

Uso de la pulpa de papa como biomaterial para la remoción de un contaminante industrial (Orange II)

Diego A. Morales-Urrea^{1*}, Alex F. López-Córdoba² y Edgardo M. Contreras¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA). CCT - Mar del Plata. CONICET, Mar del Plata, Argentina (correo-e: dmoralesurrea@fi.mdp.edu.ar; correo-e: edgardo.contreras@fi.mdp.edu.ar)

(2) Grupo de Investigación en Bioeconomía y Sostenibilidad Agroalimentaria, Escuela de Administración de Empresas Agropecuarias, Facultad Seccional Duitama, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Duitama, Colombia (correo-e: alex.lopez01@uptc.edu.co)

* Autor a quien debe ser dirigida la correspondencia

Recibido May. 18, 2022; Aceptado Jul. 14, 2022; Versión final Jul. 28, 2022, Publicado Dic. 2022

Resumen

En el presente estudio se acondicionó un biomaterial a base de pulpa de papa liofilizada (PPL) para la remoción de un colorante industrial, Orange II (S), con peróxido de hidrógeno (P). El uso de enzimas es actualmente una de las tecnologías más prometedoras para la eliminación de contaminantes industriales recalcitrantes. Se caracteriza la actividad peroxidasa de PPL mediante la oxidación de ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) y su capacidad para remover S. Los resultados indicaron que PPL es una potencial fuente de enzima peroxidasa y que además tiene la capacidad para eliminar el Orange II mediante oxidación enzimática y bioadsorción. Esto aporta la catálisis enzimática, un 65 % de la remoción total del colorante. Se concluye que la decoloración de S con P en presencia de PPL es conveniente realizarla a pH 9 y un valor inicial de $P_0/S_0 = 10$ mol/mol.

Palabras clave: biomaterial; contaminante industrial; Orange II; pulpa de papa; enzima peroxidasa

Potato pulp as a biomaterial to remove an industrial pollutant compound (Orange II)

Abstract

In the present research study, a biomaterial from lyophilized potato pulp (PPL) was developed to remove a common industrial dye (Orange II, S) with hydrogen peroxide (P). Enzymatic catalysis is one of the most promising technologies to eliminate recalcitrant industrial compounds. Peroxidase activity of PPL is characterized by oxidation of 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate acid (ABTS) and its ability to remove S. The results indicated that PPL was a potential source of peroxidase enzymes that can also remove Orange II by enzymatic oxidation and bioadsorption. The enzymatic process contributed to close to 65 % of the total dye removal. It is concluded that S decolorization with P by PPL was best at pH 9 and with an initial value of $P_0/S_0 = 10$ mol/mol.

Keywords: biomaterial; industrial pollutants; Orange II; potato pulp; peroxidase enzyme

INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales industriales son resultantes de procesos de la industria caracterizadas por contener compuestos recalcitrantes, químicos sintéticos, colorantes, pesticidas, entre otros (Morales-Urrea et al., 2018). El tratamiento de estos efluentes es fundamental para la protección y conservación del ambiente. Estos tratamientos implican métodos físicos, químicos, biológicos y la combinación de éstos. Los métodos físicos transfieren los contaminantes a otros medios requiriendo tratamientos posteriores. Por su parte, los biológicos y químicos transforman o descomponen los contaminantes. Estos métodos son muy eficientes, pero con alto costo operativo e impacto ambiental (Crini et al., 2018).

Los colorantes azoicos son compuestos orgánicos sintéticos caracterizados por tener uno o más enlaces azo ($-N=N-$) como grupo cromóforo, asociado con estructuras aromáticas. Su uso se ha extendido ampliamente en diversos sectores industriales (textil, farmacéutico, alimentario, entre otros) debido a la facilidad y rentabilidad de su síntesis, estabilidad y diversidad de colores disponibles (Lin et al., 2014). Según Rache et al. (2014), el 70% de la producción mundial de colorantes son de tipo azo. Estos son compuestos xenobióticos y recalcitrantes bajo condiciones naturales (Morales-Urrea et al., 2018). Adicionalmente, son potencialmente tóxicos y cancerígenos (Inchaurrondo et al., 2016). De acuerdo a Rauf y Ashraf (2012) el 10% de los colorantes producidos en el mundo se pierden en las aguas residuales durante la fabricación y los procesos de aplicación. En consecuencia, estos contaminantes orgánicos representan una problemática ambiental y de salud humana.

El orange II (S) es un tipo de colorante azo. Este se caracteriza por su elevada solubilidad en agua y su resistencia a muchos procesos de degradación tales como los tratamientos biológicos convencionales, la degradación por luz, la oxidación por O_2 , y la hidrólisis catalizada por ácidos o bases comunes (Heydari et al., 2016). Adicionalmente, el grupo cromóforo en su estructura molecular le confiere la propiedad de absorber la luz, por lo que su presencia en ecosistemas acuáticos podría reducir la penetración de luz solar, afectando procesos fotosintéticos. Por lo tanto, es crucial su remoción de los efluentes líquidos para proteger el agua y la biota del medio receptor. En los últimos años se han empleado métodos alternativos para la remoción de S debido a que los métodos convencionales no son siempre aplicables o efectivos (Martínez-Huitle y Brillas, 2009). Entre las tecnologías de eliminación de S más estudiadas se destacan los métodos de decoloración sonoquímica (Dökkancı et al., 2014), la adsorción física (Zhang et al., 2015) y los distintos tipos de procesos de oxidación avanzada (POAs) (Inchaurrondo et al., 2016). Este último consiste en la formación de oxidantes fuertes, generalmente radicales OH^\bullet , que provocan una serie de reacciones químicas que logran, incluso, la mineralización del contaminante (Arce-Sarria et al., 2019). Sin embargo, los POAs son procesos muy costosos y pueden generar residuos químicos peligrosos (Gautam et al., 2019).

Los procesos de degradación bioquímicamente asistidos (PDBA) son alternativas ecoamigables y económicamente viables de gran interés para la remoción de contaminantes recalcitrantes. Los PDBA se basan en el potencial metabólico de los microorganismos o sus enzimas para degradar una amplia variedad de compuestos (Rauf y Ashraf, 2012). El uso de enzimas, en lugar de microorganismos, es una forma sencilla de obtener elevadas tasas de eliminación de un compuesto específico en condiciones más predecibles (Morales-Urrea et al., 2018). Las enzimas son principalmente proteínas que catalizan las reacciones bioquímicas llevadas a cabo en las células de los organismos. Una de las principales características de las enzimas es la capacidad de catalizar reacciones específicas de uno o un grupo de sustratos (a esta propiedad se le denomina especificidad), por lo que son muy utilizadas en la industria farmacéutica y de alimentos (Tao et al., 2020). La Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular clasifica las enzimas según su especificidad en i) transferasas, ii) hidrolasas, iii) Liasas, iv) isomerasas, v) ligasas y vi) oxidoreductasas (Tao et al., 2020).

Las oxidoreductasas son enzimas que catalizan reacciones de oxidación/reducción. Las peroxidasas son un grupo de enzimas oxidoreductasas muy eficientes en la oxidación de colorantes industriales y compuestos fenólicos con peróxido de hidrógeno. Se han estudiado diferentes enzimas peroxidasas durante la oxidación de S con peróxido de hidrógeno (López et al., 2004; Morales-Urrea et al., 2018). No obstante, el uso de enzimas comerciales puras eleva considerablemente los costos económicos de los procesos enzimáticos. Por tal motivo, es crucial el empleo de extractos enzimáticos a partir de materiales vegetales de alta oferta, que permitan reducir los costos del proceso. Varios autores han reportado altas tasas de remoción de un contaminante a partir de extractos enzimáticos de baja pureza (Chiong et al., 2016).

La papa ocupa el tercer lugar de importancia como producto alimenticio mundial. En los Andes Sudamericanos, este cultivo juega un rol fundamental en la seguridad alimentaria y en la economía rural y campesina. Por lo anterior y considerando que la papa es una fuente de enzimas peroxidasas (Kurnik et al., 2018) y que, además, tiene el potencial de adsorber colorantes industriales (Stavrinou et al., 2018), el presente trabajo propone investigar el uso de pulpa de papa para la remoción de orange II como un modelo de contaminante industrial.

METODOLOGIA

La metodología se presenta en cuatro subsecciones: i) materiales y reactivos, (ii) Acondicionamiento de la pulpa de papa, (iii) Ensayos de actividad peroxidasa de PPL, y (iv) Ensayos de decoloración de Orange II (S).

Materiales y reactivos

Se empleó papa de la variedad pastusa (*solanum tuberosum sp.*) adquirida en un mercado local de la ciudad de Duitama (Boyacá, Colombia). El orange II (S) y el ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) fueron provistos por Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.). El peróxido de hidrógeno fue provisto por Panreac (Barcelona, España). Las sales empleadas fueron provistas por Loba Chemie (India).

Acondicionamiento de la pulpa de papa

1 Kg de papa pastusa cruda fue pelada, cortada en cubos (aproximadamente 30 mm) y sumergida en una solución que contenía 1 L de ácido ascórbico (1 % p/v, pH 5.0) durante 1 h. Luego, esta fue almacenada a -20 °C durante 12 h y posteriormente secada en un liofilizador BUCHI Lyovapor L-200 (Flawil, Suiza). Este equipo fue operado a -55 °C y a una presión de cámara de 0,1 mbar durante 48 h. La pulpa de papa liofilizada (PPL) fue molida en un mortero y tamizada hasta obtener un polvo fino homogéneo (Fig. 1), que se almacenó en un frasco hermético hasta su uso.



Fig. 1: Pulpa de Papa Liofilizada (PPL): Biomaterial acondicionado para la remoción de orange II (S).

Ensayos de actividad peroxidasa de PPL

La actividad peroxidasa de PPL fue determinada mediante la oxidación de ABTS con peróxido de hidrógeno (P) de acuerdo con lo planteado por Xu et al. (2015). La oxidación de ABTS es un método muy empleado para la determinación de actividad peroxidasa. Esta reacción genera radicales ABTS^{•+}, que son detectados mediante espectrofotometría (Kadnikova y Kostić, 2002). Los ensayos se realizaron en celdas espectrofotométricas de cuarzo de 4 mL a temperatura ambiente (22 ± 2 °C). Diferentes cantidades de PPL (25 a 100 mg) fueron mezclados con soluciones patrón de ABTS (0,03 a 0,63 mM) y P (0,16 a 16,25), preparadas en buffer fosfato (BF, 100 mM) al pH de estudio (3 a 9). El volumen total de la mezcla de reacción fue 3,2 mL. La actividad peroxidasa fue monitoreada a 420 nm (A, 420) en función del tiempo (t, min) utilizando un espectrofotómetro X-ma 1200. Los ensayos se llevaron a cabo hasta que A420 se hizo constante. La velocidad inicial de formación de radicales ABTS^{•+} ($V_{0\text{ABTS}^{\bullet+}}$, a.u./min) se obtuvo a partir de la pendiente de la fracción lineal de la curva de A (420 nm) Vs t (min).

Ensayos de decoloración de Orange II (S)

Se estudió la capacidad de PPL para oxidar S en presencia de P acorde a trabajos previos (Morales-Urrea et al., 2018). Además, en paralelo se realizaron ensayos de remoción de S en ausencia de P para observar la capacidad de PPL de adsorber S. Los ensayos de oxidación de S consistían en poner en contacto 100 mg de PPL con soluciones de S (0,152 mM) y P (0,09 y 1,70 mM), preparados en BF (100 mM) a pHs entre 5 y 9. El volumen total de la mezcla de reacción fue 6,6 mL. Las muestras fueron incubadas durante 0,5 y 1 h a temperatura ambiente (22 ± 2 °C). A tiempos definidos, se tomaba 1 mL de muestra desde la mezcla de reacción, que se introducía en una celda espectrofotométrica de metacrilato de 2 mL. La absorbancia a 485 nm era registrada en un espectrofotómetro X-ma 1200. Luego, la muestra era devuelta a la mezcla de reacción. El coeficiente de extinción molar a 485 nm fue de 4.2 ± 0.2 a.u./cm/mM. La velocidad inicial de decoloración de S (V_{0D} , u.a./min) se obtuvo a partir de la pendiente de la porción lineal de la curva de

absorbancia (A , 485 nm) en función del tiempo (t , min). A partir de los resultados obtenidos se calculó la máxima remoción de S (R_s , %) como se muestra en la ec. (1):

$$R_s = \frac{A_0 - A_f}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

donde A_0 (u.a) y A_f (u.a) son la absorbancia inicial y final a 485 nm, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados y su discusión se presentan en dos partes: Actividad peroxidasa de PPL y Decoloración de orange II (S).

Actividad peroxidasa de PPL

La Fig. 2a muestra que la absorbancia a 420 nm (A_{420}) incrementó en función del tiempo hasta un cierto valor final, el cual se hizo estable en el tiempo estudiado. Resultados similares fueron reportados por Kadnikova y Kostić (2002). Según los autores, esto se debe a la formación de radicales $ABTS^{\bullet+}$, en una primera etapa de la oxidación enzimática de ABTS. La Fig. 2a también muestra que el valor final de A_{420} es función de la concentración inicial de ABTS. Esto se debe a que la concentración de $ABTS^{\bullet+}$ incrementa con la concentración inicial de ABTS. De los Santos et al. (2020), reportaron similares comportamientos en el estudio de la actividad peroxidasa de extractos de tomate. La Fig. 2b muestra la porción lineal de la curva de A (420 nm) Vs t (min) tomada de la Fig. 2a.

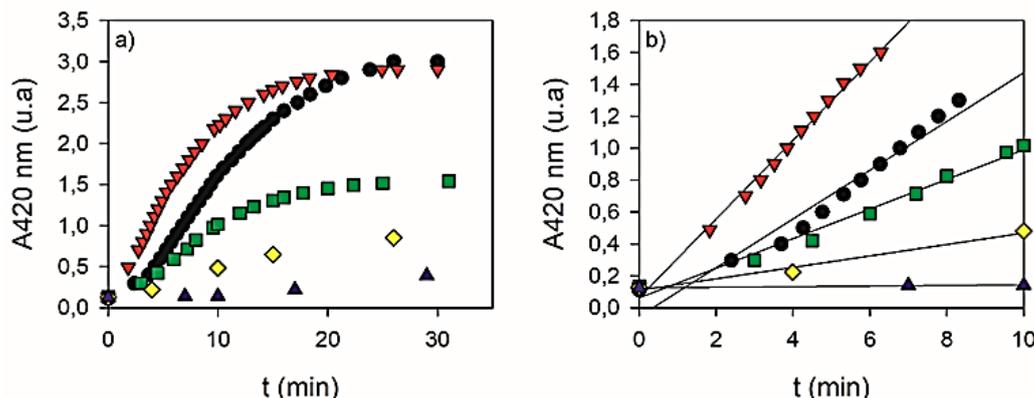


Fig.2: Cambio de absorbancia a 420 nm (A_{420}) en función del tiempo. Puntos: negros ($C_{0ABTS} = 0,187$ mM), rojos ($C_{0ABTS} = 0,156$ mM), verdes ($C_{0ABTS} = 0,093$ mM), amarillos ($C_{0ABTS} = 0,063$ mM) y azul ($C_{0ABTS} = 0,03$ mM).

La velocidad inicial de formación de radicales $ABTS^{\bullet+}$ ($V_{0ABTS^{\bullet+}}$, a.u./min) (Fig. 3) fue calculada a partir de los datos adquiridos del cambio de absorbancia a 420 nm (A_{420}) en función del tiempo (Fig. 2b). La Fig. 3 indica que $V_{0ABTS^{\bullet+}}$ incrementó con las altas concentraciones iniciales de ABTS hasta cierto valor en donde tendía a hacerse constante, en concordancia con lo reportado por de los Santos et al. (2020). Los datos de la curva de $V_{0ABTS^{\bullet+}}$ y concentraciones iniciales de ABTS (C_{0ABTS} , mM) se ajustaron a la ecuación de Michaelis-Menten empleando el programa SigmaPlot (Versión 14.0/2018):

$$V = \frac{V_m \times [S]}{K_m + [S]} \quad (2)$$

donde V_m (u.a/min) y K_m (mM) son los parámetros cinéticos de la curva hiperbólica de la Fig. 3.

En la Figura 3, la línea continua es el ajuste de la función hiperbólica. La línea discontinua es la asíntota de esta función, que indica el valor de la velocidad máxima — V_m — de la ec (2) = $0,42 \pm 0,06$ u.a/min. Las líneas de punto muestran el valor de K_m en la ordenada abscisa (0,18 mM). Este valor de K_m es cercano al observado durante la oxidación de ABTS en presencia de extractos de peroxidasa de tomate (de los Santos et al., 2020) y repollo rojo (Fortea et al., 2012), y polifenol oxidasa de durazno (Cabanés et al., 2007). En la Fig. 3 también se observa que a valores menores que K_m la velocidad inicial aumenta rápidamente, en contraste con lo observado a valores mayores que K_m . Este es un comportamiento típico en las peroxidasa que indica un perfil cinético de saturación de los sitios activos de la enzima a altas concentraciones de sustrato. La Fig. 4 muestra el efecto de la concentración inicial de peróxido de hidrógeno (P_0) sobre $V_{0ABTS^{\bullet+}}$, a diferentes pHs. En esta se observa que los mayores valores de $V_{0ABTS^{\bullet+}}$ se alcanzaron a pH 5. Además, se observó un efecto inhibitorio de P_0 sobre la actividad peroxidasa. Varios autores reportaron que este efecto inhibitorio se debe a

la formación de un complejo inactivo enzima-peróxido a altas concentraciones iniciales de peróxido (Dunford y Stillman, 1976; Morales-Urrea et al., 2018). En general, en la Fig. 4 se observa que, para un pH dado, los valores de $V_{0\text{ABTS}^{*+}}$ disminuyeron notoriamente a concentraciones iniciales de P mayores a 2 mM.

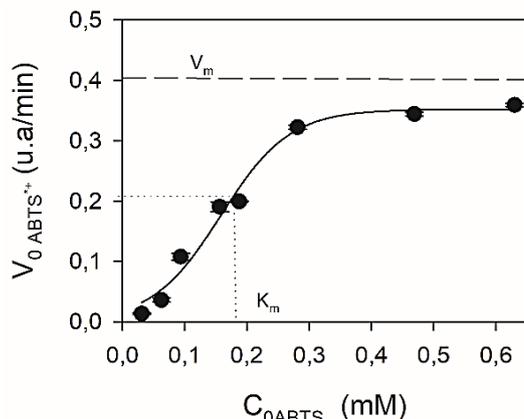


Fig. 3: Efecto de la concentración inicial de ABTS ($C_{0\text{ABTS}}$) sobre la velocidad de formación de radicales ABTS^{*+} ($V_{0\text{ABTS}^{*+}}$). En todos los ensayos: Concentración de PPL = 7,81 g/L, $P_0 = 1,6$ mM, pH 5.

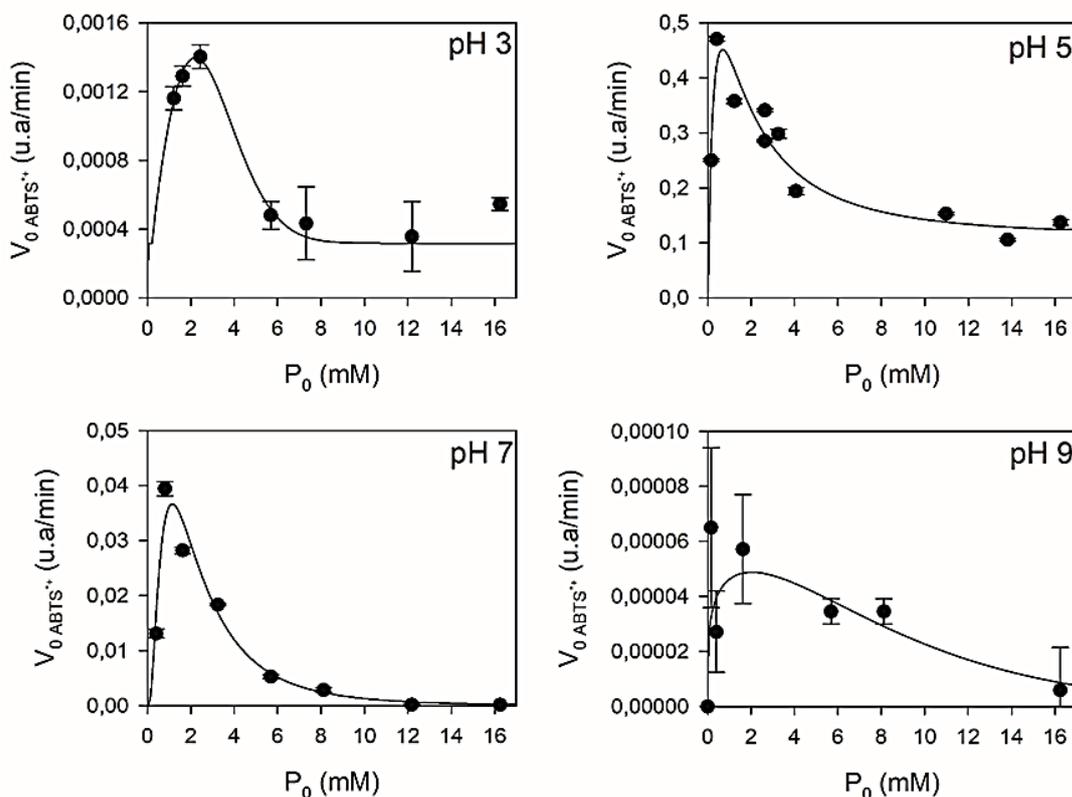


Fig. 4: Efecto de la concentración inicial de peróxido de hidrógeno (P_0) y el pH en la velocidad inicial de formación de radicales ABTS^{*+} ($V_{0\text{ABTS}^{*+}}$). En todos los ensayos: Concentración de PPL = 7,81 g/L, $\text{ABTS}_0 = 0,47$ mM.

La Fig. 5 muestra los valores máximos de $V_{0\text{ABTS}^{*+}}$ ($V_{0\text{max}}$, u.a./min) en función del pH, obtenidos a partir de los resultados mostrados en la Figura 4. En esta se observa que el valor más alto de $V_{0\text{max}}$ se alcanzó a pH 5, siendo este valor 300 y 17 veces mayor que a pHs 3 y 7, respectivamente. Asimismo, se observó que a pH 9 los valores de $V_{0\text{max}}$ disminuyeron drásticamente. El comportamiento de la actividad peroxidasa observado en la Fig. 5, es similar a los reportados por diferentes autores durante la oxidación de ABTS con P en presencia de una enzima peroxidasa de rábano picante comercial (HRP) (Xu et al., 2015) y una enzima peroxidasa de tomate (De los Santos et al., 2020). El efecto de la concentración de PPL sobre la actividad peroxidasa también fue estudiado. La Fig. 6 muestra que el valor de $V_{0\text{ABTS}^{*+}}$ aumentó 1,8 veces desde 0,76 a 7,6 g/L de PPL. Luego, los valores de $V_{0\text{ABTS}^{*+}}$ se hicieron prácticamente constantes. Esto se debe a que el aumento de PPL incrementó la concentración inicial de enzima peroxidasa. Kurnik et al. (2018) reportaron ascensos en los valores de remoción de 2,4-dichlorophenol cuando aumentaron la concentración inicial de pulpa de papa.

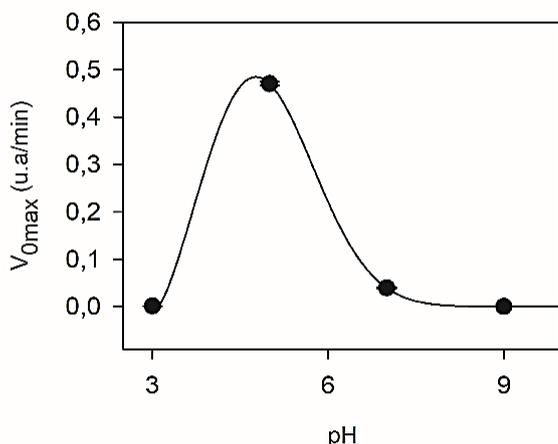


Fig. 5: Efecto del pH en la máxima velocidad de formación de radicales ABTS•⁺ (V_{0max}). Las condiciones de reacción se muestran en la Fig. 4.

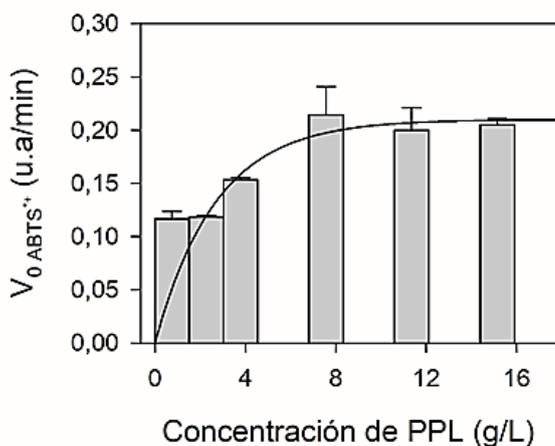


Fig. 6: Efecto de la concentración inicial de la pulpa de papa liofilizada (PPL) sobre la velocidad de formación de radicales ABTS•⁺ (V_{0ABTS•+}). En todos los ensayos: ABTS₀ = 0,47 mM, P₀ = 0,41 mM.

Decoloración de orange II (S)

La Fig. 7 muestra los espectros UV-Visible de soluciones de orange II a diferentes pHs. En general, se observan dos bandas de absorción a 485 y 430 nm relacionadas con las formas tautoméricas hidrazona y azo del colorante, respectivamente. Asimismo, se observan otras dos bandas a 310 y 230 nm atribuidas a los anillos de benceno y naftaleno (Morales-Urrea et al., 2018). En la Fig. 7 se observa que el pico máximo de absorción a 485 nm, no cambió en función del pH. Según Gil et al. (2011), el orange II tiene dos valores de pKa: pK₁ = 1.0; pK₂ = 11.4 (Tabla 1). Es decir que, en el pH estudiado (5 – 9), el colorante se encontraba en su estado no disociado, lo que explica lo observado en la Fig. 7.

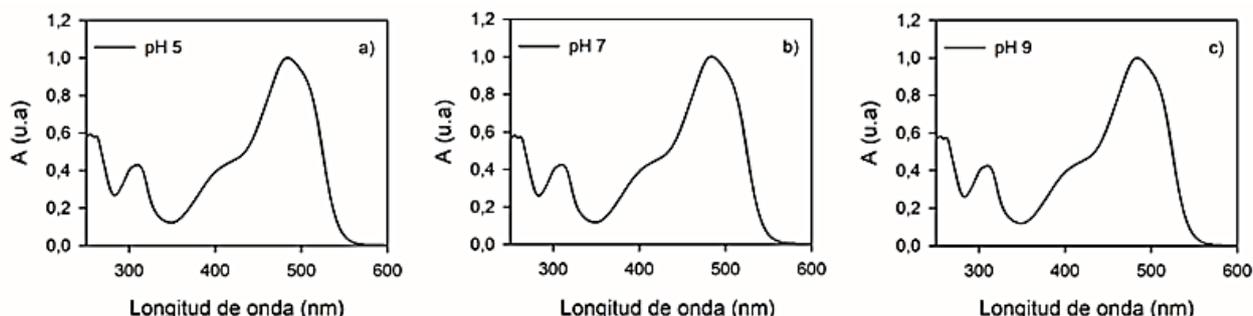


Fig. 7: Espectro UV/Visible del S en función del pH estudiado.

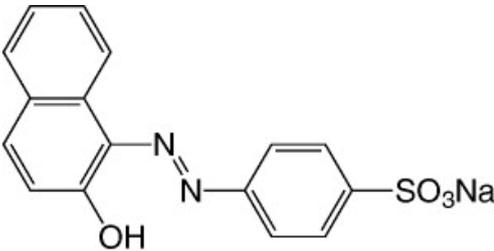
En un trabajo anterior (Morales-Urrea et al., 2018) se demostró que, durante la oxidación de S con P, el cambio de la absorbancia a 485 nm se debe principalmente a la remoción de S. Por esta razón, esta longitud de onda fue tomada para seguir el cambio de la concentración de S en función del tiempo. Sin embargo, en

catálisis heterogénea, S también puede ser removida debido a que se puede adsorber en los materiales de soporte (orgánicos e inorgánicos) (Morales-Urrea et al., 2021, 2022). Por esta razón, en el presente estudio se analizó el aporte enzimático y por adsorción durante la remoción de S en presencia de PPL.

La oxidación de compuestos donadores de electrones, como S, en presencia de P y enzimas peroxidasas está dada por el mecanismo de Dunford (Dunford y Stillman, 1976) según las ecuaciones 3 a 5. La oxidación del estado basal de la enzima (E) da lugar a un estado intermediario E₁ (ec. 3). Una segunda molécula de P reacciona con E₁ para dar lugar al complejo E₁P, que es catalíticamente inactivo (ec. 4). E₁ es el responsable de la oxidación del sustrato reductor S, formando un estado enzimático adicional E₁S (ec. 5) que es reducido a E por otra molécula de S, generando, además, un producto Q. Según López et al. (2004), los principales productos de la oxidación enzimática de S con P son diazobencensulfonato e hidroxibencensulfonato, pero también detectaron la presencia de anilina, 1-amino 2-naftol, sulfanilato, 1-diazo 2-naftol, 1,2-naftoquinona. Además, estos autores resaltan la disminución de la toxicidad de las aguas después de oxidar S.



Tabla 1: Estructura y principales propiedades del orange II (OII)

Nombre:	Orange II
Estructura química:	
Fórmula molecular:	C ₁₆ H ₁₁ N ₂ NaO ₄ S
Peso molecular:	350.32 g/mol
pK _a :	pK ₁ = 1.0; pK ₂ = 11.4
Solubilidad:	116 g/L a 30 °C

En principio, la decoloración de S se realizó a pHs entre 5 y 9. Además, sabiendo que las concentraciones iniciales de oxidante (P₀) y del sustrato reductor (S₀) son muy importantes en la oxidación enzimática de orange II (Morales-Urrea et al., 2018), los estudios se llevaron a cabo a dos distintos rangos iniciales de P₀/S₀ (6 y 10 mol/mol). La Fig. 8 muestra que el valor más alto de la velocidad inicial de decoloración de S (V_{0D}, u.a/min) se obtuvo a pH 9, empleando un rango de P₀/S₀ = 10 mol/mol. Además, se observó que, para P₀/S₀ = 10 mol/mol, el valor de V_{0D} a pH 9 fue, aproximadamente, 5 veces más alto que a pH 7. Este resultado es muy similar al reportado por Morales-Urrea et al. (2018) durante la decoloración de S con P en presencia de una HRP comercial. Estos autores informaron que la actividad enzimática aumentó hasta ocho veces cuando el pH se incrementó de 7 a 9.

La Fig. 9 muestra los valores de la remoción de S (R_s, %) en presencia y ausencia de P, a pH 9. En esta, las barras indican los valores de R_s en presencia de P. La línea discontinua indica el valor de R_s en ausencia de P. Las líneas de punto indican la desviación estándar (± 8,78 %) del valor de R_s en ausencia de P. Las líneas de barras indican la desviación estándar de R_s en presencia de P. En todos los ensayos: Concentración de

PPL = 15,15 g/L, $S_0 = 0,15$ mM, pH 9, $t = 1$ h. En general, los resultados indicaron que R_S incrementó progresivamente cuando los valores de P_0 aumentaron desde 0,15 (3 ± 6 %) hasta 1,51 mM (62 ± 3 %). Luego tuvo una disminución muy notoria para $P_0 = 1,70$ mM (40 ± 4 %). Esto podría deberse al efecto inhibitorio de la enzima por las altas concentraciones iniciales de P. La Fig. 9 también muestra que la máxima remoción de S (62 ± 3 %) se obtuvo para valores de $P_0/S_0 = 10$ mol/mol. Este valor es casi 10 veces mayor que el reportado por Morales-Urrea et al. (2018) durante la oxidación enzimática de orange II con HRP comercial. Este resultado podría asociarse a la actividad catalásica de la enzima (transformación de peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua) que podría deberse a la presencia de impurezas en la preparación de los extractos enzimáticos (Sahare et al., 2016).

Cabe destacar que, a diferencia del presente estudio, Morales-Urrea et al. (2018) emplearon una HRP comercial, la cual es de alta pureza. Chiong et al. (2016) estudiaron la decoloración de soluciones de naranja de metilo con una peroxidasa obtenida de extractos de cáscara de soja. Los autores reportaron remociones de hasta el 81% del colorante empleando valores de $P_0/S_0 = 22$ mol/mol, siendo casi dos veces mayor que al reportado en el presente trabajo. La Fig. 9 también muestra que la remoción de S se debía a la acción enzimática y a la capacidad bioadsorbente de PPL. Los resultados mostraron que, en ausencia de P, el valor de R_S fue $20,38 \pm 8,78$ %, siendo cerca del 35 % de la remoción total del colorante. Kurnik et al. (2018) reportaron la misma contribución de adsorción en la oxidación enzimática de 2,4-diclorofenol con pulpa de papa industrial. Los resultados obtenidos demostraron que PPL tiene la capacidad de catalizar la oxidación enzimática de orange II con peróxido de hidrógeno. Pero que, además, la remoción también podría deberse a fenómenos de superficie.

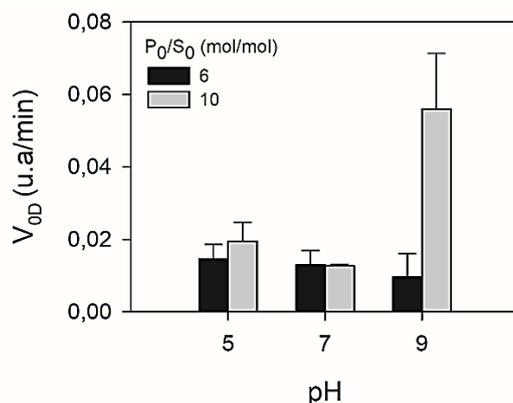


Fig. 8: Efecto del pH sobre la velocidad inicial de decoloración de S (V_{0D} , u.a./min). En todos los ensayos: Concentración de PPL = 15,15 g/L, $S_0 = 0,15$ mM, $P_0 = 0,91$ (Barras negras) y 1,51 (Barras grises) mM. $t = 0,5$ h.

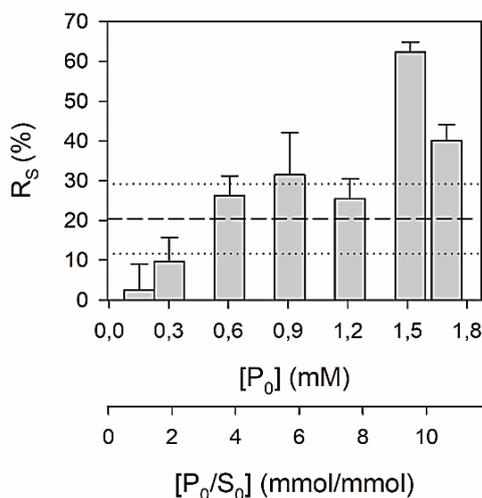


Fig. 9: Remoción de orange II (R_S) en presencia y ausencia de peróxido de hidrógeno (P).

CONCLUSIONES

Se acondicionó un biomaterial a base de pulpa de papa (PPL) con acción enzimática para ser aplicado en la oxidación del colorante azo orange II (S), con peróxido de hidrógeno. Los resultados indicaron claramente que la peroxidasa era fuertemente inhibida por las altas concentraciones de peróxido de hidrógeno (> 2mM) en el rango de pH estudiado (3 - 9). Además, la enzima era saturada por altas concentraciones de sustrato reductor. El estudio demostró que PPL tenía la capacidad para remover orange II por oxidación enzimática y bioadsorción, siendo el aporte por bioadsorción el 35 % de la remoción total del contaminante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT) y el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia (Minciencias).

REFERENCIAS

- Arce-Sarría, A., Machuca-Martínez, F., y Mueses, M. A., Degradación Fotocatalítica Solar Heterogénea de Ácido Dicloroacético en un Reactor Placa Plana a Escala Piloto, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000100033>, Información Tecnológica, 30(1), 33-40 (2019)
- Cabanes, J., Escribano, J., y otros 3 autores, Partial purification of latent polyphenol oxidase from peach (*Prunus persica* L. cv. *Catherina*). Molecular properties and kinetic characterization of soluble and membranebound forms, <http://dx.doi.org/10.1021/jf072165y>. PMID:17994689, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(25), 10446-10451 (2007)
- Chiong, T., Lau, S. Y., y otros 3 autores, Enzymatic treatment of methyl orange dye in synthetic wastewater by plant-based peroxidase enzymes, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.04.030>, Journal of Environmental Chemical Engineering, 4(2), 2500–2509 (2016)
- Crini, G., y Lichtfouse, E., Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment, <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0785-9>, Environmental Chemistry Letters, 17(1), 145-155 (2018)
- de los Santos, M. B., Jacobi, S. S., y otros 4 autores, Kinetic characterization, thermal and pH inactivation study of peroxidase and pectin methylesterase from tomato (*Solanum betaceum*), <https://doi.org/10.1590/fst.09419>, Food Science and Technology, 40, 273–279 (2020)
- Dükkancı, M., Vinatoru, M., y Mason, T. J., The sonochemical decolourisation of textile azo dye Orange II: effects of Fenton type reagents and UV light, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.08.020>, Ultrasonics Sonochemistry, 21(2), 846-853 (2014)
- Dunford, H. B., y Stillman, J. S., On the function and mechanism of action of peroxidases, [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80316-1](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80316-1), Coordination Chemistry Reviews, 19(3), 187-251 (1976)
- Forgacs, E., Cserhati, T., y Oros, G., Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.001>, Environment International, 30(7), 953-971 (2004)
- Fortea, M. I., Pellicer, J. A., y otros 4 autores, Red Cabbage (*Brassica oleracea*) as a New Source of High-Thermostable Peroxidase, <http://dx.doi.org/10.1021/jf302483q>, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60(42), 10641-10648 (2012)
- Gautam, P., Kumar, S., y Lokhandwala, S., Advanced oxidation processes for treatment of leachate from hazardous waste landfill: A critical review, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117639>, Journal of Cleaner Production, 237, 117639 (2019)
- Gil, A., Assis, F. C., Albeniz, S., y Korili, S. A., Removal of dyes from wastewaters by adsorption on pillared clays, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.01.078>, Chemical Engineering Journal, 168(3), 1032-1040 (2011)
- Heydari, R., Hosseini, M., Amraei, A., y Mohammadzadeh, A., Preparation of a novel pH optical sensor using orange (II) based on agarose membrane as support, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.051>, Materials Science and Engineering C, 61, 333–337 (2016)
- Inchaurredo, N., Font, J., Ramos, C. P., y Haure, P., Natural diatomites: Efficient green catalyst for Fenton-like oxidation of Orange II, <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.08.022>, Applied Catalysis B: Environmental, 181, 481–494 (2016)
- Kadnikova, E. N., y Kostić, N. M., Oxidation of ABTS by hydrogen peroxide catalyzed by horseradish peroxidase encapsulated into sol-gel glass: Effects of glass matrix on reactivity, [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(02\)00057-7](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(02)00057-7), Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 18, 39-48 (2002)
- Kurnik, K., Treder, K., y otros 4 autores, Potato Pulp as the Peroxidase Source for 2,4-Dichlorophenol Removal, <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9863-7>, Waste and Biomass Valorization, 9(6), 1061–1071 (2018)

- Lin, H., Zhang, H., y otros 3 autores, Electro-fenton removal of Orange II in a divided cell: Reaction mechanism, degradation pathway and toxicity evolution, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.12.010>, Separation and Purification Technology, 122, 533–540 (2014)
- López, C., Valade, A. G., y otros 4 autores, Mechanism of enzymatic degradation of the azo dye Orange II determined by ex situ 1H nuclear magnetic resonance and electrospray ionization-ion trap mass spectrometry, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.08.037>, Analytical Biochemistry, 335(1), 135-149 (2004)
- Martínez-Huitle, C. A., y Brillas, E., Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: a general review, <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2008.09.017>, Applied Catalysis B: Environmental, 87(3-4), 105-145 (2009)
- Morales-Urrea, D. A., Haure, P. M., García Einschlag, F. S., y Contreras, E. M., Horseradish peroxidase-mediated decolourization of Orange II: modelling hydrogen peroxide utilization efficiency at different pH values, <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2134-8>, Environmental Science and Pollution Research, 25(20), 19989–20002 (2018)
- Morales-Urrea, D. A., Caracciolo, P.C., Haure, P. M., y Contreras, E. M., Immobilization of horseradish peroxidase onto electrospun polyurethane nanofiber matrices, <https://doi.org/10.1002/pat.5484>, Polymers for Advanced Technologies, 32(12), 4902-4914 (2021)
- Morales-Urrea, D. A., Haure, P. M., y Contreras, E. M., Orange II removal by a horseradish peroxidase immobilized onto chemically modified diatomites is a combination of adsorption and oxidation processes, <https://doi.org/10.22201/icat.24486736e.2022.20.2.1509>, Journal of Applied Research and Technology, 20(2), 203-220 (2022)
- Müftügil, N., The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat, <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740360918>, Journal of the Science of Food and Agriculture, 36(9), 877-880 (1985)
- Rache, M. L., García, A. R., y otros 4 autores, Azo-dye orange II degradation by the heterogeneous Fenton-like process using a zeolite Y-Fe catalyst-kinetics with a model based on the Fermi's equation, <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2013.04.028>, Applied Catalysis B: Environmental, 146, 192–200 (2014)
- Rauf, M. A., y Ashraf, S. S., Survey of recent trends in biochemically assisted degradation of dyes, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.08.015>, Chemical Engineering Journal, 209, 520–530 (2012)
- Sahare, P., Ayala, M., y otros 5 autores, Enhancement of Peroxidase Stability Against Oxidative Self-Inactivation by Co-immobilization with a Redox-Active Protein in Mesoporous Silicon and Silica Microparticles, <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1605-4>, Nanoscale Research Letters, 11(1), 1–10 (2016)
- Stavrinou, A., Aggelopoulos, C. A., y Tsakiroglou, C. D., Exploring the adsorption mechanisms of cationic and anionic dyes onto agricultural waste peels of banana, cucumber and potato: Adsorption kinetics and equilibrium isotherms as a tool, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.10.063>, Journal of Environmental Chemical Engineering, 6(6), 6958–6970 (2018)
- Steevensz, A., Madur, S., y otros 4 autores, A simple lab-scale extraction of soybean hull peroxidase shows wide variation among cultivars, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.03.030>, Industrial Crops and Products, 48, 13-18 (2013)
- Tao, Z., Dong, B., Teng, Z., y Zhao, Y., The classification of enzymes by deep learning, <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.2992468>, IEEE Access, 8, 89802-89811 (2020)
- Xu, R., Si, Y., Li, F., y Zhang, B., Enzymatic removal of paracetamol from aqueous phase: horseradish peroxidase immobilized on nanofibrous membranes, <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3658-1>, Environmental Science and Pollution Research, 22(5), 3838–3846 (2015)
- Zhang, L., Chen, L., Liu, X., y Zhang, W., Effective removal of azo-dye orange II from aqueous solution by zirconium-based chitosan microcomposite adsorbent, <https://doi.org/10.1039/C5RA12331C>, RSC Advances, 5(114), 93840-93849, (2015)