconocidas en las bibliotecas de datos espectrales. Es así, como en años recientes han sido publicadas diversas investigaciones orientadas a la identificación de microorganismos tales como *bacterias*, *parásitos* y *levaduras* entre otros. Por tal, este trabajo de revisión de literatura médica tiene por objeto describir aspectos relacionados con los antecedentes históricos, el impacto y aplicabilidad de ésta técnica en las ciencias biomédicas mediante la búsqueda, recopilación y revisión de artículos de publicación reciente en diversas bases de datos de carácter científico y médico.

**Palabras Claves:** Espectroscopia, infrarrojo, microorganismos, absorción.

<sup>1</sup> Microbióloga, MSc. Programa de Medicina, Corporación Universitaria Rafael Núñez.

<sup>2</sup> Estudiantes de Medicina. Programa de Medicina, Corporación Universitaria Rafael Núñez.

Correspondencia: [dilia.aparicio@curnvirtual.edu.co](mailto:dilia.aparicio@curnvirtual.edu.co)

## ABSTRACT

This article is a review of infrared spectroscopy as an alternative technique for characterizing microbial, allowing discrimination at the genus, species and even between strains and serotypes. Infrared spectroscopy relies on the absorption of infrared light by various molecules in a sample. This allows the analysis of all wavelengths simultaneously infrared spectrum, with those belonging to the middle region of the greatest practical value, whose length is between a range of 4000 and 650  $\text{cm}^{-1}$ , providing a rapid and reliable method for the analysis of organic compounds, cells and tissues, among others. The ability to express a specific fingerprint allows infrared spectroscopy can be used for the identification of unknown microbial strains spectral data libraries. Thus, as in recent years several studies have been published aimed at identification of microorganisms such as bacteria, parasites and yeasts among others. As such, this work of literature review is to describe aspects of the historical background, the impact and applicability of this technique in the biomedical sciences by identifying, collecting and reviewing recently published articles in several databases scientific and medical

**Keywords:** Spectroscopy, infrared, microorganisms, absorption.

## 1. INTRODUCCIÓN

Una gran cantidad de métodos de detección han sido desarrollados utilizando las propiedades ópticas, electroquímicas, bioquímicas y físicas de los diferentes microorganismos de importancia clínica y ambiental. A través del tiempo, estas técnicas microbiológicas han sido mejoradas en las áreas de preparación de muestras, técnicas de cultivo, conteo y en kits de identificación [1].

Para determinar la metodología apropiada para el manejo de muestras ambientales es necesario definir primero si se trabajará con protozoarios, algas, bacterias, hongos o virus [1-5]. Es necesario contar con protocolos estándar que tengan bajo costo, rapidez y sensibilidad a la hora de identificar el tipo de microorganismo [2].

Una técnica ideal para lograr una rápida caracterización microbiana debería contemplar una mínima preparación de la muestra, el análisis automático de gran cantidad de muestras en forma seriada, con bajo costo de reactivos, y la disponibilidad de una base de datos estable, de fácil empleo y operación en forma automatizada bajo el control por computadoras [3]. Los métodos tradicionales son lentos pero pueden detectar varios microorganismos de manera simultánea, incluyendo la determinación de su viabilidad, mientras que los métodos rápidos pueden detectar solamente un microorganismo específico por análisis aunque son adecuados si se requiere de un diagnóstico rápido como es la espectroscopia por infrarrojo [2].

La espectroscopia infrarroja es una técnica de análisis para obtener información acerca de los procesos de absorción y emisión sobre las moléculas que se encuentran en la

materia. Se clasifica en dos tipos: La espectroscopia de masa (Destructiva) y la espectroscopia de tipo vibracional (No destructiva) [4].

Esta técnica clasifica a los organismos en diferentes niveles taxonómicos y tiene en cuenta el estado fisiológico del microorganismo analizado, ya que el espectro refleja la composición bioquímica de las células en estudio [4-7].

## 2. HISTORIA

La radiación Infra-Roja (IR) fue descubierta en 1800 por el astrónomo William Herschel mediante los efectos térmicos de la misma, al aplicar un termómetro a las diferentes zonas del espectro de la luz solar [1].

Los primeros espectros IR de líquidos orgánicos y sólidos inorgánicos fueron obtenidos por Coblentz en 1900-1910. En años posteriores se determinó la estructura rotacional de las bandas IR de diferentes gases y se evaluaron parámetros moleculares a partir de los mismos. El potencial de la espectroscopia IR en el campo de la química estructural fue reconocido ya en los años 30 [1].

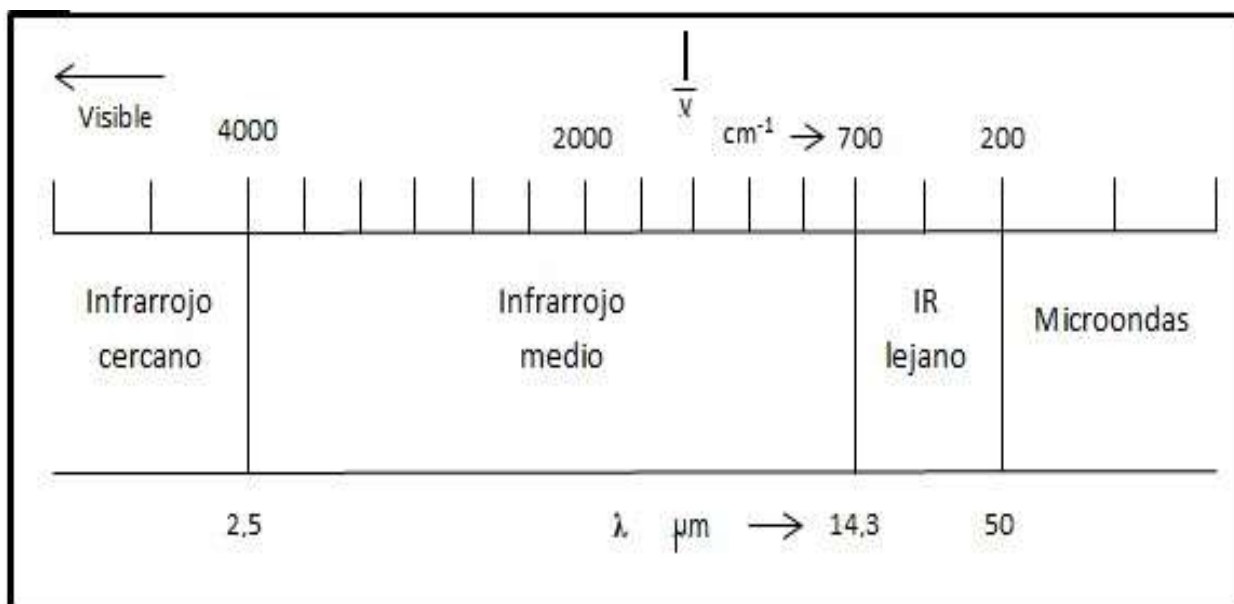
Durante la segunda guerra mundial, las necesidades de determinación de la composición de la materia prima para la producción comercial de goma sintética (fracción de hidrocarburos CB4B) fracción de hidrocarburos CB4B estimularon el desarrollo de la espectrometría IR, construyéndose entonces los primeros equipos IR comerciales. Hasta los años 60 se utilizaron equipos dispersivos con monocromadores de prisma o red [1].

Esta técnica permite analizar todas las longitudes de onda del espectro infrarrojo simultáneamente, ofreciendo un método rápido y confiable para el análisis de muestras conteniendo una o más sustancias químicas. Esta ventaja permite el análisis de compuestos orgánicos, células y tejidos [6].

## 3. REGIONES DEL INFRARROJO

La región infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres secciones: cercana, media y lejana [8]. La sección de mayor utilidad práctica es aquella que se extiende entre 4000 y 650  $\text{cm}^{-1}$  denominada región infrarroja media. La región lejana se encuentra entre 650 y 200  $\text{cm}^{-1}$ , ésta se utiliza para el estudio de compuestos organometálicos e inorgánicos. Y, la región infrarroja cercana mide entre 12500 y 4000  $\text{cm}^{-1}$  empleada para determinaciones cuantitativas (Figura 1) [3, 5, 7, 8].

**Figura 1. Región infrarroja del espectro electromagnético**



Tomado de: [http://www.fq.uh.cu/dpto/qf/docencia/pregrado/estruc\\_2/ir/descargas/1\\_ir\\_tecnica.pdf](http://www.fq.uh.cu/dpto/qf/docencia/pregrado/estruc_2/ir/descargas/1_ir_tecnica.pdf)

#### 4. FUNDAMENTOS DE LA TÉCNICA DEL INFRARROJO

La base de la FT-IR es la absorción de los rayos infrarrojos de luz por varias moléculas en una muestra. Por lo tanto, el FT-IR consiste en someter a una energía el haz de infrarrojos que es emitido por una fuente: así el haz de luz cruza una cámara para controlar la cantidad de energía radiada en la muestra. Los rayos infrarrojos entre el interferómetro espectral es donde la codificación se lleva a cabo y el interferograma resultante se encarga de las salidas de la señal del interferómetro. Además, el haz de luz infrarroja de energía entra en el compartimento de la muestra donde se transmite a través o reflejada desde la superficie de la muestra según del tipo de análisis que se realiza. Finalmente, el haz se pasa al detector para la medición final y se mide la señal que se digitaliza y se envía de nuevo al equipo en el que la transformación de Fourier se lleva a cabo [8, 9].

La capacidad de expresar una huella dactilar específica permite que la espectroscopia FTIR pueda ser utilizada para la identificación de cepas microbianas desconocidas en las bibliotecas de datos espectrales. El potencial de la espectroscopia de rayos infrarrojos para identificar los componentes químicos a través de las huellas digitales de todo el espectro de vibraciones es insuperable [9].

#### 5. TIPOS DE INFRARROJO Y DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS

Existen dos clases de equipos utilizados para las técnicas espectroscópicas: Equipos dispersivos, la técnica de reflexión total y el equipo transformado de Fourier. El primero funciona sobre la base de la irradiación secuencial de la muestra con radiaciones infrarrojas de diferentes frecuencias. La segunda es utilizada para monitorear la adhesión

a superficies por *Cryptosporidium parvum* bajo factores ambientales. La técnica de Fourier está basada en determinaciones interferométricas, someten a la muestra a la irradiación simultánea proveniente de la fuente infrarroja policromática [1]. La Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FT-IR) es una poderosa técnica para la caracterización de la composición química de sondas muy complejas, tales como los microorganismos [10]. Es utilizada en el rango de infrarrojo medio donde es posible localizar picos de absorción específicos relacionados con enlaces químicos específicos [11].

La aplicación espectroscópica es de tipo cualitativo y reside en la identificación de determinados grupos funcionales de una molécula. Dicha utilidad ha sido el estudio de la sistemática microbiana, particularmente la identificación y clasificación de bacteria, levaduras, hongos y algas [12,13]. La espectroscopia infrarroja de bacterias de ácido láctico se estudió en 1958. Desde entonces, se han escrito numerosos estudios sobre el uso de la espectroscopia infrarroja para clasificación e identificación de patógenos transmitidos por los alimentos como *Bacillus cereus*, *Brucella*, *Campylobacter spp.*, *E. coli*, *Listeria spp.*, *Mycobacterium bovis*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* y *Yersinia spp* [12-15].

También un enfoque de FT-IR se ha utilizado para evaluar los efectos de la presión osmótica sobre el comportamiento de la fase de los lípidos polares extraídos de *E. coli*, monitoreo del cambio de frecuencia de los 2850  $\text{cm}^{-1}$  banda asignado a -CH<sub>2</sub> simétrico estiramiento modo, en función de la presión osmótica de la solución de glicerol depositado sobre el extracto de fosfolípidos [14-17].

La técnica ha servido para determinar la presencia y cantidad de daño en las células vegetativas en los productos alimenticios y para probar la eficacia de los tratamientos de procesamiento de alimentos. También ha sido aplicada con éxito en diversos campos de control de calidad y para la identificación de hongos filamentosos y levaduras [9, 18].

La detección e identificación de patógenos en alimentos es básica en la seguridad alimentaria ya que permite identificar las posibles causas de contaminación, proporciona datos sobre la evaluación del riesgo, medidas de reducción e identifica las operaciones de la cadena alimentaria, procesos, productos que representan una amenaza para la salud pública [19].

Muchos trabajos de investigación han hecho hincapié en la capacidad de FT-IR espectroscopia para estudiar los cambios dinámicos en las poblaciones de bacterias y para discriminar entre los diferentes fenotipos de una cepa bacteriana, dado que ofrece la posibilidad de identificar los fenotipos relevantes para la seguridad alimentaria y la salud pública, es decir, aquellos que muestran una altísima resistencia a los sistemas de procesamiento de alimentos y condiciones ambientales adversas, tales como los fenotipos resultantes de la respuestas a la tolerancia de adaptación bacteriana [20].

Las técnicas han demostrado ser sensibles para la identificación de células cancerosas, células madres, células infectadas por virus y microorganismos. Los cultivos celulares tienen muchas ventajas y son más convenientes para la investigación básica. Éstos ofrecen un modelo ideal para la detección de los cambios celulares durante el desarrollo espectral de la infección viral [21].

Es posible identificar entre la etapa temprana y tardía de la infección, por lo tanto la microscopía de Fourier en conjunto con las herramientas estadísticas adecuadas pueden ofrecer una técnica prometedora para la detección de cambio durante las diferentes etapas de la progresión del herpes virus y probablemente otros virus. Además, cada examen requiere una pequeña cantidad de muestras y los resultados son obtenidos en muy corto tiempo. Vale la pena seguir desarrollando esta técnica como una herramienta eficaz y fiable para el diagnóstico de la infección viral [21].

Una de las creaciones más recientes con referencia a los tipos de infrarrojos son aquellos espectros de infrarrojo de los complejos de Cu (II), bisquelados con los aminoácidos glicina, alanina, leucina, isoleucina, valina y fenilalanina, conocidos por presentar diferentes tipos de actividad farmacológica, fueron registrados y analizados en base a sus peculiaridades estructurales [22].

## 6. IMPACTO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Y OTRAS APLICACIONES

A nivel mundial, los procesos infecciosos son responsables de aproximadamente el 25% de las muertes que se producen anualmente [23-25]. En los últimos años, técnicas fisicoquímicas basadas en espectroscopia vibracional como la espectroscopía infrarroja transformada de fourier (FT-IR) ha demostrado ser una herramienta poderosa para la caracterización microbiana, permitiendo la discriminación a nivel de género, especie y aún entre cepas y serotipos [26-28]. Esta técnica es rápida, requiere escasa biomasa, es fácil de implementar y puede llegar a ser muy efectiva en lo referente a costos, reducción de la manipulación y el uso de reactivos [15, 29-34].

Diversas investigaciones, utilizando la técnica del infrarrojo, para la identificación de microorganismos han sido publicadas en un gran número de artículos en revistas educativas reconocidas a nivel mundial [35-40].

El desarrollo de un método rápido y no destructivo para evaluar los niveles de pureza en las muestras de sílice biogénico antes de la geoquímica / análisis de los isótopos es un objetivo importante, hoy en día, en la mejora de la calidad y la utilización de datos en la investigación ambiental y paleoclimática (tabla 1) [41-46].

**Tabla 1. Impacto en ciencias biomédicas y otras aplicaciones.**

TÍTULO	MICOORGANISMOS	AUTOR
--------	----------------	-------



Accelerating bacterial identification by infrared spectroscopy by employing microarray deposition of microorganisms.	<i>Yersinia enterocolitica, Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes, Enterobacter cloacae, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli.</i>	Sufian F., [et al], (2004)
Detection and differentiation of bacterial spores in a mineral matrix by fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and chemometrical data treatment.	<i>Bacillus spores.</i>	Brandes A., [et al], (2011)
Empleo de espectroscopia infrarrojatransformada de fourier para diferenciar bacterias de importancia clínica	<i>Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Saprophyticus</i>	Nieto L., [et al], (2004)
Fourier transform infrared microspectroscopy as a new tool for nematode studies.	Nematode species	Ami D., [et al], (2004)
Fourier transform infrared spectroscopy for rapid identification of nonfermenting gram-negative bacteria isolated from sputum Samples from cystic fibrosis patients.	<i>Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Burkholderia cepacia complex (BCC), Stenotrophomonas maltophilia, Ralstonia pickettii, Acinetobacter spp., Achromobacter spp.</i>	Bosch A., [et al], (2008)
Diffuse reflectance infrared fourier transform spectroscopic (DRIFTS) investigation of E. Coli, Staphylococcus Aureus and Candida Albicans, Indian Journal Of Marine Sciences.	<i>E. Coli, Staphylococcus Aureus Candida Albicans.</i>	D'Souza I., [et al], (2009)
Infrared spectral changes identified during different stages of herpes viruses infection in vitro.	<i>Herpes virus</i>	Erukhimovitch V., [et al], (2011)
Changes in ultrastructure and fourier transform infrared spectrum of Salmonella enterica serovar typhimurium cells after exposure to stress conditions	<i>Salmonella enterica</i>	Álvarez A., [et al], (2010)
Rapid identification of Candida species by confocal raman microspectroscopy.	<i>Candida species</i>	Maquelin K., [eat al], (2002)
Comparación entre dos pruebas del aliento con 13C-urea para el diagnóstico de la infección por Helicobacter pylori: espectrometría de masas frente a infrarrojos.	<i>Helicobacter pylori</i>	Gisbert J., [et al], (2003)

## CONCLUSIÓN

La espectroscopia infrarroja es una técnica de análisis para obtener información acerca de los procesos de absorción y emisión sobre las moléculas que se encuentran en la materia. Clasifica a los organismos en diferentes niveles taxonómicos y tiene en cuenta el estado fisiológico del microorganismo analizado, esta técnica ha demostrado ser una

herramienta poderosa para la caracterización microbiana, permitiendo la discriminación a nivel de género, especie y aún entre cepas y serotipos. Diversas investigaciones, utilizando la técnica del infrarrojo, para la identificación de microorganismos han sido publicadas en un gran número de artículos en revistas científicas reconocidas a nivel mundial.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Mondaca I, Gortáres P, Baldera J, Meza MM, Castro L. Utilización de espectroscopia infrarroja FTIR para la detección de microorganismos. [Biociencias y Nanociencias, 2010; 1-8.](#)
2. Al-Khaldi SF, Mossoba MM, Ismail AA, Fry FS. Accelerating bacterial identification by infrared spectroscopy by employing microarray deposition of microorganisms. [Foodborne Pathogens and Disease, 2004; 1: 172-177.](#)
3. Garip, S. Use of Fourier transform infrared spectroscopy for rapid comparative analysis of Bacillus and Micrococcus isolates. *Food Chem*, 2009; 113:1301-1307.
4. Alvarez-Ordoñez A, Prieto M. Changes in ultrastructure and fourier transform infrared spectrum of Salmonella enterica serovar typhimurium cells after exposure to stress conditions. [Applied and Environmental Microbiology, 2010; 76: 7598-7607.](#)
5. Ami D, Natalello A, Zullini A, Doglia SM. Fourier transform infrared microspectroscopy as a new tool for nematode studies. [Febs Letters, 2004; 576: 297-300.](#)
6. Cabarico A. Espectroscopía Infrarroja y Ultravioleta. 2011. Disponible en: <http://andreacabarico.blogspot.com/2011/09/espectroscopia-infrarroja-y.html>
7. Soler T, Juan J. Espectroscopía Infrarroja, Universidad de Alicante, 2010. Disponible en: [http://www.ua.es/es/investigacion/sti/servicios/analisis\\_instrumental/rayosx\\_monocristales/infrarroja.html](http://www.ua.es/es/investigacion/sti/servicios/analisis_instrumental/rayosx_monocristales/infrarroja.html)
8. Larrahondo JE, Palau FJ, Ramírez C. Espectroscopía de infrarrojo cercano – NIR. Serie procesos industriales (Cenicaña), 2001; Centro de investigación de la caña de azúcar de Colombia. Disponible en: [http://www.cenicana.org/publicaciones/serie\\_pro\\_indus/serie\\_pro\\_indus.php?opcion=2](http://www.cenicana.org/publicaciones/serie_pro_indus/serie_pro_indus.php?opcion=2)
9. Gurdeniz, G. Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy. *Eur. Food Res. Technol.* 2008; 1275-128.
10. Bosch MA. Caracterización, diferenciación e identificación de microorganismos por espectroscopía infrarroja-transformada de Fourier. Tesis de doctorado, Universidad Nacional de la Plata. 2005.
11. Ellis DI, Broadhurst D, Kell DB, Rowland JJ, Goodacre R. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of meat by Fourier transform infrared spectroscopy and machine learning. [Appl. Environ. Microbiol, 2002; 68: 2822-2828.](#)
12. Maquelin K, Choo-Smith LP, Endtz HP, Bruining HA, Pupples GJ. Rapid identification of Candida species by confocal Raman microspectroscopy. [J Clin Microbiol, 2002; 40: 594-600.](#)
13. Bosch MA. (2006), Investigadores de la UNLP detectan bacterias que afectan a fibroquísticos. Entrevista publicada en: <http://pdf.diariohoy.net/2006/12/04/pdf/10-c.pdf>
14. Rivero A, Sánchez-Valverde F, Olivera JE, García S. Medida de la composición fecal en niños celiacos mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano. 2010. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol23/n3/orig2a.html>
15. Nieto LI, Donolo AS, Bava AJ, Yantorno OM. Empleo de espectroscopia infrarroja-transformada de Fourier para diferenciar bacterias de importancia clínica. [Acta Bioquím Clin Latinoam, 2004; 38: 289295.](#)
16. Hernández-Eugenio G. Detección del crecimiento de *Escherichia coli* con termografía infrarroja. [Agrociencia, 2007; 41: 503-511.](#)
17. Jothikumar N. Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 with multiplex real time PCR assays. *Appl. Environ. Microbiol*, 2002; 3169-3171.
18. Galvis-Sánchez, AC, Barros A, Delgadillo I. FTIR-ATR infrared spectroscopy for the detection of ochratoxin A in dried vine fruit. [Food Additives & Contaminants, 2007; 24: 1299-1305.](#)



19. Fu D, Walker KA, Sung K, Boone CD, Soucy MA, Bernath PF. The portable atmospheric research interferometric spectrometer for the infrared, PARIS-IR. [Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer, 2007; 103: 362-370.](#)
20. Jarvis RM, Goodacre R. Discrimination of bacteria using surface-enhanced Raman spectroscopy. [Anal Chem, 2004; 76: 40-47.](#)
21. Erukhimovitch V, Bogomolny E, Huleihil M, Huleihel M. Infrared spectral changes identified during different stages of herpes viruses infection in vitro. [Analyst, 2011; 136: 2 818–2824.](#)
22. Beekes M, Lasch P, Naumann D. Analytical applications of Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy in microbiology and prion research. [Veterinary Microbiology, 2007; 123: 305-319.](#)
23. Brandes A, Brandl H. Detection and differentiation of bacterial spores in a mineral matrix by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and chemometrical data treatment. [BMC Biophysics, 2011; 4: 1-7.](#)
24. Wenning M, Seiler H, Scherer S. Fourier-transform infrared microspectroscopy, a novel and rapid tool for identification of yeasts. [Appl. Environ. Microbiol, 2002; 68: 4717-4721.](#)
25. Sandt C, Socklingum GD, Aubert D, Lapan H, Lepouse C, Jaussaud M, et al. Use of Fouriertransform infrared spectroscopy for typing of *Candida albicans* strains isolated in intensive care units. [J Clin Microbiol, 2003; 41: 954-959.](#)
26. Naumann A, Navarro-González M, Peddireddi S, Kües U, Polle A. Fourier transform infrared microscopy and imaging: Detection of fungi in wood. [Fungal Genet. Biol, 2005; 42: 829-835.](#)
27. Mariey L. Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Vib. Spectrosc*, 2001; 26:151-159.
28. Fischer G, Braun S, Thissen R, Dott W. FT-IR spectroscopy as a tool for rapid identification and intraspecies characterization of airborne filamentous fungi. [J Microbiol Methods, 2006; 64: 63-77.](#)
29. Santos C, Fraga ME, Kozakiewicz Z, Lima N. Fourier transform infrared as a powerful technique for the identification and characterization of filamentous fungi and yeasts. [Res Microbiol, 2010; 161: 168175.](#)
30. Álvarez-Ordóñez A, Mouwen DJM, López M, Prieto M. Fourier transform infrared spectroscopy as a tool to characterize molecular composition and stress response in foodborne pathogenic bacteria. [J Microbiol Methods, 2011; 84: 369- 378.](#)
31. Irudayaraj J, Yang H, Sakhamuri S. Differentiation and detection of microorganisms using Fourier transform infrared photoacoustic Spectroscopy. [J. Mol. Structure, 2002; 606: 181-188.](#)
32. D'Souza I. Diffuse reflectance infrared fourier transform spectroscopic (DRIFTS) investigation of *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Indian Journal of Marine Sciences*, 2009; 38: 45-51.
33. Melin AM, Allery A, Perromat A, Bébéar C, Déléris G, Barbeyrac B. Fourier transform infrared spectroscopy as a new tool for characterization of mollicutes. [J. Microbiol. Methods, 2004; 56:73-82.](#)
34. Bosch A, Miñán A, Vescina C, Degrossi J, Gatti B, Montanaro P, et al. Fourier transform infrared spectroscopy for rapid identification of nonfermenting gram-negative bacteria isolated from sputum samples from cystic fibrosis patients. [J Clin Microbiol, 2008; 46: 2535–2546.](#)
35. Edwards-Jones V, Claydon MA, Evason DJ, Walker J, Fox AJ, Gordon DB. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by intact cell mass spectrometry. [J Med Microbiol, 2000; 49: 295-300.](#)
36. Gómez M, Bratos MA, Martín FJ, Dueñas A, Martín JF, Gutiérrez P, et al. Identification of species of *Brucella* using Fourier transforms infrared spectroscopy. [J Microbiol Methods, 2003; 55:121-131.](#)
37. Gisbert JP, Gomollón F, Domínguez-Muñoz JE, Borda F, Jiménez I, Vázquez MA, et al. Comparación entre dos pruebas del aliento con <sup>13</sup>C-urea para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*: espectrometría de masas frente a infrarrojos. [Gastroenterol Hepatol, 2003; 26: 141- 146.](#)
38. Cuevas A, Viera I, Torre MH, Kremer E, Etcheverry SB, Barán EJ. Infrared spectra of the copper (II) complexes of amino acids with hydrophobic residues. [Acta Farm Bonaerense, 1998; 17: 213-218.](#)
39. De Fuentes M, Bosch C, Sánchez F. Aplicación de la espectroscopía del infrarrojo medio en química analítica de procesos. [Bol Soc. Quím. Méx, 2008; 2: 93-103.](#)
40. Fontal B. El espectro electromagnético y sus aplicaciones. Ed, Escuela Venezolana para la enseñanza de la química, 2005. Pag 1-151. Disponible en:

[https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:QBsf2k8uLoJ:www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16746/1/espectro\\_electromagnetico.pdf+El+Espectro+Electromagn%C3%A9tico+y+sus+Aplicaciones&hl=es&gl=co&pid=bl&srcid=ADGEESiUd7T2iL4Lyztz1k\\_F69-FUH50GKrTuehnSTct6Qq1OCPxCr5B\\_c94irue-MUErMGUVFi7WvoqBKHnk578LHNuN0VJCDq-6IW5xthK5UKSQbL3gPvc27KU9isvRU5MZqfp4am&sig=AHIEtbQTdOkztl4qTc9z87ABHD6AkEN7bQ](https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:QBsf2k8uLoJ:www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16746/1/espectro_electromagnetico.pdf+El+Espectro+Electromagn%C3%A9tico+y+sus+Aplicaciones&hl=es&gl=co&pid=bl&srcid=ADGEESiUd7T2iL4Lyztz1k_F69-FUH50GKrTuehnSTct6Qq1OCPxCr5B_c94irue-MUErMGUVFi7WvoqBKHnk578LHNuN0VJCDq-6IW5xthK5UKSQbL3gPvc27KU9isvRU5MZqfp4am&sig=AHIEtbQTdOkztl4qTc9z87ABHD6AkEN7bQ)

41. Swann GEA, Patwardhan SV. (2011), Application of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) for assessing biogenic silica sample purity in geochemical analyses and palaeoenvironmental research. [\*Clim Past\*, 2011; 7: 65–74.](#)
42. Vogel H, Rosén P, Wagner B, Melles M, Persson P. Fourier transform infrared spectroscopy, a new cost-effective tool for quantitative analysis of biogeochemical properties in long sediment records. [\*J Paleolimnol\*, 2008; 40: 689–702.](#)
43. Rosén P, Vogel H, Cunningham L, Reuss N, Conley D, Persson P. Fourier transform infrared spectroscopy, a new method for rapid determination of total organic and inorganic carbon and biogenic silica concentrations in lake sediments. [\*J Paleolimnol\*, 2010; 43: 247–259.](#)
44. Markovich RJ, Pidgeon C. Introduction to Fourier transform infrared spectroscopy and applications in the pharmaceutical sciences. [\*Pharm Res\*, 1991; 8: 663-675.](#)
45. Pretsch E. Tablas para la determinación estructural por métodos espectroscópicos. Springer-Verlag Ibérica, 2000 – 420 páginas.
46. Etzold E. Determination of the botanical origin of honey by Fourier-transformed infrared spectroscopy: an approach for routine analysis. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008; 579-58.