

## Degradación de colorantes industriales con hongos ligninolíticos

## Degradation of industrial dyes with white rot fungi

Mariana Cardona, Juliana Osorio, Juan Quintero\*

Grupo de Bioprocesos. Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Antioquia. Calle 67 N.º 53-108. Bloque 18-438, A.A. 1226, Medellín, Colombia

(Recibido el 25 de junio de 2008. Aceptado el 12 de marzo de 2009)

### Resumen

Los hongos de la pudrición blanca de la madera han mostrado un gran potencial para degradar compuestos químicos recalcitrantes y generalmente tóxicos como hidrocarburos poli-aromáticos, explosivos, plaguicidas, tintes, entre otros. Esta propiedad se debe principalmente a que poseen un complejo de enzimas oxidativas extracelular que emplean naturalmente para la degradación de la lignina de la madera. En este trabajo se evaluaron siete cepas de hongos ligninolíticos en función de su capacidad para degradar el colorante Orange II y también los colorantes industriales Rojo Cibacrón®, Rojo Erionyl®, Azul Terasil® y Turquesa Erionyl® en medio semisólido y líquido. *Phanerochaete chrysosporium* y *Phanerochaete sordida* mostraron alta capacidad de decoloración, alcanzando 98% en medio líquido para Orange II y entre 82 y 86% para los colorantes industriales después de ocho días de tratamiento. En medio semisólido todos los colorantes se eliminaron completamente. Durante el tratamiento en medio líquido se observó que los hongos crecieron con un comportamiento diáuxico presentando adsorción parcial del Orange II durante la primera etapa de crecimiento exponencial, en la fase estacionaria el colorante se liberó y fue finalmente degradado.

----- **Palabras clave:** Orange II, tintes industriales, hongos ligninolíticos, decoloración.

### Abstract

White rot fungi have shown a great potential for degrading recalcitrant chemicals compounds as PAHs, explosives, pesticides, dyes, etc. This capacity is due mainly to an extracellular enzymatic complex that they use naturally

---

\* Autor de correspondencia: teléfono: + 57 + 4 + 219 55 37, correo electrónico: jcquinte@udea.edu.co. (J. Quintero).

in lignin degradation of wood. This work evaluated seven strains in function of its decoloration capacity of Orange II dye and industrial dyes Cibacrón® red, Erionyl® red, Terasil® blue y Erionyl® turquoise in semisolid and liquid mediums. *Phanerochaete chrysosporium* and *Phanerochaete sordida* showed high decoloration capacity, with a 98% for Orange II and between 82-86% for industrial dyes in liquid medium. In semisolid medium all dyes were totally eliminated. The growth fungi in each degrading treatment of Orange II showed a diauxic performance, in the first step of fungi growth, they showed partial adsorption of orange II in biomass, posterior liberation in stationary step and finally total degradation in medium.

----- **Keywords:** Orange II, industrial dyes, ligninolytic fungi, decolorization

## Introducción

La industria textil es una de las que genera mayor cantidad de aguas residuales en sus procesos; los valores típicos se encuentran alrededor de 80-200 m<sup>3</sup> de efluentes líquidos residuales generados por tonelada de producto [1]. Estos efluentes contienen altas concentraciones de sólidos disueltos, sodio, cloro, sulfatos y tintes recalcitrantes y cancerígenos, estos últimos pueden alcanzar valores de hasta 400 mgL<sup>-1</sup> [2-4]. Cerca del 15% de los colorantes empleados en la industria textil se pierden en el proceso de teñido, los cuales en la mayoría de los casos son vertidos en cuerpos de agua generando contaminación [5, 6]. Estas aguas residuales son difíciles de tratar debido a que los tintes contienen estructuras moleculares aromáticas complejas, que los hacen estables en el ambiente y difíciles de degradar [7]. Se han empleado diferentes procesos físicos y químicos para eliminar o remover la carga colorante en los efluentes industriales, sin embargo se presentan inconvenientes entre ellos: *i*) altos costos de tratamiento, *ii*) los contaminantes químicos no son destruidos sino simplemente removidos de los efluentes y relocalizados en otro sitio donde el problema persiste, *iii*) en procesos donde se utiliza el cloro para la decoloración, se puede producir compuestos organoclorados que son altamente tóxicos y recalcitrantes, *iv*) en ciertos tratamientos químicos se produce ruptura del anillo aromático del colorante generando sustancias aun más tóxicas [8]. Actualmente los procesos biotecnológicos para la eliminación de contaminantes ambientales están en pleno proceso de investigación y son muy

promisorios gracias a que se pueden alcanzar altas eficiencias de remoción de contaminantes, además poseen un costo competitivo respecto a tratamientos físico-químicos equivalentes y son amigables con el medio ambiente [8]. Estos procesos emplean hongos o bacterias en tecnologías aerobias y anaerobias y son conocidos como procesos de Biorremediación [9, 10]. Los hongos de la podredumbre blanca de la madera han mostrado ser potencialmente útiles en Biorremediación, debido a que su crecimiento filamentoso permite una colonización y una exploración más eficiente en suelos contaminados, además estos microorganismos poseen un importante grupo de enzimas con capacidad para oxidar diversos sustratos entre ellos una amplia variedad de contaminantes ambientales [11]. El mecanismo principal de biodegradación empleado por este grupo de hongos, es el sistema enzimático de degradación de la lignina, compuesto por las enzimas Manganese Peroxidasa dependientes de Mn<sup>+2</sup> (*MnP*), Ligninoperoxidasas (*LiP*) y lacasas (*Lac*) [12]. Estas enzimas extracelulares poseen una baja especificidad y producen ataques oxidativos a una amplia gama de contaminantes ambientales con potenciales de ionización menores de 8,0 eV [13]. Se ha realizado un importante número de investigaciones sobre la decoloración de colorantes sintéticos para uso no industrial [14, 15] y en menor proporción se observan trabajos con colorantes industriales [16, 17]. Los colorantes sintéticos no industriales se emplean principalmente como indicadores de cambios ambientales, por ejemplo: pH, redox, presencia de oxígeno, etc., y se han empleado como modelos para evaluar el

potencial del sistema ligninolítico de los hongos de la pudrición blanca de la madera frente a otros colorantes con la misma estructura química. En estudios de degradación de colorantes industriales o hidrocarburos poliaromáticos entre otros, la degradación de este tipo de colorantes se realiza principalmente como control de la presencia o no de actividad ligninolítica. Dos de los tintes más empleados en este sentido son el Orange II y Poly R-478 [18, 19]. Sin embargo, es de gran importancia evaluar la capacidad degradativa de los hongos directamente sobre colorantes industriales como los presentes en efluentes textiles. En el presente trabajo se realiza una evaluación de siete cepas de hongos de la podredumbre blanca de la madera, respecto a su velocidad de crecimiento y a sus propiedades ligninolíticas tomando como referencia la decoloración del tinte Orange II, dado que se conoce ampliamente que es oxidado por las enzimas ligninolíticas de este tipo de hongos [5, 15]. Los dos hongos con mejores propiedades se emplean para el tratamiento de decoloración de los colorantes industriales Rojo Cibacrón®, Rojo Erionyl®, Azul Terasil® y Turquesa Erionyl®.

## Experimentación

### *Microorganismos y condiciones de cultivo*

Se usaron siete cepas de hongos de la podredumbre Blanca, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete sordida*, *Polyporus ciliatus*, *Phlebia radiata*, *Lentinus tigrinus*, *Stereum hirsutum*, *Anthracoephyllum discolor* cedidos por el profesor Gumersindo Feijoo del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela (España). Se conservaron a 4°C en tubos inclinados con el siguiente medio de cultivo: agar (15 gL<sup>-1</sup>); glucosa (20 gL<sup>-1</sup>); peptona (5 gL<sup>-1</sup>); extracto de levadura (2 gL<sup>-1</sup>); KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1 gL<sup>-1</sup>); MgSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O (0,5 gL<sup>-1</sup>), serrín de madera (2 gL<sup>-1</sup>). De los cultivos de conservación se tomó micelio de cada hongo y se transfirió a cajas de Petri con el siguiente medio de mantenimiento: agar (15 gL<sup>-1</sup>); glucosa (10 gL<sup>-1</sup>); extracto de malta (3,5 gL<sup>-1</sup>) y pH de 5,5. Las cajas se incubaron

durante 8 días a 30°C y posteriormente se mantuvieron a 4°C hasta su uso.

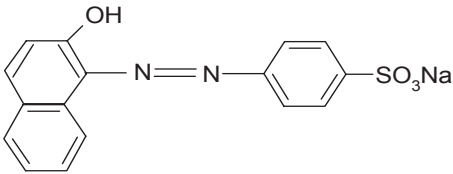
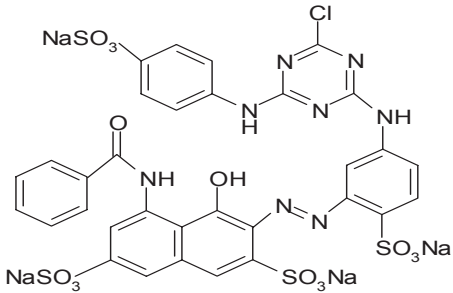
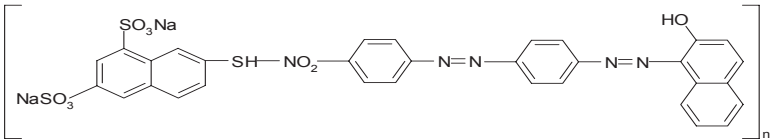
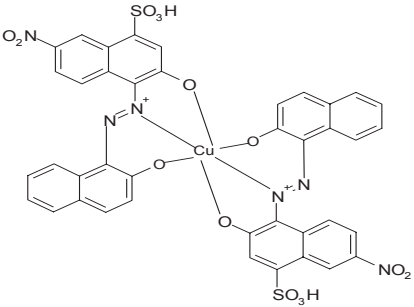
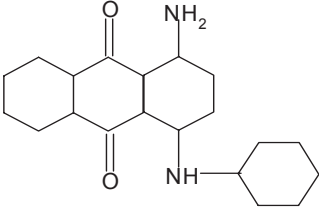
### **Colorantes**

Se utilizaron cuatro colorantes industriales: Rojo Cibacrón®, Rojo Erionyl®, Turquesa Erionyl® y Azul Terasil®, los cuales son ampliamente utilizados en la industria del jean y teñido de algodón. Hacen parte del grupo de colorantes ácidos, reactivos y dispersos, y por su estructura química son azoicos y ftalocianina. La capacidad ligninolítica se evaluó con el colorante Orange II. Las estructuras químicas de los colorantes se listan en la tabla 1.

### **Evaluación de las cepas en medio semisólido**

Las siete cepas de hongos se emplearon para evaluar su tasa de crecimiento y potencial ligninolítico. Para evaluar la tasa de crecimiento de los hongos, los ensayos se realizaron tomando del cultivo de mantenimiento de cada hongo, un trozo circular de agar colonizado de aproximadamente 8 mm de diámetro y se sembró en el centro de una caja de Petri con medio de mantenimiento y se incubaron a 30°C, durante 8 días. Cada 12 h se midió el diámetro del halo de colonización del micelio y finalmente se calculó la velocidad de crecimiento de cada hongo en cm/d. El potencial ligninolítico se determinó con ensayos similares a los anteriores, pero incluyendo en el medio de mantenimiento el colorante Orange II a una concentración de 100 mgL<sup>-1</sup>. Cada 12 h se midió el halo de decoloración del tinte en la Caja y se determinó la velocidad de decoloración en cm/d. Luego se seleccionaron los dos hongos con mayor capacidad ligninolítica y se realizaron experimentos similares cultivándolos en cajas de Petri sobre medios conteniendo los colorantes industriales individuales a una concentración de 100 mgL<sup>-1</sup>; esto con el fin de evaluar de manera cualitativa su capacidad para la degradación de los mismos. Todos los ensayos se hicieron durante 12 días por triplicado y se prepararon cajas controles con el tinte y sin el hongo con el fin de observar alguna posible decoloración abiótica.

**Tabla 1** Estructuras químicas de los colorantes empleados\*

<b>Colorante</b>	<b>Longitud de onda</b>	<b>Estructura</b>
Orange II	485 nm	
Rojo Cibacrón®	505 nm	
Rojo Erionyl®	508 nm	
Turquesa Erionyl®	616 nm	
Azul Terasil®	580 nm	

\* The National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme.

### **Evaluación de la decoloración en medio líquido**

Los ensayos en medio líquido se llevaron a cabo para cuantificar el porcentaje de degradación de los colorantes, evaluar la adsorción de los colorantes en el micelio, su efecto sobre la degradación y conocer el perfil de crecimiento y consumo de sustrato de cada hongo. Para este trabajo se emplearon las cepas de hongos seleccionadas en el estudio anterior con medio semisólido.

Los experimentos para estudios de decoloración se realizaron en Erlenmeyers de 250 mL con 120 mL de medio de cultivo de mantenimiento excepto el agar, suplementados en un caso con el tinte Orange II a una concentración de  $100 \text{ mgL}^{-1}$  y en otro caso con la mezcla de los 4 tintes industriales a una concentración individual de  $100 \text{ mgL}^{-1}$ . Los Erlenmeyers se inocularon cada uno con 6 trozos de agar colonizado, tomados de los cultivos de mantenimiento. Posteriormente se incubaron a  $30^\circ\text{C}$  y 175 rpm durante 12 días y se tomaron muestras periódicas para determinar la concentración de colorante presente. Para cada experimentación se realizaron 2 controles con biomasa muerta (se inocularon dos erlenmeyers y se dejaron crecer 4 días, que es cuando más cantidad de biomasa se alcanza y luego se inactivaron, adicionando a cada erlenmeyer 5 mL de formaldehído al 35%), esto se hizo con el fin de descartar una posible degradación abiótica o adsorción del colorante en la biomasa. Para asegurar que la biomasa se encontraba inactiva o muerta se realizó un cultivo con esta biomasa, y se determinó si había crecimiento, además previamente se realizaron ensayos para saber de que forma podría afectar el formaldehído a los colorantes empleados en la experimentación. De manera similar a los ensayos de decoloración, se prepararon cultivos de los hongos seleccionados en medio sin colorante y periódicamente se tomaron muestra para determinar crecimiento de la biomasa y consumo de glucosa. Todos los experimentos en medio líquido se realizaron por duplicado y los valores reportados representan las medias con sus desviaciones estándar.

### **Métodos analíticos**

*Crecimiento y decoloración en los cultivos en cajas de Petri:* Los cultivos en caja se tomaron periódicamente y se midió empleando una regla graduada, el diámetro de los halos formados de micelio y/o decoloración. En caso de que los halos formados no fueran totalmente circulares, se tomaron tres medidas del micelio formado o de la zona decoloreada y se definió el promedio como el valor del diámetro. Este procedimiento se siguió hasta la completa colonización o decoloración de la caja.

*Determinación de biomasa y glucosa:* De cada cultivo se tomó una muestra de 5 mL, con una pipeta de boca ancha, que fue filtrada en papel de filtro Watman previamente seco y lavada con 10 mL de agua destilada. Posteriormente la muestra se secó durante 2 h a  $105^\circ\text{C}$  y se determinó el peso de la biomasa seca. La determinación de glucosa se realizó por el método de azúcares reductores con DNS [20]. Se tomó en un Eppendorf 1,5 mL de muestra del filtrado de la biomasa, se centrifugó a 5000 rpm durante 5 minutos y a 1 mL del líquido claro se le adicionó 1 mL de solución de DNS, la mezcla se calentó por 5 minutos a ebullición, se enfrió en un baño de hielo y se midió la absorbancia de la muestra a 540 nm al espectrofotómetro.

*Determinación del grado de decoloración:* Cada muestra tomada de los ensayos de decoloración en medio líquido se centrifugó a 5000 rpm durante 5 minutos para eliminar las posibles interferencias de biomasa. Para determinar la decoloración en el tratamiento con Orange II se leyó la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro a 485 nm y la concentración del colorante se obtuvo mediante una recta de calibrado Concentración de colorante (g/L) vs. absorbancia (485 nm) elaborada previamente. Para determinar el grado de decoloración en los tratamientos con la mezcla de los colorantes industriales, se determinaron los perfiles espectrofotométricos de cada muestra en el rango de 450 a 650 nm, para abarcar todas las longitudes de onda en las que los colorantes absorben estando puros (las longitudes de onda

para cada colorante fueron: 505 nm para Rojo Cibacrón®, 508 nm para Rojo Erionyl®, 580 para Azul Terasil® y 616 para Turquesa Erionyl®) y el porcentaje de decoloración se asoció con la diferencia de las áreas bajo la curva entre el tiempo inicial y final del tratamiento [21]. La fórmula empleada fue:

$$D = 100(A_i - A_f) / A_i$$

Donde:

*D* es el porcentaje de decoloración (%)

*A* es el valor del área bajo la curva y los subíndices *i* y *f* son al tiempo inicial y final del tratamiento respectivamente.

## Resultados

### Selección de los hongos

Los resultados de la velocidad de crecimiento y potencial ligninolítico, medido como la capacidad de decoloración del tinte Orange II, de los Hongos de la Podredumbre Blanca de la madera *Phanerochaete*

*chrysosporium*, *Phanerochaete sordida*, *Polyporus ciliatus*, *Phlebia radiata*, *Lentinus tigrinus*, *Stereum hirsutum*, *Anthracophyllum discolor* se muestran en la tabla 2. Se observa que todos los hongos evaluados degradan el colorante y por tanto expresan al menos una de las enzimas ligninolíticas. Los dos hongos con mayor velocidad de crecimiento fueron *P. chrysosporium* y *P. sordida*, seguidos por *P. ciliatus* y *A. discolor*. Los *Phanerochaete*, colonizaron completamente la placa Petri al cabo de 2 días y la decoloración total del Orange II se alcanzó en el día 8 de incubación. Los hongos restantes colonizaron totalmente las placas Petri entre 6 y 7 días y eliminaron el colorante entre 8 y 12 días. Se puede observar que no existe una diferencia significativa en el potencial ligninolítico de los hongos: *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete sordida*, *Polyporus ciliatus*, *Stereum hirsutum* y *Anthracophyllum discolor*; por lo cual son microorganismos potencialmente útiles para el tratamiento de colorantes. La única diferencia entre ellos es su velocidad de crecimiento lo cual determinó la escogencia de los hongos de género *Phanerochaete*.

**Tabla 2** Velocidad de crecimiento y capacidad de decoloración en medio semisólido de 7 cepas de hongos de la pudrición blanca de la madera

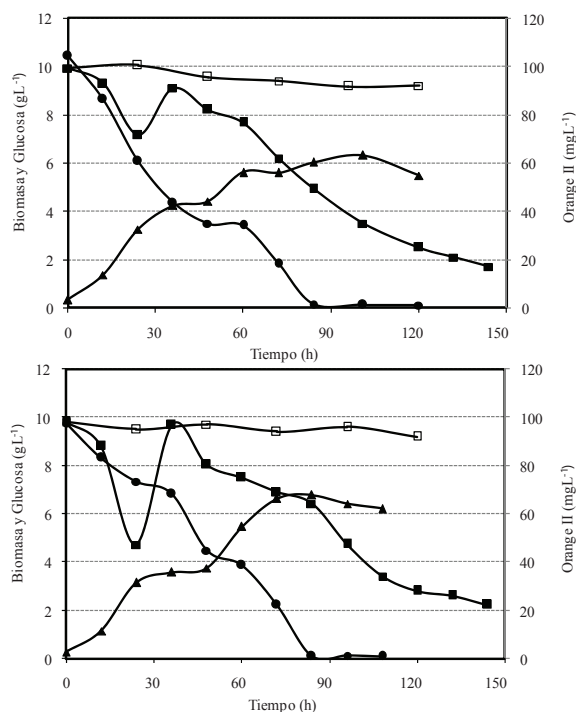
Hongos	Halo de Crecimiento (cm/día)	Halo de Decoloración (cm/día)
<i>P. chrysosporium</i>	3,01 ± 0,1	1,07 ± 0,04
<i>P. sordida</i>	2,99 ± 0,1	1,06 ± 0,04
<i>Stereum hirsutum</i>	1,19 ± 0,05	1,05 ± 0,01
<i>Phlebia radiata</i>	1,02 ± 0,11	0,75 ± 0,03
<i>Polyporus ciliatus</i>	1,41 ± 0,02	1,09 ± 0,01
<i>A. discolor</i>	1,45 ± 0,03	1,05 ± 0,09
<i>Lentinus tigrinus</i>	1,42 ± 0,02	0,82 ± 0,12

*P. chrysosporium* y *P. sordida* se cultivaron en medio líquido para identificar la relación que po-

dría haber entre su crecimiento y decoloración, estos resultados se presentan en la figura 1.



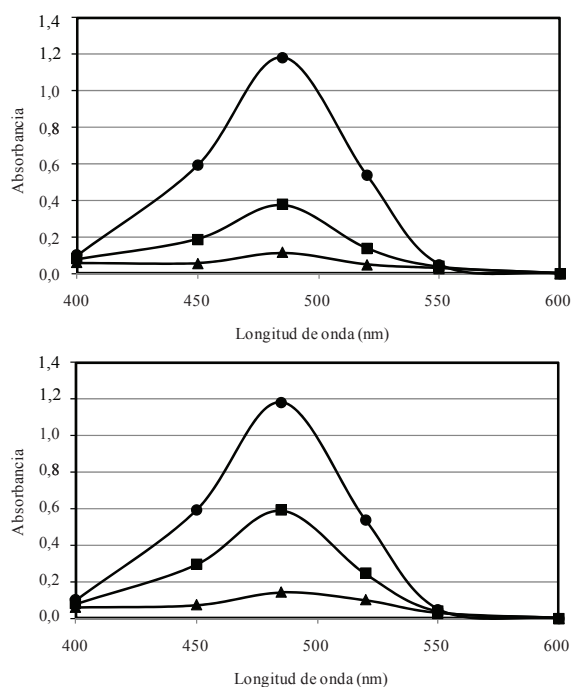
Las curvas de biomasa de los dos cultivos presentaron, después de una corta fase de adaptación, un comportamiento diáuxico con una primera fase de crecimiento exponencial en las primeras 30 horas de cultivo y una segunda fase exponencial entre las 50 y 80 horas.



**Figura 1** Comportamiento cinético de los tratamientos de degradación del tinte Orange II en medio líquido con los hongos *Phanerochaete chrysosporium* (figura superior) y *Phanerochaete sordida* (figura inferior). Símbolos: (▲) Biomasa; (●) Glucosa; (■) Orange II y (□) Control abiótico con colorante

Este comportamiento coincide con el consumo de glucosa, que experimenta una desaceleración de su consumo entre los periodos de crecimiento exponencial. De otra parte, los perfiles de degradación del tinte Orange II muestran una alta velocidad inicial de decoloración durante las primeras 30 horas de tratamiento y posteriormente se observa un incremento de coloración en el medio de cultivo que coincide con la fase estacionaria entre los

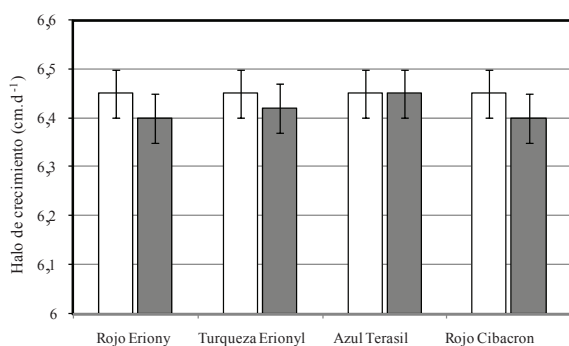
dos periodos de crecimiento exponencial. En este periodo se observa un fenómeno de adsorción del tinte en la biomasa del hongo. Finalmente, a partir de la hora 50, se observa nuevamente una disminución de la coloración del medio, esta vez a una velocidad mucho menor que durante las primeras 30 horas y esta tendencia se conserva por el resto del tratamiento hasta alcanzar una decoloración del 98% con ambos hongos en 9 días. En los controles abióticos no hubo una reducción significativa de la concentración de colorante en el medio, indicando que la reducción observada en los cultivos es debida a la acción de los hongos ligninolíticos. En la figura 2 se muestran los espectros de absorbancia de los cultivos realizados para la decoloración del tinte Orange II que confirman la casi completa eliminación del colorante.



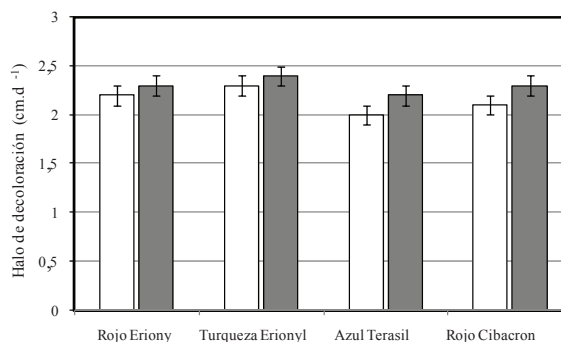
**Figura 2** Espectros de absorbancia del colorante Orange II de muestras tomadas durante el tratamiento de decoloración con los hongos *Phanerochaete chrysosporium* (figura superior) y *Phanerochaete sordida* (figura inferior). Símbolos: (●) día 0; (■) día 6; (▲) día 8

### Decoloración de tintes industriales con hongos ligninolíticos

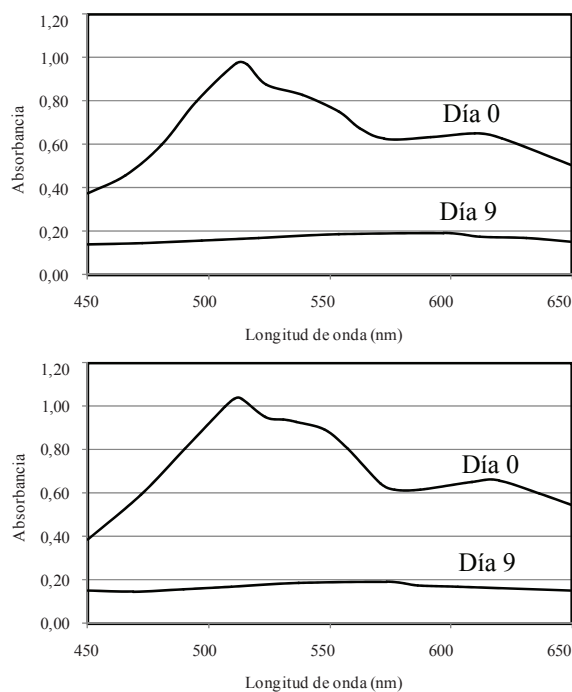
Estos ensayos se realizaron con las cepas de *P. chrysosporium* y *P. sordida* seleccionadas de acuerdo con los resultados de crecimiento y decoloración del tinte Orange II. Las figuras 3 y 4 muestran los resultados de crecimiento y degradación de los colorantes individuales en Cajas Petri sobre los colorantes industriales Rojo Erionil®, Azul Terasil®, Rojo Cibacrón® y Turquesa Erionil® y Turquesa Erionil® a 100 mg.L<sup>-1</sup>. El crecimiento de los hongos sobre cada uno de estos colorantes alcanzó una velocidad de colonización alrededor de 6,4 cm.d<sup>-1</sup>, que es un valor similar al encontrado sobre placas sin colorante (ver tabla 1). Esto indica que el crecimiento no fue inhibido por ninguno de los colorantes a la concentración aplicada. Los hongos mostraron gran capacidad para degradar los colorantes industriales formando halos de decoloración en las placas Petri a una velocidad entre 2 y 2,5 cm.d<sup>-1</sup>, como se representa en la figura 4. En esta se observa que el comportamiento para la degradación de todos los colorantes industriales es similar, debido a que se utilizan hongos del mismo género, por lo cual se espera un comportamiento de velocidad de degradación similar, además para estos hongos, con base en los resultados, se puede inferir que las estructuras de los colorantes no afectan la degradación de los mismos.



**Figura 3** Velocidad de colonización de placas Petri por los hongos *P. chrysosporium* (barra blanca) y *P. sordida* (barra oscura) con la presencia de los colorantes industriales Rojo Erionil®, Azul Terasil®, Rojo Cibacrón® y Turquesa Erionil® a 100 mg.L<sup>-1</sup>



**Figura 4** Velocidad individual de degradación de los colorantes industriales Rojo Erionil®, Azul Terasil®, Rojo Cibacrón® y Turquesa Erionil® en placas Petri a 100 mg.L<sup>-1</sup>, empleando los hongos *P. chrysosporium* (barra blanca) y *P. sordida* (barra oscura)



**Figura 5** Espectros de absorbancia de muestras tomadas durante el tratamiento de decoloración de los colorantes industriales Rojo Erionil®, Azul Terasil®, Rojo Cibacrón® y Turquesa Erionil® en medio líquido a una concentración individual de 100 mg.L<sup>-1</sup> empleando los hongos *Phanerochaete chrysosporium* (figura superior) y *Phanerochaete sordida* (figura inferior).



Con todos los colorantes, se logró completa decoloración en un periodo de 6 días en medio semisólido. Una vez confirmada la capacidad de los hongos seleccionados para degradar los colorantes industriales en estudio, se realizaron pruebas de degradación en efluentes líquidos simulados con la mezcla de los colorantes. Los resultados mostraron un elevado grado de decoloración del efluente y los pellets de los hongos estuvieron libres de colorante al final del tratamiento, indicando que no hubo adsorción permanente de los colorantes en el micelio, lo que coincide con el comportamiento observado en la degradación del tinte Orange II. La figura 5 muestra los espectros de absorbancia de la mezcla de colorantes industriales, donde se confirma la degradación de los cuatro colorantes al final del tratamiento (día 9), por la ausencia de los picos característicos en el espectro en el día 0. El porcentaje de decoloración de la mezcla de colorantes calculado con la relación del área bajo la curva del día final respecto al área bajo la curva del día cero de tratamiento fue de 86% para *P. chrysosporium* y 82% para *P. sordida*.

## Discusión

La degradación del colorante Orange II por las siete cepas de hongos de la podredumbre blanca de la madera, permitió identificar su capacidad ligninolítica y confirmar que los hongos del género *Phanerochaete* están entre los que muestran mayor expresión de las enzimas ligninolíticas, y por su alta velocidad de crecimiento son bastante apreciados para su uso en procesos de biorremediación y producción de este tipo de enzimas [22]. La cinética de fermentación y decoloración de Orange II de la figura 1 muestra una curva de crecimiento con un comportamiento diáuxico. En general este fenómeno se presenta cuando en el medio de cultivo están presentes dos sustratos que se consumen consecutivamente, sin embargo este no es el caso de los cultivos en este trabajo. Gao y colaboradores [23] observaron que *P. chrysosporium* cambia su morfología, “*ruptura de los pellets*”, al momento de iniciar la producción de las enzimas Manganese Peroxidasa y Lacasa. Este cambio morfológico podría es-

tar involucrado en el comportamiento diáuxico observado en la figura 1 y a su vez explicaría el fenómeno de desorción del colorante durante su primera fase de crecimiento. Una vez los pellets se rompen y se inicia la etapa de producción de enzimas, el colorante se libera de la biomasa incrementándose la concentración en el medio y se inicia su degradación. Algunos autores han reportado resultados similares a los encontrados en este trabajo en donde hubo adsorción del colorante durante el metabolismo primario sin observarse color residual sobre la biomasa al final de los tratamientos. Por esto se ha sugerido que durante la degradación la adsorción al parecer no es un mecanismo predominante pero es posible que esté involucrado como parte del proceso global [24]. También, durante estudios de adsorción de metales pesados, se han observado fenómenos similares al encontrado con el Orange II en este trabajo. Durante estudios de adsorción de Pb(II) con *P. chrysosporium* se ha logrado una elevada adsorción durante las fases de crecimiento exponencial del hongo en crecimiento diáuxico, y se observa nuevamente un porcentaje de desorción en cada fase estacionaria [25]. *P. chrysosporium* y *P. sordida* crecieron en medios con los colorantes industriales a una concentración de 100 mg.L<sup>-1</sup> y sus velocidades de crecimiento fueron similares a las observadas en los cultivos sin presencia de colorante, indicando que no hubo efecto inhibitorio a esta concentración. Con otros colorantes como Orange II y Poly R-478 no se ha observado inhibición en el crecimiento hasta valores de 400 mg.L<sup>-1</sup> (datos no mostrados). Sin embargo, otros colorantes han mostrado ejercer una fuerte inhibición sobre el crecimiento de *P. chrysosporium*. Por ejemplo, con rojo congo a una concentración de 100 mg.L<sup>-1</sup> se reduce la producción de biomasa en un 40% y se inhibe completamente a 300 mg.L<sup>-1</sup> [26]. *Pleurotus ostreatus* también ha mostrado una fuerte inhibición de su crecimiento con los tintes azul Evans y amarillo Eosin [27]. En conclusión, en este trabajo se ha observado que los hongos de la pudrición blanca de la madera tienen potencial ligninolítico para eliminar contaminantes ambientales como es el caso de colorantes textiles y esta capacidad difiere con la

cepa de hongo empleada. Entre los hongos evaluados, *P. chrysosporium* y *P. sordida* son los que más capacidad degradativa exhiben, seguidos por *P. cilitaus* y *A. discolor*. Los colorantes Rojo Erionil®, Azul Terasil®, Rojo Cibacrón® y Turquesa Erionil® fueron degradados en más de un 80% durante 9 días de tratamiento en efluentes líquidos simulados y su degradación fue total en placas Petri con medio semisólido. En los hongos *Phanerochaete* se observó adsorción parcial del colorante Orange II, pero este fenómeno no afectó su decoloración. En cultivos semisólidos no se observa inhibición del crecimiento celular a concentraciones de 100 mg.L<sup>-1</sup> de cada colorante industrial evaluado. Muy pocos trabajos de degradación de tintes se han realizado empleando efluentes reales con presencia de metales pesados y con la microflora autóctona presente [28, 29]. Por esto es importante en trabajos posteriores, evaluar el comportamiento de los tratamientos biológicos con hongos en condiciones no estériles, con el objetivo de desarrollar biorreactores que operen eficientemente por largos periodos bajo condiciones reales de los efluentes de descarga.

### Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Grupo de Ingeniería ambiental y Bioprocesos de la Universidad de Santiago de Compostela (España), Dr. Gumersindo Feijoo, por el obsequio de las cepas de hongos.

### Bibliografía

1. K. Ranganathan, K. Karunakaran, D. C. Sharma. "Recycling of wastewaters of textile dyeing industries using advanced treatment technology and cost analysis-Case studies". *Resources, Conservation and Recycling*. Vol. 50. 2007. pp. 306-318.
2. L. Berna Botero. "Industria textil y medio ambiente: parte II". *Colombia Textil*. Vol. 124. 1997. pp. 39-45.
3. K. Harrington-Brock, L. Parker, C. Doerr, M. C. Cimino, M. M. Moore. "Analysis of the genotoxicity of anthraquinone dyes in the mouse lymphoma assay". *Mutagenesis*. Vol. 6. 1991. pp. 35-46.
4. A. Gottlieb, C. Shaw, A. Smith, A. Wheatley, S. Forsythe. "The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation". *Journal of Biotechnology*. Vol. 101. 2003. pp. 49-56.
5. I. Mielgo, M. T. Moreira, G. Feijoo, J. M. Lema. "A packed-bed fungal bioreactor for the continuous decolourisation of azo-dyes (Orange II)". *Journal of Biotechnology*. Vol. 89. 2001. pp. 99-106.
6. N. K. Pazarlioglu, R. O. Urek, F. Ergun. "Biodecolourization of Direct Blue 15 by immobilized *Phanerochaete chrysosporium*". *Process Biochemistry*. Vol. 40. 2005. pp. 1923-1929.
7. T. H. Kim, Y. Lee, J. Yang, B. Lee, C. Park, S. Kim. "Decolorization of dye solutions by a membrane bioreactor (MBR) using white-rot fungi". *Desalination*. Vol. 168. 2004. pp. 287-293.
8. T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, P. Nigam. "Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative". *Bioresource Technology*. Vol. 77. 2001. pp. 247-255.
9. Y. Z. Fu, T. Viraraghavan. "Fungal decolorization of dye wastewaters: a review". *Bioresource Technology*. Vol. 79. 2001. pp. 251-262.
10. W. Delé, C. O'neil, T. Hawkes, H. Phineiro. "Anaerobic treatment of textile effluents: A review". *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. Vol. 73. 1998. pp. 323-335.
11. S. B. Pointing. "Feasibility of bioremediation by white-rot fungi". *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 57. 2001. pp. 20-33.
12. T. Mester, M. Tien. "Oxidation mechanism of ligninolytic enzymes involved in the degradation of environmental pollutants". *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 46. 2000. pp. 51-59.
13. G. Dávila. "Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales". *Mensaje Bioquímico*. Vol. XXX. 2006. pp. 29-55.
14. G. Bayramoglu, G. Celik, M. Y. Arica. "Biosorption of Reactive Blue 4 dye by native and treated fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Batch and continuous flow system studies". *Journal of Hazardous Materials*. Vol. B137. 2006. pp. 1689-1697.
15. M. T. Moreira, I. Mielgo, G. Feijoo, J. M. Lema. "Evaluation of different fungal strains in the decolourisation of synthetic dyes". *Biotechnology Letters*. Vol. 22. 2000. pp. 1499-1503.

16. M. Chander, D. S. Arora, H. K. Bath. "Biodecolourisation of some industrial dyes by white-rot fungi". *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. Vol. 31. 2004. pp. 94-97.
17. M. J. López, G. Guisado, M. C. Vargas-García, F. Suárez-Estrella, J. Moreno. "Decolorization of industrial dyes by ligninolytic microorganisms isolated from composting environment". *Enzyme and Microbial Technology*. Vol 40. 2006. pp. 42-45.
18. L. Valentin, G. Feijoo, M. T. Moreira, M. Lema. "Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in forest and salt marsh soils by white-rot fungi". *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 58. 2006. pp. 15-21.
19. A. M. F. Milagres, V. Arantes, C. L. Medeiros, A. Machuca. "Production of metal chelating compounds by white and brown-rot fungi and their comparative abilities for pulp bleaching". *Enzyme and Microbial Technology*. Vol. 30. 2002. pp. 562-565.
20. G. L. Miller. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar". *Analytical Chemistry*. Vol. 31. 1959. pp. 426-428.
21. S. R. Couto, E. Rosales, M. A. Sanroman. "Decolourization of synthetic dyes by *Trametes hirsuta* in expanded-bed reactors". *Chemosphere*. Vol. 62. 2006. pp. 1558-1563.
22. W. Y. Lim, K. S. Baik, J. Chun, K. H. Lee, W. J. Jung, K. S. Bae. "Accurate delimitation of *Phanerochaete chrysosporium* and *Phanerochaete sordida* by specific PCR primers and cultural approach". *Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 17. 2007. pp. 468-473.
23. D.W. Gao, X. H. Wen, Y. Qian. "Effect of nitrogen concentration in culture mediums on growth and enzyme production of *Phanerochaete chrysosporium*". *Journal of Environmental Sciences*. Vol. 17. 2005. pp. 190-193.
24. J. Urra, L. Sepúlveda, E. Contreras, C. Palma. "Screening of static culture and comparison of batch and continuous culture for the textile dye biological decolorization by *Phanerochaete chrysosporium*". *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. Vol. 23. 2006. pp. 281-290.
25. U. Yetis, A. Dolek, F. B. Dilek, G. Ozcengiz. "The removal of Pb(II) by *Phanerochaete chrysosporium*". *Water Research*. Vol 34. 2000. pp. 4090-4100.
26. K.V. Radha, I. Regupathi, A. Arunagiri, T. Murugesan. "Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics". *Process Biochemistry*. Vol. 40. 2005. pp. 3337-3345.
27. I. Eichlerová, L. Homolka, F. Nerud. "Decolorization of synthetic dyes by *Pleurotus ostreatus* isolates differing in ligninolytic properties". *Folia Microbiologica*. Vol. 47. 2002. pp. 691-695.
28. J. Libra, M. Borchert, S. Banit. "Competition strategies for the decolorization of a textile-reactive dye with the white-rot fungi *Trametes versicolor* under non-sterile conditions". *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 82. 2003. pp. 736-744.
29. G. Dawen, W. Xianghua, Z. Yonggang, Q. Yi. "Decolourization of a textile-reactive dye with *Phanerochaete chrysosporium* incubated in different ways under non-sterile conditions". *Water Practice & Technology*. Vol. 1. 2006. pp. 45-55.