

Remoción de Colorantes Textiles por Hongos Inmovilizados

Vazquez-Jaime, L.L.¹; Saavedra Arroyo, Q.E.²; Rodríguez-Nava, C.O.³, Rodríguez-Gómez, D¹✉

Datos de Adscripción:

¹Tecnológico Nacional de México/ITS de Irapuato. División de Ingeniería Bioquímica. Carretera Irapuato-Silao km 12.5, C. P. 36821., Col. El Copal, Irapuato, Guanajuato, México.

²Tecnológico Nacional de México/ TecNM / ITS Irapuato. División de Ingeniería en Materiales, Silao-Irapuato Km 12.5, El Copal, Irapuato, Guanajuato, C.P. 36821, México.

³Instituto Politécnico Nacional-ENCB, Edificio 8, Av. Luis Enrique Erro S/N, UPALM, CDMX, C.P. 07738, México

✉ divanery rg@irapuato.tecnm.mx

Resumen - Los colorantes artificiales provenientes de industrias textiles están clasificados como compuestos recalcitrantes, lo cual se refiere a su dificultad para ser degradados, por tanto, su permanencia en el ambiente es prolongada. En medio líquido, los tiempos de degradación de colorantes por los hongos productores de lacasas pueden ser amplios, por lo que con el propósito de disminuir el tiempo de decoloración surge la alternativa de la inmovilización de la biomasa sobre algún soporte. La inmovilización consiste en confinar la biomasa del microorganismo en un área determinada sobre un material (soporte); sin dañar o impedir el metabolismo de éste, de manera que dicha biomasa sea permanentemente activa y su actividad catalítica sea constante. En este caso se inmovilizaron hongos ligninolíticos con capacidad de decolorar colorantes textiles, se evaluó un soporte sintético (espuma de poliuretano) y un soporte orgánico (caña de maíz) para inmovilización de las cepas 43 (*Trametes spp.*) y 38 (*Pleurotus ostreatus*); y posteriormente se expusieron a una concentración de colorante textil de 1500 ppm. Se demostró que ambas cepas colonizaron los dos diferentes soportes. La biomasa inmovilizada sobre la caña de maíz logró mayor eliminación del colorante (90%) que en el soporte sintético (85%). Los resultados sugieren que es probable implementar estos hongos fijados a la biomasa, de manera práctica para el tratamiento de aguas residuales de industrias textiles en algún sistema de recirculación del contaminante.

Palabras Clave - Bioremediación, Colorantes textiles, Inmovilización, Lacasa, *Pleurotus spp.*, *Trametes spp.*

Abstract - Artificial dyes from textile industries are classified as recalcitrant compounds, which refers to their difficulty in being degraded, and their extensive permanence period in the environment. In liquid medium, the degradation times of dyes by fungi can be reduced through the alternative of biomass immobilization. The immobilization of microorganisms allows the biomass to be confined in a certain area on a material (support); without damaging or impeding its metabolism. Furthermore, it allows the fixed biomass and to maintain constant catalytic activity. In this case, ligninolytic fungi with the capacity to decolorize textile dyes were immobilized. A synthetic support (polyurethane foam) and an organic support (corn cane) were evaluated for

immobilization of the strains 43 (*Trametes spp.*) and 38 (*Pleurotus ostreatus*); and subsequently exposed to a concentration of textile dye of 1500 ppm. It was shown that both strains colonized the two different supports, likewise, corn cane immobilized biomass achieved greater removal of the dye (90%) than the synthetic support immobilized biomass (85%). These results suggest that such strategy could be implemented together with these fungi fixed to biomass, in a practical way for the treatment of wastewater from textile industries.

Keywords - Immobilization, Bioremediation, Laccase, *Pleurotus spp.*, Textile dyes, *Trametes spp.*,

I. INTRODUCCIÓN

Los colorantes artificiales usados en las industrias textiles y en las curtidoras generan residuos que afectan la calidad del medio ambiente, ya que una vez terminada su función en el proceso primario se convierten en contaminantes (Dutta *et al.*, 2024). Se producen más de 700,000 toneladas anuales y cerca de 10,000 tipos diferentes de colorantes, que la mayoría de las veces terminan en cuerpos hídricos cuya concentración alcanza hasta las 1500 ppm (Fernandes *et al.*, 2024).

Los colorantes usados en la industria textil se pueden clasificar por su estructura química, clase de aplicación y por el tipo de uso final. Los colorantes están constituidos por dos grupos fundamentales: El grupo cromóforo, que produce el color y el auxocromóforo, el cual hace que las moléculas sean más solubles y tengan mayor afinidad hacia las fibras. Los cromóforos incluyen grupos -C = C-, -C = N-, -C = O, -N = N-, -NO₂, y anillos quinoides, mientras que los auxocromos incluyen grupos -NH₃, -COOH, -SO₃H y -OH (Gupta y Suhas, 2009).

Debido a su compleja estructura química, estos son compuestos xenobióticos recalcitrantes, es decir, difíciles de degradar y que se solubilizan en el medio, los cuales representan una gran amenaza debido al hecho de que persisten durante un largo período de tiempo. Además de afectar la estética del lugar contaminado, la transparencia del agua y la solubilidad del oxígeno en los cuerpos hídricos, por lo que alteran el equilibrio del ecosistema al modificar la capacidad fotosintética del cuerpo de agua; además de ser cancerígenos y generar daños a la salud (Dutta *et al.*, 2024)

En cuanto a la remoción de estos colorantes del agua, varios métodos se han usado, entre los que destacan los fisicoquímicos como: coagulación/precipitación, ósmosis inversa, ultrafiltración, adsorción en carbón activado, entre otros. Sin embargo, la mayoría de estos tratamientos presentan como desventajas ser costosos, producir lodos, generar subproductos aún más tóxicos que el contaminante original o que solamente transfieren el problema de una fase líquida a una sólida (Karimifard &

Moghaddam, 2018). En busca de alternativas para la recuperación del estado natural de los ecosistemas se han implementado diferentes técnicas de biorremediación, la cual se basa en el uso de organismos vivos como bacterias, hongos, plantas o parte de ellos para degradar contaminantes presentes en un sistema. Además, la biorremediación se aprovecha de las reacciones y los procedimientos químicos naturales a través de los cuales los organismos descomponen los compuestos contaminantes como fuente de carbono para obtener nutrientes y energía, y que posteriormente será evidenciado como crecimiento (Sinharoy & Chung, 2024).

En la naturaleza los hongos se adaptan a distintas condiciones al degradar la materia orgánica mediante la secreción de enzimas, las cuales se encargan de hacer utilizables dichas moléculas como nutrientes que después será absorbidos de forma pasiva o integrados a la célula activamente (Przystaś *et al.*, 2018).

Los basidiomicetos son un grupo de gran importancia, en particular, los hongos de la podredumbre blanca, que se caracterizan por su capacidad de degradar compuestos aromáticos y heterogéneos como la lignina de las plantas de una manera eficiente (Montoya *et al.*, 2014). Estos hongos poseen un complejo enzimático oxidante inespecífico, lo cual permite aplicaciones ambientales como en la biorremediación de moléculas tóxicas y recalcitrantes que posean estructura química similar (Hatakka, 1994).

Las enzimas que llevan a cabo la fragmentación de la lignina son llamadas enzimas ligninolíticas como las lacasas (E.C. 1.10.3.2) (Dávila y Vázquez-Duhalt, 2006), las cuales presentan una gran versatilidad ya que catalizan una amplia gama de sustratos entre ellos los colorantes artificiales. Una de las especies más estudiadas respecto a la producción enzimática ha sido *Pleurotus ostreatus*, usado para la degradación de algunos colorantes (El-Batal *et al.*, 2015) y también del género *Trametes* se han reportado varias especies debido a su producción simultánea de enzimas ligninolíticas como son manganoso peroxidasa, lacasa y lignina peroxidasa (de Oliveira, 2017).

Debido a la manera en que crecen los hongos generando micelio sobre matrices naturales se ha implementado la inmovilización de la biomasa fúngica como alternativa para su uso en diversas aplicaciones. La inmovilización de microorganismos es un proceso en el que se confina o localiza a las células en una región definida del espacio, mediante algún soporte (Najim *et al.*, 2024), para retener su actividad catalítica y que pueden ser reutilizadas repetidamente (Wingard, 2005). Algunas de las ventajas de la inmovilización de la biomasa es el aumento en la estabilidad, así como el fácil manejo y control del sistema (Hartmeier, 1985), pero también se presentan algunos inconvenientes como puede ser la alteración de la conformación celular, la pérdida de actividad y los costos elevados debido al soporte empleado (Martinek y Mozhaev, 1987).

Adicionalmente, se ha reportado que la inmovilización de la biomasa fúngica incrementa la resistencia del hongo al estrés ambiental, tales como la presencia de moléculas tóxicas a altas concentraciones. La inmovilización mejora la eficiencia de la decoloración de la biomasa debido a una disminución de la densidad de empaquetamiento de las fibras con la biomasa, en comparación con la biomasa fúngica libre (Przystaś *et al.*, 2018).

En general, los materiales para inmovilizar células deben cumplir requisitos como: ser de bajo costo, tener alta disponibilidad, no ser degradables y que sean aptos para condiciones variables de pH y temperatura (Bakoyianis *et al.*, 1992 y 1996; Bardi y Koutinas, 1994; Daria Fumi *et al.*, 1987). La fijación de las células en las matrices sólidas se realiza por el atrapamiento de las mismas en el seno de un material polimérico. Las matrices más adecuadas son polímeros naturales como el alginato, el carragenato y el agar ya que polimerizan en condiciones muy suaves, aunque también se pueden usar matrices sintéticas como poli(acrilamida) y poliuretano (Groboillot *et al.*, 1994). No obstante, al igual que otros métodos de inmovilización, éste presenta desventajas como son los posibles problemas de difusión de nutrientes y productos a través de la matriz porosa y la pobre resistencia mecánica de los soportes sólidos (Verbelen *et al.*, 2006).

El cultivo en medio sólido como método de inmovilización de biomasa ofrece la ventaja respecto a los cultivos sumergidos ya que simula las condiciones fisiológicas que se presentan en la naturaleza como gradientes de concentración, en este caso de contaminantes tóxicos, pero de igual manera gradientes de pH, de temperatura, un soporte para la fijación de la biomasa y menos problemas de limitación de oxigenación (Rodríguez-Gómez & López-Pérez, 2023).

A la hora de elección de un soporte de inmovilización de hongos, se prefiere un soporte natural que pueda promover alguna inducción enzimática, además que sea un residuo agroindustrial, lo cual significa que proviene de un proceso primario por lo cual no tiene un uso secundario en la industria agroalimentaria. Al encontrarse creciendo de manera natural sobre madera, los hongos basidiomicetos promueven la inducción enzimática sobre material lignocelulósico, en comparación con otros sustratos como basura (Sudarson *et al.*, 2014). En promedio los materiales lignocelulósicos se componen de 40-50% de celulosa, 25-40% de hemicelulosa y 25-35% de lignina y otros monómeros de menor proporción (Montoya *et al.*, 2014).

En el Estado de Guanajuato, se cultiva maíz (*Zea mays*), del cual solamente el 50% de la cosecha se aprovecha como grano, por lo que se genera una gran cantidad de residuos del resto de la planta tales como caña, hoja, limbos y mazorca entre otros (Guzmán *et al.*, 2011). La biomasa residual que genera un cultivo de maíz de grano puede fluctuar entre 20 a 35 toneladas por hectárea. Por otra parte, la especie *Eichhornia crassipes* (lirio acuático) representa un problema ambiental debido a su excesivo crecimiento, provocando la contaminación en ríos, lagos y lagunas. En la actualidad, está presente en 27 estados de la República Mexicana. Grandes lagos como el de Chapala, en Jalisco, o la Laguna de Yuriria, en Guanajuato, son ejemplos de cuerpos invadidos por el lirio.

El uso de espuma de poliuretano es un soporte sólido que ha sido ampliamente usado en procesos de fermentación de diversos productos incluyendo la producción de proteína recombinante y biomasa celular, siendo bastante usada en bacterias, hongos, y levaduras. La principal ventaja de su uso en cultivos en medio sólido es debido a que es inerte facilita la recuperación de productos de alto valor (Rodríguez-Gómez & López-Pérez, 2023).

En el presente trabajo se realizaron estudios de tamizaje de hongos, colorantes y soportes para implementar un sistema de inmovilización de las cepas 43 (*Trametes spp.*) y 38 (*Pleurotus ostreatus*) sobre un soporte sintético (espuma de poliuretano) comparado con un soporte orgánico (caña de maíz) con el objetivo de incrementar la remoción de colorantes textiles en agua en comparación con el hongo no inmovilizado (cultivo sumergido).

II. PARTE TÉCNICA DEL ARTÍCULO

2.1 Reactivación de las cepas

Se seleccionaron las cepas con código interno 43 y 38 provenientes del cepario del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana (LDIM) del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), debido a que según estudios cualitativos previos (Martínez *et al.*, 2017) presentan actividad lacasa. Los hongos se propagaron en medio agar papa dextrosa (PDA) durante 7 días a temperatura ambiente (25 – 30 °C).

2.2 Degradación de colorantes en medio líquido con biomasa sin inmovilizar

Se realizaron cultivos en tubos Falcón de 50 ml conteniendo 30 ml de medio de cultivo. Los medios fueron preparados para lograr una concentración final de colorante azul o rojo, de manera independiente de 500, 1000 y 1500 ppm (606 azul mezclilla o 604 rojo escarlata de la marca Mariposa®). La formulación del medio de cultivo es la siguiente: (g/l): extracto de malta, 2; (NH₄)₂SO₄, 3.5; K₂HPO₄, 3; MgSO₄, 0.5; CaCl₂, 0.5; MnSO₄, 0.5. Los medios fueron inoculados con dos círculos de micelio de 9 mm de diámetro de las cepas crecidas en medio PDA, y posteriormente fueron incubados durante 20 días a 28 ± 2 °C con agitación a 130 rpm. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se tomaron muestras del sobrenadante de cada uno de los experimentos y se midieron por espectrofotometría a 540 nm (Multiskan FC, de Thermo scientific). La longitud de onda fue seleccionada por un barrido de longitud de onda, y la obtención de la concentración en las muestras se realizó por medio de una curva de calibración del colorante. Se calculó el porcentaje de degradación del colorante por diferencia de concentraciones en los sobrenadantes (Conejo *et al.*, 2020).

2.3 Cuantificación de la actividad lacasa

Se realizó la preparación de 4 diferentes medios de cultivo líquido con una variante en la fuente de carbono para inducir la producción enzimática. Se usó la formulación descrita en el punto 2.2 (sin colorante). El medio control contenía extracto de malta 2 g/l (EM), mientras que los otros medios no contenían extracto de malta sino infusiones de tres distintos residuos lignocelulósicos de manera individual: Lirio acuático (L), Rastrojo de Maíz (RM) y Caña de Maíz (CM).

Las infusiones de los residuos lignocelulósicos (1.5 g) se realizaron por ebullición de agua (150 ml) durante 15 min y agitación constante a 130 rpm. Posteriormente se sirvieron 30 ml de cada uno de los medios en tubos Falcón, se inocularon con

dos círculos de micelio de 9 mm de diámetro de las cepas crecidas en medio PDA y por último fueron incubadas durante 15 días a temperatura ambiente con agitación a 130 rpm.

Al final del cultivo se evaluó la actividad lacasa, en el sobrenadante separado por filtración. Se tomaron 100 µl del sobrenadante de cada uno de los experimentos y se colocaron en un tubo Eppendorf, en el cual posteriormente se adicionaron 800 µl de buffer de acetato al 0.1 M y 100 µl de ABTS al 5 mM, se agitó vigorosamente y el contenido del tubo Eppendorf se trasladó a una celda para su lectura en espectrofotómetro a 420 nm (Multiskan FC de Thermo scientific) y se empleó la siguiente ecuación para el cálculo de la actividad enzimática (Manjarrés *et al.*, 2010).

$$\text{Actividad volumétrica} = m * \frac{250\,000}{9}$$

Donde m es la pendiente de cinética de reacción obtenida.

2.4 Inmovilización de la biomasa sobre el soporte sólido

Se prepararon los dos soportes: Se cortaron cubos de aproximadamente 1 cm³ de los dos tipos de soportes, se secaron en horno a 60 °C por 12 h, se colocaron 0.5 g del soporte sintético, espuma de poliuretano (EPU) y 1.5 g del soporte orgánico, caña de maíz (CM), por separado en matraces Erlenmeyer de 125ml, la relación está dada de acuerdo a la altura del lecho que ocupaba cada uno de los soportes, tratando que ocuparan el mismo espacio; y finalmente se esterilizaron en autoclave. Posteriormente, a cada matraz se le adicionó medio líquido con extracto de malta según la formulación previamente descrita, (en ausencia de colorante) para el caso del soporte sintético se adicionaron 10 ml de medio por cada gramo de soporte y para el soporte orgánico fueron 20 ml de medio por gramo (para determinar el volumen del medio a agregar se realizaron pruebas de escurrimiento). Cada uno de los tratamientos se inoculó con 4 círculos de micelio de 9 mm de diámetro de cada una de las cepas crecidas en medio PDA y se incubaron a temperatura ambiente durante 20 días (López *et al.*, 2009; Marín-Cervantes *et al.*, 2008).

2.5 Degradación del colorante en medio líquido con la biomasa inmovilizada

Al final del cultivo, el soporte colonizado con cada cepa se trasladó a frascos de vidrio estériles con capacidad de 300ml, por lo cual se recopiló el material total de tres matraces para cada experimento (1.5 g de EPU, 4.5 g de CM) y se adicionaron 100 ml de una solución de colorante textil a una concentración de 1500 ppm, pasadas 24 h se retiró el líquido y se reemplazó con solución nueva. Las soluciones retiradas se evaluaron por espectrofotometría para obtener el porcentaje de eliminación de colorante.

2.6 Análisis de Infrarrojo con transformada de Fourier

El material final de los ensayos de caña de maíz con el hongo (las dos cepas) se analizaron mediante espectroscopia de

transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) para constatar los grupos funcionales presentes en las muestras y con base en esto constatar la degradación del colorante de manera cualitativa. Se usaron controles: colorante, caña de maíz, caña de maíz con colorante, adicionalmente se retiró la biomasa con ayuda de solución SDS 10% a algunas muestras. Las muestras fueron secadas y pulverizadas en mortero de ágata (estas pruebas solo se realizaron al soporte orgánico (CM), puesto que el soporte sintético (EPU) no pudo ser pulverizado. La técnica que se utilizó para poner la muestra en el haz de Infrarrojo fue un soporte de ATR de diamante (marca Pike) por lo que la ventana fue de 4400 a 600 cm^{-1} . El equipo usado fue Spectrum RX-1 (Perkin-Elmer).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Reactivación de las cepas

A partir de una colección de más de 40 hongos Basidiomicetos pertenecientes al cepario de ITESI se seleccionaron las cepas 43 y 38, los cuales corresponden a los géneros *Trametes spp.* y *Pleurotus ostreatus* respectivamente. En estudios anteriores estas cepas habían presentado buena degradación de Rojo Congo (Vazquez-Jaime *et al.*, 2019).

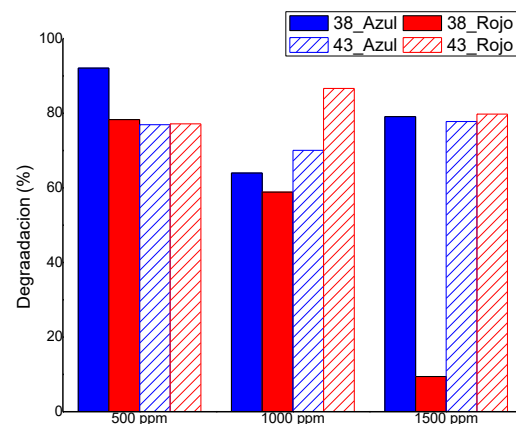
3.2 Degradación de colorante en medio líquido con biomasa no inmovilizada

Se utilizó el medio de cultivo con extracto de malta y el colorante rojo o el azul en concentraciones que llegaron como máximo a 1500 ppm. Se realizaron los controles de crecimiento del medio de cultivo sin colorante y el control de decoloración que corresponde a los medios sin inocular, todos incubados bajo las mismas condiciones ambientales. Transcurridos 20 días de cultivo se midió la concentración de colorante en cada medio y se calculó el porcentaje de degradación.

En la Figura 1 se puede observar que las dos cepas tienen la capacidad de degradar los dos colorantes hasta la concentración de 1500 ppm. Dado el tiempo de cultivo, los dos colorantes fueron degradados, en inicio la mayor decoloración se observó en el medio con colorante rojo, sin embargo, a los 20 días, solamente se pudo evidenciar diferencias en la cepa 38 a 1500 ppm. Para el color rojo, la degradación fue mayor para la cepa 43 en 1000 y 1500 ppm. Ambas cepas mostraron porcentajes de degradación superiores a 70% en la solución de 500 ppm, tanto en el colorante rojo como en el azul, siendo más efectiva para ambos colorantes la cepa 38. En 1000 ppm se supera el 60% de degradación con ambas cepas y con ambos colorantes, la cepa 43 resultó ser más efectiva. Por último, para 1500 ppm, con el colorante azul, la cepa 38 obtuvo valores de degradación superiores a la cepa 43, mientras que, con el colorante rojo, la cepa 43 logró una mayor degradación. Debido a estos resultados, se eligió trabajar a 1500 ppm, para los experimentos con biomasa inmovilizada.

Figura 1.

Porcentajes de degradación obtenidos por cada una de las cepas en distintas concentraciones de colorante Rojo y Azul.



3.3 Cuantificación de actividad enzimática

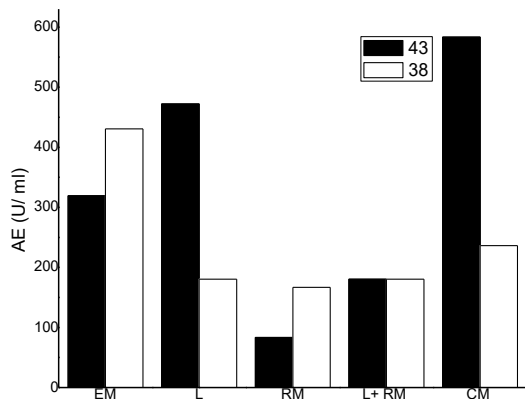
La actividad enzimática se evaluó a partir de los sobrenadantes obtenidos del cultivo de los hongos crecidos en medios suplementados con extractos de residuos lignocelulósicos actuando como inductores de actividad enzimática. La Figura 2 corresponde a la actividad lacasa obtenida, siendo una estimulación variable de las cepas, dependiente del extracto inductor en cada medio de cultivo. Tomando como control el medio con extracto de malta, las dos cepas presentaron actividad lacasa similar, 400 y 300 U/ml, para la cepa 38 y 43, respectivamente. Al ser estimulados con extractos de residuos lignocelulósicos agregados al medio de cultivo, la respuesta de las dos cepas fue variable, en la cepa 38, la actividad disminuyó a la mitad en todos los casos, mientras que en la cepa 43, se logró aumentar a 472 U/ml en medio con lirio acuático y en caña de maíz hasta 600 U/ml.

Según estos resultados de actividad enzimática el extracto de malta favorece la producción de lacasas en la cepa 38, sin embargo, a pesar de su buena producción enzimática la degradación de colorantes de esta en algunos tratamientos fue superada por la cepa 43, por lo cual la efectividad de la degradación que mostraron podría estar relacionada con una diferente actividad de otras enzimas lignocelulolíticas diferentes a las lacasas producidas bajo estas condiciones.

Esta prueba se usó como criterio para elegir el soporte para inmovilización de la biomasa, por lo cual se eligió la caña de maíz, debido a que el medio que contenía el extracto de ésta presentó la mayor actividad para ambas cepas de hongos. Esto podría estar directamente relacionado a que el tallo representa uno de los componentes más lignificados en la estructura de la planta del maíz (Ruilova y Hernández, 2016), en comparación con el rastrojo de maíz que es una mezcla de hojas y otras partes, además del tallo y del lirio acuático cuyo mayor componente es la hemicelulosa (Olofsson *et al.*, 2008).

Figura 2.

Relación entre la producción enzimática y la generación de biomasa de ambas cepas.



3.4 Degradación del colorante por la biomasa inmovilizada

Para la inmovilización de los hongos se eligió la caña de maíz como residuo lignocelulósico, para ser comparado con un soporte sintético, la espuma de poliuretano. Fue más notable la colonización del soporte orgánico (Figura 3), ya que además de soporte puede tener la función inductora del material, mientras que, el soporte de poliuretano solamente brindó la estructura de soporte.

Figura 3.

Inmovilización de cepas en soporte caña de maíz con 20 días de incubación. Control: CM sin inocular (izquierda). Cepa 38 crecida sobre CM (en medio). Cepa 43 crecida sobre CM (derecha).



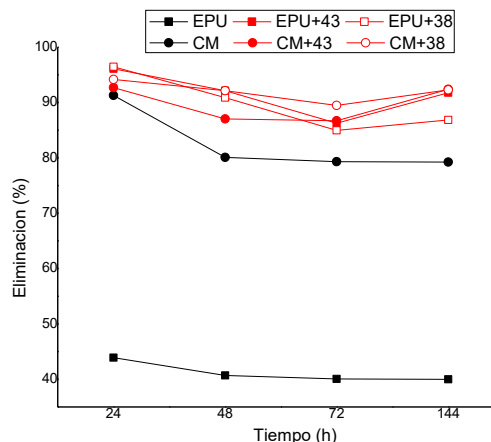
Posterior a la inmovilización de la biomasa, la cual consistió en el crecimiento de los hongos sobre los dos soportes, se retiró el exceso de líquido y la parte sólida se incubó con soluciones de colorante rojo por 24 h, la parte líquida se retiraba para su evaluación y se reemplazaba por solución de colorante nueva. Los resultados de los experimentos de decoloración con la biomasa inmovilizada se presentan en la Figura 4.

Los dos soportes favorecieron la degradación y eliminación del colorante posterior a cada recirculación. Las dos cepas lograron durante las 144 h del ensayo mantenerse siempre por encima del 85% de degradación al estar inmovilizadas en los dos soportes. En general se observa la capacidad de eliminación del colorante va disminuyendo progresivamente para ambos casos con cada

recirculación, debido a la saturación no solo del soporte sino también de los sitios activos de las enzimas haciendo más lento el proceso de degradación.

Figura 4.

Degradación de colorante rojo escarlata (1500 ppm) obtenida con espuma de poliuretano (EPU) y caña de maíz (CM). El recambio de la solución de colorante se realizaba cada 24 h.



Ambos soportes tienen la capacidad de absorber colorante de manera natural, lo que se pudo observar al realizar el experimento con el soporte bajo las mismas condiciones, sin la biomasa inmovilizada. Sin embargo, esta adsorción del colorante es muy baja, en la espuma de poliuretano, de 40%, y en caña de maíz del 80%, confirmando que la degradación se lleva a cabo por la biomasa inmovilizada sobre el soporte. De cualquier manera, la adsorción de colorantes a soportes es un método útil, ya que en menos de 1 h se logra la saturación del mismo, incluso a concentraciones altas como las trabajadas aquí, pero realmente se está realizando una transferencia de contaminante de una fase líquida a una fase sólida, la cual posteriormente requerirá tratamiento, para remover realmente el contaminante recalcitrante, una alternativa en este caso es juntar los tratamientos con composteo de los soportes por un hongo Basidiomicete (Conejo *et al.*, 2020), ya que como se mencionó anteriormente, estos hongos tienen la capacidad de transformar plenamente el contaminante, no solamente de adherirlo a su biomasa.

Ya anteriormente se han probado otros soportes para la inmovilización de la biomasa y remoción de colorantes textiles, como polivinil-alcohol (PVA), donde se removió cerca del 75% del colorante azo hasta 500 ppm en 12 h (Chen *et al.*, 2003). Diorio *et al.* (2021) reportan haber utilizado polietileno plástico y lograron resultados variables según las condiciones probadas, entre 50-92% de remoción de tinte azoico xilidina y el trifenilmetánico verde de malaquita por dos cepas argentinas de *T. versicolor*. Przystaś *et al.* (2018) lograron la remoción cercana al 100% de verde brillante y azul Evans usando espuma de polietileno, polipropileno y poliestireno para inmovilizar la biomasa.

Por supuesto los resultados obtenidos en cada experimento son variables porque depende de cada sistema como la actividad de la biomasa fijada, el tipo de soporte, la estructura química y concentración del colorante en estudio. Otro factor que influye es el microorganismo en sí, ya que las características propias de cada cepa dependen de su contenido genético, el lugar del asilamiento y la actividad lacasa, en este caso aquí medida, resultó dependiente de varios factores incluyendo la inducción generada por los componentes del medio de cultivo y del soporte.

3.6 IR-FT

Los análisis de FTIR fueron realizados para confirmar la transformación del colorante adherido al soporte. Las Figuras 5a y 5b muestran los espectros obtenidos para las cepas 38 y 43, respectivamente.

Existe una disminución de las señales presentes inicialmente en el intervalo $1400-1600\text{ cm}^{-1}$, el cual indica grupos aromáticos; estas variaciones están relacionadas con la degradación de los colorantes (Ahmed *et al.*, 2016). Al comparar los espectros de las dos cepas, la línea de color rosa (CM con colorante degradado, sin biomasa) respecto a las otras líneas, se presenta la principal diferencia en la señal entre 1220 y 1235 cm^{-1} , el cual se relaciona con enlaces C-N, en las dos cepas (cuadro de color negro).

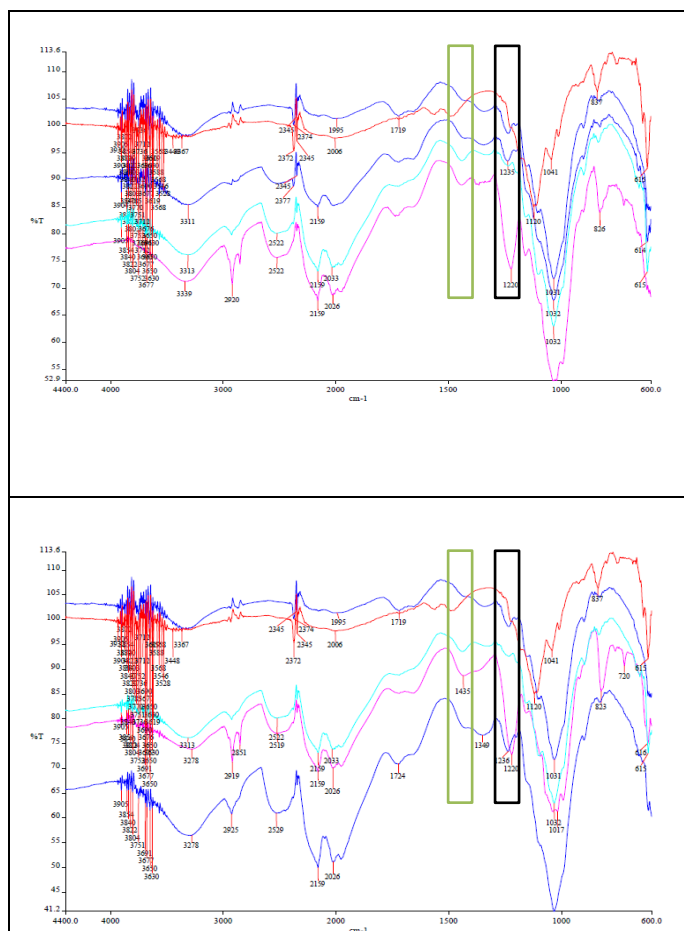
La señal alrededor de 1435 cm^{-1} en el colorante es característica del grupo aromático (cuadro verde), se puede evidenciar en el colorante (línea roja) y en el residuo CM con colorante (color cyan), sin embargo, es enmascarado cuando la biomasa está ligada al sistema ya que se observa la forma idéntica a cuando no se ha agregado el colorante (CM=línea azul), sin embargo, al retirar la biomasa con SDS (línea rosa) se vuelve a observar la presencia de dicha señal, solamente en la cepa 38, ya que en la cepa 43 se observa que ya no existe este componente.

Éste estudio ayudó a confirmar el efecto degradativo realizado sobre el colorante por los dos hongos. El sistema de ensayo solamente permitía verificar la desaparición del colorante en el líquido recirculado y al ser un cultivo sólido solamente se observaba a simple vista la fijación del color por la biomasa fúngica y la adsorción del colorante sobre la caña de maíz. Los resultados de FT-IR permitieron confirmar una mayor degradación de enlaces tipo del colorante rojo por la cepa 43 que la cepa 38.

Por otro lado, se observa que las señales presentes en los espectros varían en las dos cepas, estos resultados sugieren que, si bien ambas cepas degradaron el colorante de manera similar, de acuerdo a resultados visuales y de espectrofotometría, cada una posee enzimas de distinta naturaleza y posiblemente las rutas de degradación y transformación del colorante son diferentes, generando diferencia en la estructura química de los subproductos dentro del sistema biomasa-soporte-colorante, y es así como pueden detectarse en el espectro.

Figura 5.

Análisis FT-IR de cepa 38 (5a. arriba), cepa 43 (5b. abajo). CM (Línea azul superior), colorante rojo (línea roja), CM + colorante (línea cyan), CM+ colorante + hongo (línea azul), CM+ colorante + hongo eliminado (línea azul inferior).



IV. CONCLUSIONES

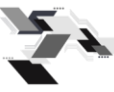
La inmovilización de las cepas 38 y 43 permitió el 90% de la degradación del colorante rojo a concentración de 1500 ppm en 24 h. Contrario a biomasa sin inmovilizar, donde se obtuvo porcentajes de 10 hasta 80% de degradación después de 20 días de cultivo. Se comprobó que el efecto es logrado por la biomasa de los hongos fijada al soporte por su actividad lacasa y no solamente por un efecto de adsorción del colorante por el soporte. Con la biomasa inmovilizada se logró mantener estable la degradación por encima del 80% al menos durante 144 h, de recirculaciones cada 24 h. La cepa 43 que tiene mayor actividad lacasa demostró una mayor alteración en los grupos aromáticos por FT-IR, contrario a lo observado en la cepa 38. Basado en estos resultados se implementará un sistema de cultivo con recirculación permanente del efluente textil usando caña de maíz como soporte e inductor de actividad lacasa.

V. AGRADECIMIENTOS

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, por todas las facilidades prestadas para la realización de este trabajo. Tecnológico Nacional de México proyecto 10278.21-PD por el financiamiento.

VI. REFERENCIAS


- Ahmed, F., Dewani, R., Pervez, M. K., Mahboob, S. J., Soomro, S. A. (2016). Non-destructive FT-IR analysis of mono azo dyes. *Bulgarian Chemical Communications*. 48(1), 71 – 77.
- Bakoyianis, V., Kanellaki, M., Kalifas, A. Koutinas, A. A. (1992). Low temperature wine making by immobilized cells on mineral Kissiris. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40(7), 1293–1296. <https://doi.org/10.1021/jf00019a042>
- Bakoyianis, V. & Koutinas, A. A. (1996). A catalytic multistage fixed-bed tower bioreactor in an industrial-scale pilot plant for alcohol production. *Biotechnology and Bioengineering*. 49(2), 197–203. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19960120\)49:2<197::AID-BIT8>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19960120)49:2<197::AID-BIT8>3.0.CO;2-L)
- Bardi, E. P. & Koutinas, A. A. (1994). Immobilization of yeast on delignified cellulosic material for room temperature and low temperature wine-making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42(1), 221–226. <https://doi.org/10.1021/jf00037a040>
- Chen, K. C., Wu, J. Y., Huang, C. C., Liang, Y. M., & Hwang, S. C. J. (2003). Decolorization of azo dye using PVA-immobilized microorganisms. *Journal of Biotechnology*. 101(3), 241-252. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(02\)00362-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(02)00362-0)
- Conejo Moreno, F. B., Rodríguez Nava, C.O., Rodríguez-Gómez, D. (22-24 octubre de 2020) Adsorción y degradación de colorantes textiles por *Trametes hirsuta* mediante 2 sistemas de fermentación en estado sólido utilizando *Typha latifolia* (totora). *Memorias del XLI Encuentro Nacional de la AMIDIQ*. Modalidad virtual.
- Daria Fumi, M., Trioli, G. & Colagrande, O. (1987). Preliminary assessment on the use of immobilized yeast cells in sodium alginate for sparkling wine processes. *Biotechnology Letters*. 9(5), 339–342. <https://doi.org/10.1007/BF01025800>
- Dávila G. y Vázquez-Duhalt R. (2006). Enzimas Ligninolíticas Fúngicas Para Fines Ambientales. Flores Herrera, O., Rendón Huerta, E., Velázquez López, I., Oria Hernández, J. (Ed). *Mensaje Bioquímico*. 30, 29-55.
- de Oliveira Carneiro, R. T., Alves Lopes, M., Cardoso Silva, M. L., da Silva Santos, V., de Souza, V. B., de Sousa, A. O., ... & Neto, A. G. (2017). *Trametes villosa* lignin peroxidase (TvLiP): genetic and molecular characterization. *Journal of microbiology and biotechnology*. 27(1), 179-188. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1606.06055>
- Diorio, L. A., Fréchou, D. S., Levin, L. N. (2021). Removal of dyes by immobilization of *Trametes versicolor* in a solid-state micro-fermentation system. *Revista Argentina de Microbiología*. 53(1), 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.007>
- Dutta, S., Adhikary, S., Bhattacharya, S., Roy, D., Chatterjee, S., Chakraborty, A., ... & Rajak, P. (2024). Contamination of textile dyes in aquatic environment: Adverse impacts on aquatic ecosystem and human health, and its management using bioremediation. *Journal of Environmental Management*. 353, 120103. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120103>
- El-Batal, A. I., ElKenawy, N. M., Yassin, A. S., Amin, M. A. (2015). Laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its application in synthesis of gold nanoparticles. *Biotechnology Reports*. 5, 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.11.001>
- Fernandes, M., Fernandes, R. D., Padrão, J., Melro, L., Alves, C., Rodrigues, R., ... & Zille, A. (2024). Plasma in textile wastewater treatment. In *Advances in Plasma Treatment of Textile Surfaces*. 267-322. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19079-7.00008-7>
- Groboillot, A., Boadi, D. K., Poncelet, D., Neufeld, R. J. (1994). Immobilization of cells for application in the food industry. *Critical reviews in biotechnology*. 14(2), 75-107. <https://doi.org/10.3109/07388559409086963>
- Gupta V. K. Suhas. (2009). Application of low-cost adsorbents for dye removal. A review. *Journal of environmental Management*. 90(8), 2313-2342. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.11.017>
- Guzmán-Soria, E., Rebollar-Rebollar, S., Hernández-Martínez, J., García-Salazar, J. A., Garza-Carranza, M. T. de la, Callejas-Juárez, N., & Terrones-Cordero, A. (2011). La oferta de maíz grano en Guanajuato, México: 1980-2009. *Tropical and subtropical agroecosystems*. 14(3), 857-866. Recuperado el 03 de julio de 2024. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-04622011000300029&lng=es&tlng=es
- Hartmeier, W. (1985). Immobilized biocatalysts: from simple to complex systems. *Trends in Biotechnology*. 3(6), 149-153. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(85\)90104-0](https://doi.org/10.1016/0167-7799(85)90104-0)
- Hatakka, A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation. *FEMS Microbiology Reviews*. 13(2-3), 125-135. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00039.x>
- Karimifard, S., & Moghaddam, M. R. A. (2018). Application of response surface methodology in physicochemical removal of dyes from wastewater: a critical review. *Science of the Total Environment*. 640, 772-797. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.355>
- López, M., Loera, O., Guerrero-Olazarán, M., Viader-Salvadó, J. M., Gallegos-López, J. A., Fernández, F. J., ... & Viniegra-González, G. (2010). Cell growth and *Trametes versicolor*




- laccase production in transformed *Pichia pastoris* cultured by solid-state or submerged fermentations. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 85(4), 435-440. <https://doi.org/10.1002/jctb.2306>
- Manjarrés, K., Castro, A., Rodríguez Sandoval, E. (2010). Producción de lacasa utilizando *Pleurotus ostreatus* sobre cáscaras de plátano y bagazo de caña. *Revista Lasallista de investigación*. 7(2), 9-15.
- Marin-Cervantes, M. C., Matsumoto, Y., Ramírez-Coutiño, L., Rocha-Pino, Z., Viniegra, G., & Shirai, K. (2008). Effect of moisture content in polyurethane foams as support for solid-substrate fermentation of *Lecanicillium lecanii* on the production profiles of chitinases. *Process Biochemistry*. 43(1), 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.10.009>
- Martinek, K.; Mozhaev, V. V. (1987). Immobilization of enzymes: an approach to fundamental studies in biochemistry. Meister A. (Ed) *Advances in Enzymology - and Related Areas of Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1002/9780470123034.ch3>
- Martínez, G., Martínez, L., López-Ramírez, V., Rodríguez-Gómez, D. (25-30 de junio de 2017). *Evaluación cualitativa de la producción de lacasas y peroxidasas en cepas de hongos aislados de suelo de diferentes ambientes*. XVII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Puerto Vallarta, México.
- Montoya S., Sánchez O. & Levin L. (2014). Evaluation of endoglucanase, exoglucanase, laccase, and lignin peroxidase activities on ten white-rot fungi. *Biotecnología en el sector Agropecuario y agroindustrial*. 12(2), 115-124.
- Najim, A. A., Radeef, A. Y., al-Doori, I., & Jabbar, Z. H. (2024). Immobilization: the promising technique to protect and increase the efficiency of microorganisms to remove contaminants. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. <https://doi.org/10.1002/jctb.7638>
- Przystaś, W., Zabłocka-Godlewska, E., Grabińska-Sota, E. (2018). Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. *Brazilian journal of microbiology*. 49, 285-295. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.06.010>
- Olofsson, K., Bertilsson, M., Liden, G. (2008). A short review on SSF - an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Biotechnology for Biofuels*. 1, 1-14. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-1-7>
- Rodríguez-Gomez, D., López Pérez, M. (2023) Polyurethane foam used in solid state-fermentation for recombinant proteins and other metabolites productions: An interesting alternative in biotechnology. In: Wythers M. C. (Ed.) *Advances in Materials Science Research*. 61 (1).
- Ruilova, M., & Hernandez, A. (2016). Diseño de sustratos de diferente composición físico-química utilizando el programa de mezclas de residuos agrícolas para el cultivo del hongo *Pleurotus Ostreatus*. *Revista de Investigación Talentos*. 3(2), 30-35. Recuperado el 03 de julio de 2024. <https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/view/60>
- Sinharoy, A., & Chung, C. M. (2024). Fluoride removal from wastewater and potential for resource recovery: Comparative studies between different treatment technologies. *Environmental Engineering Research*. 9 <https://doi.org/10.4491/eer.2024.179>
- Sudarson, J., Ramalingam, S., Kishorekumar, P., Venkatesan, K. (2014). Expeditious quantification of lignocellulolytic enzymes from indigenous wood rot and litter degrading fungi from tropical dry evergreen forests of Tamil Nadu. *Biotechnology research international*. Article ID 127848. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/127848>
- Vazquez-Jaime, L., Rodríguez Nava, C. O. Rodríguez-Gómez, D. (23-28 de junio de 2019). Comparación de sistemas de cultivo para la decoloración de rojo Congo con hongos aislados del Estado de México. *Memorias del XVIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*. León, Guanajuato, México.
- Verbelen, P. J., De Schutter, D. P., Delvaux, F., Verstrepen, K. J., Delvaux, F. R. (2006). Immobilized yeast cell Systems for continuous fermentation applications. *Biotechnology Letters*. 28, 1515-1525. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9132-5>
- Wingard, L. B. (2005). Enzyme Engineering. In *Advances in Biochemical Engineering, Volume 2* (pp. 1-48). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/BFb0006665>

VII. AUTORES


Laura Lizeth Vazquez Jaime

 <https://orcid.org/0009-0007-8718-8075>


Odin Rodríguez Nava

 <https://orcid.org/0000-0002-7925-3814>

Quetzatcoatl Enrique Saavedra Arroyo

 <https://orcid.org/0000-0001-5810-3916>

Divanery Rodríguez Gómez

 <https://orcid.org/0000-0002-4457-5338>