



Decoloración biológica del colorante azo Rojo 40 proveniente de un efluente textil utilizando hongos de la podredumbre blanca

Autor

Camila Gómez Garcés

Trabajo de investigación de maestría para optar al título de Magister en Ingeniería Ambiental
Grupo de investigación Bioprocesos microbianos BIOmicro

Directora

Lida Arias Marín PhD. Msc. Biotecnología

Codirectora

Luisa María Múnera Porras Msc. Biología

Universidad de Antioquia Facultad de ingeniería
Maestría en Ingeniería Ambiental
Medellín, Antioquia, Colombia 2024

Cita (Gómez-Garcés et al., 2024)

Referencia Estilo APA 7 (2020) Gómez-Garcés, C., Arias, L, Munera, LM, (2024). Decoloración biológica del colorante azo Rojo 40 proveniente de un efluente textil utilizando hongos de la podredumbre blanca [Tesis de maestría]. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.



Maestría en Ingeniería Ambiental.

Grupo de Investigación en Bioprocesos microbianos (Biomicro)



Biblioteca Carlos Gaviria Díaz

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: Jhon Jairo Arboleda Céspedes Decano/Director: Julio Cesar Saldarriaga Molina Jefe departamento: Lina María Berrouet

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

AGRADECIMIENTOS

Hace un tiempo mis papás me dijeron “nunca dejes que se acabe un día sin haber sido feliz, sin aumentar tus sueños y sin crecer un poco más” por eso hoy, mi principal agradecimiento es para ellos, porque me apoyaron en este camino que me hace feliz: La ciencia, y me impulsaron a ser cada día mejor en el ámbito profesional y personal.

A mi abuelo, quien siempre se preocupó por mí y mi investigación, aunque no entienda mucho de lo que hago, pero siempre me aconsejó que “para adelante era para allá”. Y a mi abuela, a quien desde el cielo espero que cada día se sienta más orgullosa de la mujer en la que me he convertido.

A mis tutoras quienes desde el pregrado creyeron en mí y me acompañaron con todo el profesionalismo para culminar este camino de la maestría, pero a su vez tuvieron la constancia necesaria para entender cada uno de mis procesos y me apoyaron a lo largo de estos 2 años. Gracias a ellas que me han formado desde que empecé este camino me he convertido en la profesional que soy hoy día

A mi pequeña familia en Ouro Preto (Marialaura, Brandon y Emiliano) quienes estuvieron a mi lado apoyando cada uno de los momentos de mi escritura y análisis y no dudaron ni un segundo en mis capacidades pese a que yo lo dudé.

A mis amigos que han estado a mi lado durante este proceso apoyando e impulsando cada uno desde lo que podía para que lograra mi objetivo.

A los auxiliares del laboratorio 228 de la Escuela de microbiología quienes se revistieron de paciencia conmigo y me ayudaron en el desarrollo metodológico de este proyecto.

RESUMEN

El colorante azoico Rojo 40 (R40) es uno de los más utilizados en la industria textil y alimentaria, las cuales generan residuos coloreados que ocasionan efectos ecotoxicológicos negativos, de ahí la importancia de su adecuada disposición o tratamiento. De forma general el tratamiento de las aguas residuales coloreadas se basa en el empleo de métodos físicos (adsorción) y químicos (oxidación), que implican en la mayoría de los casos altos costos de inversión en equipos, y no siempre son efectivos para la remoción del colorante. En este trabajo se evaluó el empleo de una estrategia biológica para la transformación del colorante azo R40 en un biorreactor estático de 6L. Las cepas de hongos evaluadas se obtuvieron a partir de un proceso de bioprospección en el cual se recolectaron un total de 7 cepas de hongos de la podredumbre blanca (HPB). El potencial para transformar o degradar el colorante se determinó en medios sólidos y líquidos, para los cuales se optimizaron las condiciones de cultivo. Asimismo, se determinó la producción de las enzimas extracelulares (Manganeso peroxidasa y Lacasa). El efluente tratado se analizó por resonancia magnética nuclear (RMN) para establecer la transformación y/o degradación del colorante, y adicionalmente se realizó un ensayo de fitotoxicidad para evaluar el grado de toxicidad del efluente postratamiento. De las 7 cepas de géneros de HPB aislados, se escogió el género *Lentinus* sp., el cual presentó el mayor porcentaje de decoloración durante los ensayos. En el tratamiento final en reactor de 6L se alcanzó una degradación de 52% en 12 días partiendo de una concentración inicial de 80 mg/L de colorante y se detectó una alta concentración de la enzima manganeso peroxidasa (120,9 U.min/L) que coincide con el inicio del proceso de degradación de la molécula. Asimismo, el efluente muestra una reducción de la toxicidad en un 75%. Los datos obtenidos por RMN sugieren la degradación de la molécula del colorante R40 al evidenciar la pérdida de la aromaticidad de la molécula parental.

Palabras clave: Aguas residuales, azo, colorantes, hongos de la podredumbre blanca, industria textil, *Lentinus* sp., Rojo 40.

ABSTRACT

The azoic dye Red 40 (R40) is widely used in textile and food industries, releasing R40- contaminated effluents into water bodies with demonstrated ecotoxicological effects, highlighting the importance of proper disposal or treatment. Typically, treatment of colored wastewater involves physical methods (adsorption, filtration) and chemical methods (oxidation, coagulation), which often incur high equipment costs and may not be highly effective in dye removal. This study evaluates a biological strategy for R40 dye removal in a 6L bioreactor. Fungal strains were obtained through bioprospecting, yielding 7 white rot fungi strains. Their potential for dye transformation/degradation was assessed in solid and liquid media, with optimized cultivation conditions. Extracellular enzyme production (Manganese peroxidase and Laccase) was determined. The treated effluent was analyzed using nuclear magnetic resonance (NMR) to determine dye transformation/degradation, and a phytotoxicity assay evaluated post-treatment effluent toxicity. *Lentinus* sp., was chosen from the 7 isolated white rot fungi strains for its high decolorization percentages during assays. In static bioreactor (6L) treatment, 52% degradation was achieved over 12 days from an initial concentration of 80 mg/L of dye, with manganese peroxidase enzyme concentration of 120.9 U.min/L at the beginning of degradation process, and effluent toxicity reduced by 75%. RMN data suggests R40 degradation processes by white rot fungi, due to the loss of aromaticity of the parental molecule. These results highlight a potential way to remove harmful molecules from the environment.

Keywords: Azo, dyes, *Lentinus* sp., Textile industries, wastewater, white rot fungus, Red 40.

CONTENIDO

La contaminación de los cuerpos de agua causada por vertimientos no controlados de aguas residuales industriales contaminadas con colorantes es un problema latente en la actualidad a nivel mundial y local; que genera consecuencias adversas para el ecosistema acuático y a su vez constituye un riesgo para la salud humana y animal. Con el interés de mitigar este efecto negativo, se han implementado tratamientos físicos y químicos para la remoción de los colorantes en las aguas residuales con efectos colaterales como la generación de moléculas químicas, en algunos casos más tóxicas, o la producción de residuos adicionales que requieren una disposición adicional; siendo finalmente una opción costosa y poco efectiva para su aplicación. En la búsqueda de soluciones para hacer frente a esta problemática, los tratamientos biológicos surgen como una alternativa prometedora para la remoción de este tipo de contaminantes. En esta línea, los hongos de la podredumbre blanca (HPB), han mostrado tener el potencial metabólico adecuado para aplicarse en procesos biotecnológicos, orientados a la recuperación de matrices ambientales contaminadas.

En este contexto, el presente trabajo se propuso evaluar la decoloración del colorante azo Rojo 40 (R40) en aguas residuales provenientes de una industria textil, a partir de la evaluación de cepas nativas de hongos de la podredumbre blanca colectados en la ciudad de Medellín. El proceso de decoloración se llevó a cabo en un biorreactor operado en lote sin agitación y fermentación sumergida, planteando los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar el proceso de decoloración del agua residual coloreada con Rojo 40 utilizando cepas nativas de HPB en sistemas de operación en lote, empleando espectrofotometría UV/vis para la determinación de la desaparición de colorante.
2. Detectar los metabolitos intermediarios producto de la decoloración de Rojo 40 realizada por cepas nativas de HPB, utilizando resonancia magnética nuclear.
3. Determinar el nivel de toxicidad del efluente resultante del tratamiento en el biorreactor utilizando ensayos de fitotoxicidad.

El desarrollo metodológico y los resultados obtenidos se consignan en los siguientes productos:

Estado del arte: En el cual se abordan las generalidades de los colorantes azo frecuentemente utilizados en la industria textil, el panorama actual de las aguas residuales coloreadas liberadas por esta industria y los esfuerzos realizados para mitigar el impacto a través de la implementación de diferentes estrategias de tratamiento de estas aguas. Asimismo, la necesidad de explorar alternativas biotecnológicas que aprovechan el metabolismo microbiano para la remoción de compuestos colorados en aguas residuales; haciendo énfasis en los procesos de micorremediación. Esta revisión permitió detectar identificar aspectos críticos que deben tenerse en cuenta para el desarrollo e implementación de tratamientos de aguas residuales coloreadas utilizando HPB.

Bioprospección de HPB y evaluación del potencial de decoloración: En esta etapa se realizó la búsqueda en campo de cepas nativas de HPB y se evaluó su potencial metabólico para la decoloración y remoción de R40, asimismo, se evaluaron las condiciones óptimas para el establecimiento del tratamiento de este tipo de colorante en un biorreactor.

Evaluación de la remoción y decoloración de R40 en un biorreactor estático: Por último, se evaluó el tratamiento del agua residual coloreada en un biorreactor estático bajo las condiciones estandarizadas para el cultivo del HPB. El proceso se realizó en un biorreactor de 6 L en cultivo sumergido inoculado

con el hongo *Lentinus* sp. La eficacia del tratamiento se determinó por la reducción en la concentración del colorante R40, adicionalmente, se tuvo en cuenta el porcentaje de remoción de materia orgánica en el sistema medida en términos de demanda química de oxígeno (DQO), se detectaron los posibles subproductos generados durante el tratamiento biológico, y el nivel de toxicidad del efluente final.

Los resultados encontrados evidencian el potencial metabólico que tienen los HPB, particularmente el género *Lentinus* sp., como alternativa promisoría para el desarrollo de estrategias biotecnológicas a gran escala en el manejo de descargas industriales coloreadas.

Listado de gráficos.

Gráfico 1. Contaminación del agua generada por vertimientos de la industria textil a nivel mundial	10
Gráfico 2. Gráfico de cajas y bigotes efecto de las condiciones de tratamiento	36
Gráfico 3. Cinética de decoloración de R40 mediada por <i>Lentinus</i> sp., a diferentes concentraciones iniciales	37
Gráfico 4. Cinética de decoloración de R40 mediada por <i>Phanerochaete</i> sp., a diferentes concentraciones iniciales	38
Gráfico 5. Gráfico de cajas y bigotes referente a la eficiencia de los hongos <i>Lentinus</i> sp., y <i>Phanerochaete</i> sp., en la decoloración de R40.	39
Gráfico 6. Espectro ultravioleta/visible de los tratamientos de R40 mediado por <i>Lentinus</i> sp.	40
Gráfico 7. Cinética de decoloración de R40 mediada por <i>Lentinus</i> sp. partiendo de la concentración inicial de 80 mg/L.....	50

Listado de figuras.

Figura 1. Clasificación de colorantes sintéticos según su estructura química	11
Figura 2. Problemas ecotoxicológicos y a la salud humana causados por la liberación de colorantes azo en efluentes de agua residual industrial	13
Figura 3. Recopilación de los principales factores que afectan los tratamientos mediados por HPB.	19
Figura 4. Ruta de transformación propuesta para la degradación de naranja disperso 3 por <i>P.ostreatus</i>	20
Figura 5. Ruta de transformación propuesta para la transformación de rojo Congo mediada por <i>Trametes pubescens</i>	21
Figura 6. Ruta de transformación propuesta para la biotransformación de colorantes azo mediada por <i>Trametes hirsuta</i>	21
Figura 7. Esquema del diseño del biorreactor estático utilizado para la remoción de R40.	47
Figura 8. Espectro NMR-1H para el colorante R40	53
Figura 9. Espectro NMR-1H para el tratamiento de un efluente coloreado con R40. mediado por <i>Lentinus</i> sp.	53
Figura 10. Esquema de biotransformación de la molécula de colorante rojo 40	54

Listado de Imágenes.

Imagen 1. Biorreactores utilizados para el tratamiento del efluente contaminado con R40.....	49
---	----

Listado de tablas.

Tabla 1. Características y estructura química de los colorantes azo de mayor consumo en la industria textil a nivel mundial	12
Tabla 2. Antecedentes reportados a partir del año 2005 para la aplicación de especies de hongos para la remoción de colorantes tipo azo en solución acuosa, utilizados en la industria textil	16
Tabla 3. Uso de reactores con biomasa fúngica de HPB para la remoción de colorantes tipo azo aplicados en la industria textil	18
Tabla 4. Evaluación del potencial de decoloración de R40 (100 mg/L) en medio de cultivo sólido mediada por los HPB colectados durante el proceso de bioprospección	33
Tabla 5. Evaluación del potencial de decoloración de R40 (100 mg/L) en medio de cultivo líquido mediada por los HPB colectados durante el proceso de bioprospección.....	34
Tabla 6. Resultados de toxicidad del efluente.....	51

Estado del arte: Decoloración biológica de colorantes azo provenientes de la industria textil

Las aguas residuales industriales son una de las principales fuentes de contaminación para el medio ambiente, especialmente para el suelo y los cuerpos de agua natural. Esto se debe a que diversos sectores industriales emplean colorantes sintéticos en sus procesos, resultando en la descarga de aguas residuales coloreadas. La presencia de moléculas colorantes en el ambiente tiene impactos tanto en los ecosistemas como en la salud humana. Por lo tanto, es crucial aplicar tratamientos adecuados a estas aguas antes de su liberación al ambiente (Mokif 2019; Yusuf et al. 2019). Los colorantes sintéticos contienen en su estructura moléculas complejas, haciéndolos más estables y menos biodegradables (Ahmadian, M et al. 2023); contribuyendo así a la contaminación masiva del ambiente por causa de los vertidos industriales del sector farmacéutico, textil, alimentario, papelerero y cosmético; teniendo un mayor impacto la industria papelerera y textil por su elevado consumo de colorantes en los procesos de teñido (Nachiyar et al. 2023; Fideles et al., 2024).

Los colorantes azoicos son los más empleados en la industria textil con un porcentaje de uso entre 50 % y el 70 %. Estas moléculas se producen a partir de la diazotización de aminas aromáticas primarias, seguido del acoplamiento con compuestos nucleófilos como aminoácidos e hidroxácidos, formando así el grupo más extenso de colorantes sintéticos (Nachiyar et al. 2023). Como resultado de su aplicación, entre el 15 % y el 50 % de estos colorantes no se adhieren a fibras y tejidos durante los procesos de teñido y son vertidos directamente a las aguas residuales. Estos colorantes son particularmente problemáticos debido a su baja tasa de remoción mediante tratamientos físicos y químicos, resistencia a los métodos de tratamiento biológico mediado por bacterias y su propensión a generar subproductos tóxicos durante procesos de oxidación, hidrólisis y otras reacciones químicas que tienen lugar en matrices complejas como lo son las aguas residuales (Dutta et al. 2024; Shahamat et al. 2022).

Los hongos de la podredumbre blanca (HPB) revisten gran interés biotecnológico por su versatilidad para metabolizar diferentes compuestos complejos, entre los que se cuentan los colorantes azo clasificados como altamente recalcitrantes (Herath et al. 2024; Senthil et al. 2022; Sen et al. 2016). En este contexto, el presente trabajo de revisión aborda las generalidades sobre las implicaciones del tratamiento de los colorantes azo utilizando hongos de la podredumbre blanca como agentes para la biorremediación.

La industria textil y el uso de colorantes.

La industria textil es uno de los principales contribuyentes a la economía global (Al-Tohamy et al. 2022) y a su vez, esta industria es la segunda mayor contribuyente de descargas de aguas residuales coloreadas a nivel mundial generando serias amenazas al ambiente (Mani et al. 2018). Anualmente la industria textil utiliza 10.000 toneladas de colorantes de las 7x10⁷ toneladas producidas a nivel mundial en diferentes etapas de su cadena productiva (Al-Tohamy et al. 2022). Países del medio oriente como Bangladesh e India son considerados potencia mundial en la industria textil (Slama et al. 2021). En Bangladesh, por ejemplo, se proyectó para el año 2021 un incremento en la contaminación generada por efluentes de la industria textil del 50 % respecto al año 2011. Sin embargo, de ser implementados métodos de tratamiento se reduciría la contaminación generada por los efluentes textiles en un 22 %; A pesar de esto, los métodos físicos y químicos disponibles tienen un elevado costo y no son de fácil adquisición para las industrias de este tipo (Hossain et al. 2018). En el gráfico 1, se muestran los países con mayor contaminación causada por vertimientos de agua residual de la industria textil, el principal país a nivel mundial es Turquía con un 32.8 % y a nivel de américa latina México con un 16.9 % (ONU, 2015).



Gráfico 1. Contaminación del agua generada por vertimientos de la industria textil a nivel mundial. Fuente: ONU, 2015. Elaboración propia.

En Colombia, la industria textil es importante para la economía, generando cerca del 28 % de los empleos a nivel nacional siendo Medellín el principal centro de producción textil del (Zuleta 2013), No obstante, la industria textil a su vez representa una de las mayores fuentes de contaminación, puesto que las etapas de su proceso productivo implican un elevado consumo de agua y energía, generando además vertimientos contaminados a los efluentes hídricos (Holguín et al. 2017). Por lo anterior, la industria textil ha buscado diferentes alternativas para mitigar su impacto ambiental como los programas de ahorro y uso eficiente del agua, ahorro de energía y la implementación de los tratamientos disponibles para disminuir la carga contaminante de sus vertimientos (Shabbir et al. 2019). Sin embargo, la implementación de las tecnologías para el tratamiento de aguas residuales tiene un alto costo; y teniendo en cuenta que el 90.4 % de la industria textil son microempresas, sin capacidad económica para acceder a dichas tecnologías, se incrementa la limitante en hacer frente a deterioro ambiental que suscita. Los efluentes de la industria textil están clasificados entre los más contaminantes, pues además, de su composición química se requiere de un alto gasto de agua durante los procesos de teñido y estampado, lo que genera una elevada cantidad de aguas residuales coloreadas con una mezcla de compuestos orgánicos e inorgánicos, sales, ácidos, bases, compuestos organoclorados, fosfatos totales, sólidos disueltos, sólidos suspendidos y ocasionalmente metales pesados, las cuales en la mayoría de los casos son vertidas a los cuerpos de agua sin un tratamiento previo (Al-Tohamy et al. 2022).

Generalidades de los colorantes.

Los colorantes sintéticos son moléculas orgánicas cuya estructura molecular incluye compuestos carbonados y compuestos aromáticos (Dave et al. 2022). La característica colorante se debe a la presencia de un grupo cromóforo y la intensidad del color está dada por un grupo auxocromo, el cual, permite mejorar la fijación de los tintes a la matriz en donde son aplicados (Malik et al 2014; Herath et al. 2024). Según su estructura química y el grupo cromóforo que contienen, los colorantes sintéticos se clasifican como: Azo, Antraquinonas, Ftalocianinas, Sulfúricos y Nitro (Figura 1).

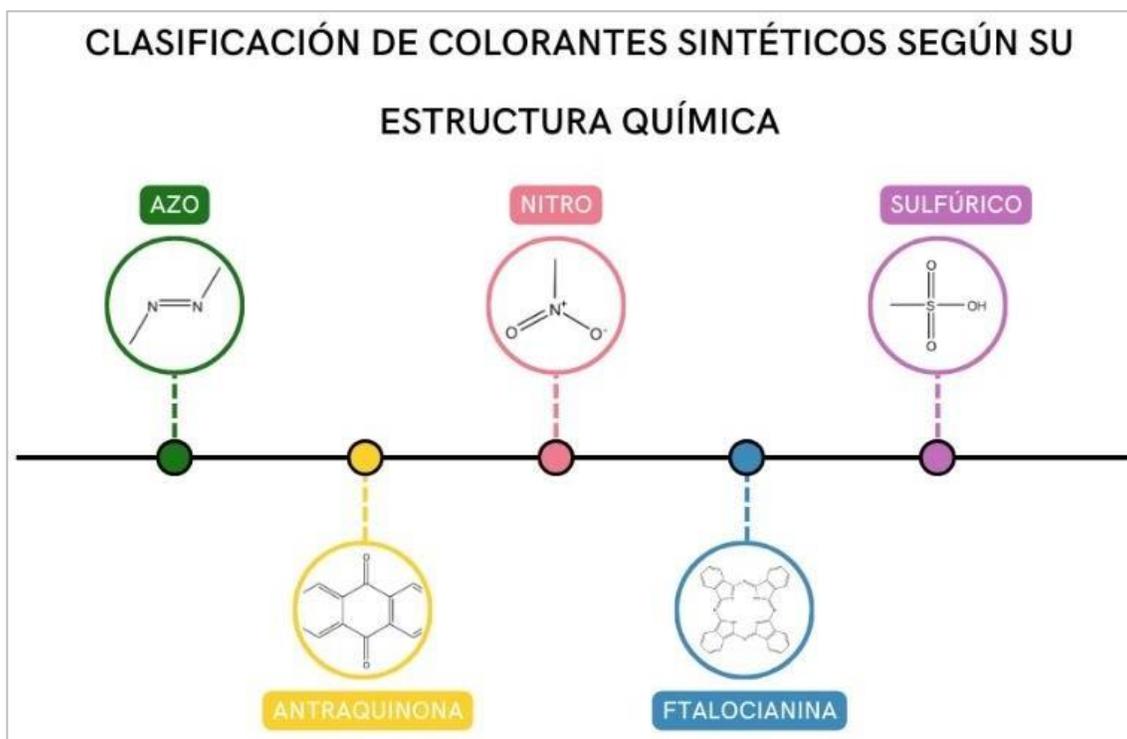
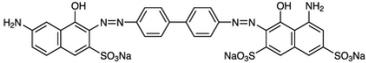
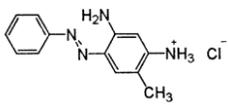
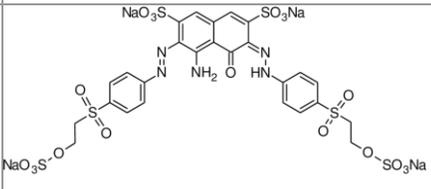
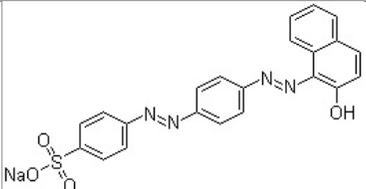
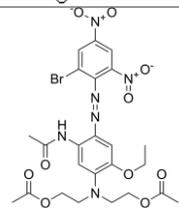
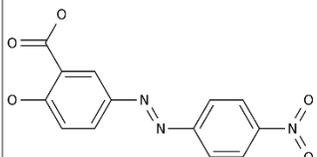
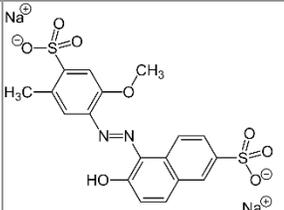


Figura 1. Clasificación de colorantes sintéticos según su estructura química, se incluye el enlace que forma el grupo cromóforo de cada clasificación. Elaboración propia.

Los colorantes sintéticos desempeñan un papel fundamental en diversas industrias debido a sus variadas propiedades y aplicaciones. Los colorantes azo, que constituyen más del 50% de los colorantes sintéticos, son ampliamente utilizados en las industrias textil, alimentaria y cosmética por su capacidad para producir colores brillantes y duraderos (Rafatullah et al. 2021; Yaseen et al. 2019). Por otro lado, los colorantes nitro, aunque menos comunes, se aplican en la industria de tintas, cueros y plásticos debido a su notable estabilidad térmica y química (Ali et al. 2022; Verma et al. 2020). Los colorantes sulfúricos, caracterizados por sus grupos sulfonatos que mejoran su solubilidad en agua, son usados en el teñido de fibras oscuras en la industria textil, ofreciendo colores intensos (Pal et al. 2023; Mohan et al. 2020). Asimismo, los colorantes de tipo antraquinona son valorados en las industrias textil, papelera y de productos de cuidado personal por su resistencia a la luz y al lavado, proporcionando colores fuertes y de larga duración (Kumar et al. 2022; López et al. 2020). Finalmente, los colorantes ftalocianina, conocidos por sus tonos azules y verdes intensos, se utilizan en textiles, pinturas, tintas y plásticos gracias a su alta estabilidad y resistencia química (Wong et al. 2020; Afreen et al. 2021). Como es evidente, la aplicación de los colorantes químicos representa una parte importante del proceso productivo de una amplia variedad de artículos de origen industrial, la principal ventaja de aplicar estos compuestos se ve representada por su bajo costo y fácil utilización, sin embargo, se destaca que los colorantes suelen ser altamente recalcitrantes en el medio ambiente, además de ser los causantes de una variedad de alteraciones debido a sus estructuras moleculares altamente complejas (Affat et al. 2021).

Particularmente, los colorantes azo o azoicos son los colorantes más usados en la industria textil, representando más del 60 % de los diversos tipos de colorantes aplicados (Al-Tohamy et al., 2022). El grupo azo se divide en subcategorías: monoazo, diazo y triazo, basándose en el número de enlaces dobles nitrógeno-nitrógeno que se encuentran ligados a un grupo aromático; y dependiendo de su pH pueden subdividirse en catiónicos, aniónicos o no iónicos. La tabla 1 resume los colorantes de tipo azo con mayor aplicabilidad en la industria textil.

Tabla 1. Características y estructura química de los colorantes azo de mayor consumo en la industria textil a nivel mundial. Adaptado de Martínez-Berra et al. 2018.

Colorante	Característica	Estructura química
Diazo rojo ácido 151	Compuesto orgánico aniónico capaz de tener interacciones de carga con el sustrato como la fibra de lana o seda.	
Naranja básico 1	Colorante catiónico que lleva carga positiva en la porción cromófora de la molécula, utilizado para teñir fibras de poliéster.	
Negro reactivo 5	Colorante aniónico con varios grupos sulfónicos, muy soluble en agua.	
Azul disperso 79	Colorante aniónico insoluble en agua, empleado en formas de dispersiones acuosas para teñir fibras sintéticas hidrófobas.	
Amarillo mordente 1 metalizado	Tiene una estructura con una sola ligadura de azo. Colorante estable que no se desmetaliza fácilmente.	
Azul directo 2	Colorante aniónico que se aplica en solución acuosa que contenga electrolito para realizar el teñido de la fibra.	
Rojo 40 o rojo Allura	Colorante derivado del petróleo, compuesto por un grupo azo y varios grupos sulfonato. Soluble en agua. Aplicable en industria textil y alimentaria.	

En la industria textil, durante el proceso de teñido, algunos colorantes no se fijan completamente a las fibras, lo que causa que los efluentes sin tratar contengan restos de estos productos químicos difíciles de eliminar mediante métodos convencionales debido a su alta capacidad de disolverse en agua (Nachiyar et al. 2023). Los métodos de tratamiento biológico convencionales (lodos activados, lagunas de estabilización) no son generalmente efectivos contra los colorantes del tipo azo, afectando la actividad microbiana de este tipo de procesos; por esto se ha hecho necesario evaluar

microorganismos con actividad degradadora ante colorantes azoicos para fortalecer estos tratamientos (Caicedo-Montoya et al., 2018).

En la figura 2, se enlistan los problemas ecológicos derivados de la descarga de colorantes azoicos en cuerpos de agua, estos incluyen efectos adversos como deterioro paisajístico afectando el color y olor de las aguas naturales, disminución de la calidad del agua, aumentando los niveles de demanda química y demanda biológica de oxígeno a su vez disminuyendo la concentración de oxígeno disuelto (Kapoor et al. 2021). Asimismo, la alteración en el color del agua puede tener como consecuencia el bloqueo de luz solar en la columna de agua, desencadenando la disminución de la actividad biológica de los organismos acuáticos que habitan el sitio afectado, llevando consigo la disminución de la tasa fotosintética y biodiversidad (Alzain et al. 2023). La problemática se ve agravada si se considera la naturaleza recalcitrante de las moléculas de colorante azo que favorece la bioacumulación de estos en la fauna acuática en general (Al-Tohamy et al., 2022). El consumo de animales acuáticos contaminados con colorantes es causante indirecto de afectaciones a la salud humana generando fiebre, hipertensión, alergias, disrupción del sistema endocrino y nervioso y alteraciones mutagénicas (Zaruma-Arias et al. 2018).



Figura 2. Problemas ecotoxicológicos y a la salud humana causados por la liberación de colorantes azo en efluentes de agua residual industrial. Adaptado de Saharan et al. 2023.

De los colorantes azo el Rojo 40 o Rojo Allura es uno de los más utilizados en la industria textil y alimentaria a nivel mundial, debido a su capacidad para otorgar una coloración rojo brillante a los productos donde es aplicado y presenta características como una alta fijación y estabilidad a cambios de temperatura y pH (Mostacero et al. 2020; Tadesse et al. 2020). En la industria, este colorante es liberado a través de los efluentes finales del proceso productivo generando preocupaciones

ambientales puesto que al ser descargado en los cuerpos de agua sin un tratamiento adecuado puede alterar la calidad del agua, generando eutrofización y es tóxico para los organismos acuáticos (Li et al. 2020). Además, se ha reportado que la exposición de humanos a este colorante puede causar posibles alergias, mutaciones en el ADN y efectos neurológicos negativos (como hiperactividad) en niños (Stevens et al. 2021; Hofseth 2024). Por la naturaleza química de este colorante los tratamientos físicos y químicos convencionales, no son completamente efectivos para removerlo de los efluentes industriales, por lo cual se ha hecho necesario la búsqueda de nuevas estrategias para su tratamiento, dentro de las cuales se incluye la biorremediación, no obstante, estos procesos aún están en desarrollo y no han sido ampliamente adoptados a nivel industrial, por lo cual es necesario profundizar en este tipo de tratamientos para mitigar el impacto negativo de estos compuestos.

En general, los métodos físicos de remoción de colorantes son los más sencillos y funcionan bajo el principio de transferencia de masa, siendo estos los más aplicados en el tratamiento de aguas contaminadas con colorantes, los más comunes incluyen la adsorción, la filtración y la coagulación (Nachiyar et al. 2023).

La adsorción es un método económico y altamente sensible, además de ser la estrategia aplicada por excelencia para la remoción de colorantes de aguas residuales textiles. La principal ventaja del proceso es que el adsorbente puede ser regenerado utilizando vapores para su limpieza lo que permite usarlo múltiples ocasiones, sin embargo, requiere la disposición final de adsorbente luego de su uso en la remoción de color (Nachiyar et al. 2023; Hossen et al. 2022). El adsorbente comúnmente empleado es el carbón activado con un rango de adsorción de colorantes entre el 70-96 % (Wang et al. 2017). Otras opciones de materiales adsorbentes incluyen el quitosano y fosfato de calcio con niveles de remoción de colorantes hasta del 90 % (Boujaady et al. 2014). En la actualidad, se han desarrollado métodos de adsorción de colorantes basados en materiales biológicos especialmente residuos agroindustriales y fibras naturales (Senol et al. 2024). En el estudio conducido por Kelm et al. (2019), se utilizó biochar producido a partir de residuos de madera para la remoción del colorante azo negro inosol (50 mg/L) obteniendo 99 % de remoción en 3 h. Asimismo, se empleó biochar de cáscara de arveja para la remoción del colorante azo naranja ácido 7 alcanzando porcentajes de remoción de 99 % en 120 min (El-Nemr et al. 2020).

La filtración por membrana tiene alta aplicabilidad en cuestión de remoción de colorantes de muestras de aguas, este proceso consiste en pasar el agua coloreada por una membrana porosa la cual retiene el color, generando una “torta” de material filtrado que debe ser tratada posteriormente (Barrios et al. 2015). Membranas de quitosano también han sido evaluadas en procesos de ultrafiltración para remover el colorante naranja de metilo, alcanzando una remoción del 86 % (Ben et al. 2020). Recientemente se ha reportado también la nanofiltración por membrana en la remoción del colorante azo naranja de metilo en aguas coloreadas, con una eficiencia de 94.2 % (Jawaduddin et al. 2024). No obstante, pese a que el proceso de filtración es altamente eficiente y sostenible, tiene una desventaja es la dificultad para remover el material particulado del sistema y la necesidad de cambiar frecuentemente las membranas, lo que incrementa los costos de implementación (Bal et al. 2022; Gholami 2019).

Otras técnicas aplicadas para tal fin son los procesos de floculación y coagulación, siendo estos los métodos más simples y convencionales. En ambos casos se adicionan agentes químicos para la agregación de las moléculas de color y, posteriormente, sedimentación del material compactado (Slama et al. 2021). Estas técnicas han sido utilizadas en la remoción de colorantes azo como el naranja II y verde lisamina B, en este caso de estudio particular, la coagulación se llevó a cabo adicionando cloruro de hierro y ferrato de potasio como agentes químicos para favorecer el proceso de remoción, alcanzando una eficiencia del 100 %; para garantizar este porcentaje de eficiencia durante el estudio fue necesario mantener la muestra en pH ácido (pH=3.0) (Jargalsaikhan et al. 2021). Las principales desventajas en la aplicación de estas técnicas están relacionadas con la

necesidad de disponer los sedimentos y de la materia orgánica al finalizar el tratamiento, y la cantidad de agentes químicos que se requieren para alcanzar una buena eficiencia del proceso y para neutralizar la muestras después del tratamiento (Luo et al. 2019; Liu et al. 2022). En general, la limitante de los tratamientos físicos está en que estos no conllevan la transformación o degradación de la molécula colorante, solo su retención o concentración en un matriz inerte, por lo tanto, el problema ambiental persiste (Chaturvedi et al. 2021).

En cuanto a los procesos químicos utilizados para la remoción de colorantes y pigmentos presentes en aguas residuales, se destacan los sistemas de oxidación avanzada que comprenden reacción Fenton, ozonización y electrocoagulación (Barrios et al. 2015; Zaruma et al. 2018). En su mayoría los procesos de oxidación avanzada consisten en oxidaciones provocadas por cambios fisicoquímicos en el sistema, para lograr la mineralización de los compuestos recalcitrantes. El estudio conducido por Khan et al., (2018) consistió en la realización del proceso de oxidación Fenton para la degradación de amarillo ácido 17 alcanzando porcentajes de remoción del 100 %, sin embargo, la ejecución del proceso debía realizarse bajo un pH ácido (pH=3.0) requiriendo necesariamente la adición de productos químicos para neutralizar el pH del efluente a verter, la oxidación con ozono también ha sido empleada para la eliminación del colorante azoico rojo 60 este proceso se realizó a pH de 7.5 e irradiación UV, el colorante se removió en un 100 % en un tiempo de 60 min (Shahamat et al. 2022). Pese a las altas tasas de remoción, estos procesos químicos tienen un gran requerimiento energético, lo que se traduce en altos costos para su implementación, además del uso excesivo de reactivos químicos y la gran cantidad de residuos producidos que deben ser igualmente tratados una vez termine el proceso de remoción (Zaruma et al. 2018; Nachiyar 2023), haciendo que la aplicación de este tipo de sistemas a nivel industrial sea compleja. Con este panorama, es necesario explorar el desarrollo de otras tecnologías que eviten la generación de productos secundarios contaminados derivados del tratamiento, y asimismo sean costo efectivas para su aplicación.

El tratamiento biológico de efluentes se considera una opción ideal y alterna a los métodos físicos y químicos mencionados, especialmente para compuestos recalcitrantes ya que puede aplicarse en condiciones de alta salinidad, pH y temperatura variable (Bayer et al., 2014). Las bacterias son consideradas organismos de alta importancia para los procesos de biodegradación y decoloración debido a su versatilidad metabólica. Los géneros *Bacillus* sp., y *Shigella* sp., se han reportado como biodegradadores de colorantes azoicos como el rojo ácido 4R (decoloración del 95 %) y azul ácido 113 (decoloración del 96 ± 4 %). La capacidad de degradar colorantes azo de las bacterias está dada principalmente por la producción de enzimas azoreductoras, capaces de transformar los colorantes azo en compuestos más simples. Un ejemplo de esto se puede observar en el estudio conducido por Sivasubramani et al. (2021), donde se evaluó el potencial para degradar azul reactivo 194 utilizando una cepa de *Bacillus megaterium*. Durante la experimentación, los autores lograron determinar la correlación entre las enzimas azoreductasa producidas por el microorganismo y la desaparición del colorante, demostrando que la tasa de decoloración incrementaba con el aumento en la actividad de la enzima azoreductasa, en este estudio el % de decoloración alcanzado fue de 92.3 % en 144 horas, corroborando la utilidad de las bacterias para la implementación de procesos de tratamiento biológico para la remoción de colorantes.

La efectividad del proceso de remoción de colorantes se incrementa con la versatilidad y sinergismo metabólico que exhiben los consorcios microbianos (Shi et al., 2021). No obstante, los métodos biotecnológicos que emplean bacterias presentan baja eficiencia en la remoción y decoloración; sin embargo, en los últimos años ha incrementado el empleo de hongos de la podredumbre blanca (HPB), como alternativa para degradar una amplia gama de compuestos con una alta eficiencia incluidos los colorantes azo (Chakraborty et al., 2013; Bogale et al. 2020; Latif et al. 2023).

Los hongos por su parte juegan un papel crucial en la degradación de moléculas complejas y de alto

peso molecular en la naturaleza, por tanto, constituyen una alternativa eficiente para transformar e incluso en algunos casos mineralizar compuestos que pueden ser tóxicos, recalcitrantes y difíciles de degradar como los colorantes azo (Al-Tohamy et al. 2022; Hadibarata et al. 2011). La principal ventaja que poseen estos microorganismos es su versatilidad metabólica y la producción de enzimas extracelulares no específicas: lacasa (Lac), lignino peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP), que oxidan los enlaces de los contaminantes orgánicos como los colorantes azo (Caidedo-Montoya et al. 2015; Singh et al. 2020).

El mecanismo enzimático de las enzimas extracelulares inicia con la ruptura del enlace azo mediante reacciones de oxidación, perdiendo así el grupo cromóforo que se encuentra a través de este enlace. La principal diferencia entre la enzima Lac en comparación con las MnP y LiP, es que la primera sólo tiene capacidad de realizar el rompimiento del enlace azo cuando el colorante presenta en su estructura anillos aromáticos, en contraste los colorantes con estructuras no aromáticas son transformado principalmente por las enzimas LiP y MnP (Singh et al. 2020). *Phanerochaete chrysosporium* ha sido el organismo modelo para evaluar la actividad decolorante de los HPB, al ser el primero en el cual fue descrita la actividad de las exoenzimas mencionadas (Villar-Gutiérrez et al. 2008). La capacidad de este hongo para remover moléculas se ha evaluado utilizando diferentes colorantes azo como rojo directo 80 y azul mordiente 9 a una concentración de 100 mg/L, las eficiencias de remoción fue del 94 % en un lapso de 144 horas para ambos colorantes (Pakshirajan et al.2010). Para el caso del colorante azoico negro amido 10, se obtuvo un porcentaje de decoloración del 98 %, de una concentración inicial 20 % g/g (Senthilkumar et al.2014). Además del género *Phanerochaete* sp., se ha explorado la capacidad de otros géneros de la podredumbre blanca para la biorremediación de colorantes azoicos en aguas residuales. En la tabla 2, se consignan algunos estudios que han empleado hongos para la eliminación de colorantes tipo azo aplicados en la industria textil.

Tabla 2. Antecedentes reportados a partir del año 2005 para la aplicación de especies de hongos para la remoción de colorantes tipo azo en solución acuosa, utilizados en la industria textil. Elaboración propia.

Referencia	Hongo utilizado	Colorantes azo	Porcentaje y tiempo de remoción
Gomez et al. 2005	<i>Corioloopsis rígida</i>	Naranja de metilo	80 % en 1 día
Shanmungan et al. 2005	<i>Pleurotus florida</i>	Azul reactivo (0.5 %) Amarillo reactivo (0.5%)	80 % en 3 días 50 % en 3 días
Selvam et al. 2012	<i>Schizophyllum comune</i> <i>Lenzites eximia</i>	Rojo congo	96.86 % en 4 días 95.50 % en 4 días
Chakraborty et al. 2013	<i>Alternaria alternata</i>	Rojo congo (800 mg/L)	78 % en 2 días
Yemendzhieva et al. 2014	<i>Trametes versicolor</i>	Azul reactivo (125 mg/L)	90 % en 1 semana
Holguín et al. 2017	<i>Bjerkandera adjusta</i>	Azul reactivo	30 % en 1 mes
Wang et al. 2017	<i>Ceriporia lacerata</i>	Rojo congo (0.1 mg/mL)	94 % en 2 días

Prystaz et al. 2018	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Verde brillante	100 % en 24 horas
Tavares et al. 2020	<i>Lentinus crinitus</i>	Azul reactivo (1mg/mL) 220	90 % en 10 días
		Negro reactivo (1mg/mL) 5	94 % en 10 días
Bayburt et al. 2020	<i>Lentinus arcularius</i>	Amaranto (0.1%)	20 % en 1 día
		Negro remazol (0.1%)	8 % en 1 día

La información existente evidencia el potencial que tienen los hongos, en particular los HPB como una alternativa para la remoción de colorantes azo de aguas residuales. Es crucial continuar con los estudios que permitan identificar nuevas cepas, evaluar su potencial metabólico, optimizar los procesos descritos y desarrollar tecnologías aplicadas que puedan servir de herramientas para gestionar aguas residuales coloreadas como las de la actividad económica de la industria textil. Existen diversidad de técnicas para la implementación de procesos de biorremediación de colorantes azo mediados por HPB, la más destacada, es el uso de biorreactores ya que con estos se provee un sistema propicio para el crecimiento y actividad de los microorganismos y, por ende, mejora la eficiencia del proceso. En estos sistemas, la actividad metabólica de los microorganismos puede ser optimizada con la adición de fuentes de carbono y energía secundarias, aireación, agitación y temperatura, las cuales pueden acelerar la asimilación del colorante para su remoción. En la implementación de estos sistemas es necesario evaluar la influencia de factores como el modo de operación del reactor (batch, feedbatch o continuo), además de variables como la temperatura del medio, el pH, la concentración inicial de colorante, además de la presencia de oxígeno en el sistema. Los biorreactores aplicados a cultivos de biomasa fúngica son diseñados en función del crecimiento micelial, lo que ha implicado el desarrollo de prototipos de tanque agitado, air-lift y lecho empacado, para este tipo de tratamientos (Hong et al. 2017).

Reactores de tanque agitado.

El sistema utilizado para tratamientos aerobios consiste en un tanque con suministro de aire desde la parte inferior, dispersado por una paleta de agitación mecánica y los baffles del reactor para asegurar la adecuada mezcla del sistema (Doran et al. 1998). Pese a su elevada implementación para tratamientos de aguas mediadas por biomasa fúngica, estos reactores pueden romper los pellets de biomasa formados, lo que genera un posible efecto adverso en la secreción del complejo enzimático extracelular degradador (Moreira et al. 2003). En la tabla 3. presenta una comparación de las eficiencias de remoción para el tratamiento de colorantes azo utilizando reactores de diferentes configuraciones.

Reactores air-lift.

En este sistema la agitación está dada por el flujo de aire que favorece el mantenimiento de la biomasa fúngica al interior del reactor, de esta manera se evita la fricción generada por la agitación mecánica, se garantiza la transferencia de oxígeno, y por tanto la producción de las enzimas extracelulares durante el tratamiento (Mir-Tutusaus et al. 2021). Adicionalmente, este sistema de biorreactor es de fácil manipulación y relativamente bajo costo (Espinosa et al. 2016).

Reactores de lecho empacado.

Este tipo de reactores permiten la inmovilización de la biomasa al interior del sistema aprovechando que los hongos tienen la capacidad de adherirse y colonizar diferentes tipos de materiales ricos en lignina y celulosa

como la madera de pino, *Luffa cylindrica*, esponjas de poliuretano, etc. (Mir-Tutusaus et al. 2021). La inmovilización de los HPB permite activar con mayor facilidad su maquinaria metabólica al favorecer la dispersión de las hifas filamentosas sobre la matriz inmovilizadora (Girijan et al. 2019), además protege la biomasa fúngica de los efectos tóxicos causado por la presencia de otros compuestos contaminantes (Moreira et al. 2003).

Tabla 3. Uso de reactores con biomasa fúngica de HPB para la remoción de colorantes tipo azo aplicados en la industria textil. Elaboración propia.

Referencia	Tipo de reactor/ modo de operación (m.o)	HPB	Concentración de colorante	Porcentaje y tiempo de remoción
Pazarlioğlu et al. 2005	Lecho empacado m.o: Lote	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Azul directo 15 20 mg/L	100 % 3 días
Couto et al. 2006	Airlift m.o: Continuo	<i>Trametes hirsuta</i>	Naranja de metilo 60 mg/L	81.4 % 3 días
Nilsson et al. 2006	Lecho empacado tambor rotatorio m.o: Continuo	<i>Trametes versicolor</i>	Azul reactivo 200 mg/L	70 % 30 días
Sodaneath et al. 2017	Airlift m.o: Lote	<i>Bjerkandera adjecta</i>	Rojo reactivo 120 (40 mg/L) Azul reactivo 62 (180 mg/L) Negro reactivo 5 (40 mg/L)	68 % en 68 h 97 % en 20 h 38 % en 68 h
Kalnake et al., 2023	Lecho empacado tambor rotatorio m.o: Continuo	Cultivo mixto (HPB)	Negro Reactivo 5 100 mg/L	85 % 25 días

El establecimiento adecuado del sistema para el proceso de tratamiento es un paso fundamental. Asimismo, la eficiencia en la remoción de los colorantes azo estará ligada a la definición adecuada las condiciones que afectan el proceso de decoloración incluyendo factores ambientales y nutricionales, pues estos son específicos para cada hongo y molécula a tratar (Herath et al.2024). Así, es necesario profundizar en el establecimiento de las condiciones para el crecimiento de diferentes cepas de hongos en el laboratorio como primer paso en el diseño de escalado (Barrios-Ziolo et al.2015)

Para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil contaminados con colorantes, diversos factores entran en juego al momento de hablar de la eficiencia de biodegradación y sus parámetros operacionales. Estos factores se dividen en tres categorías principales: ambientales, nutricionales y los referentes al colorante (Figura 3).

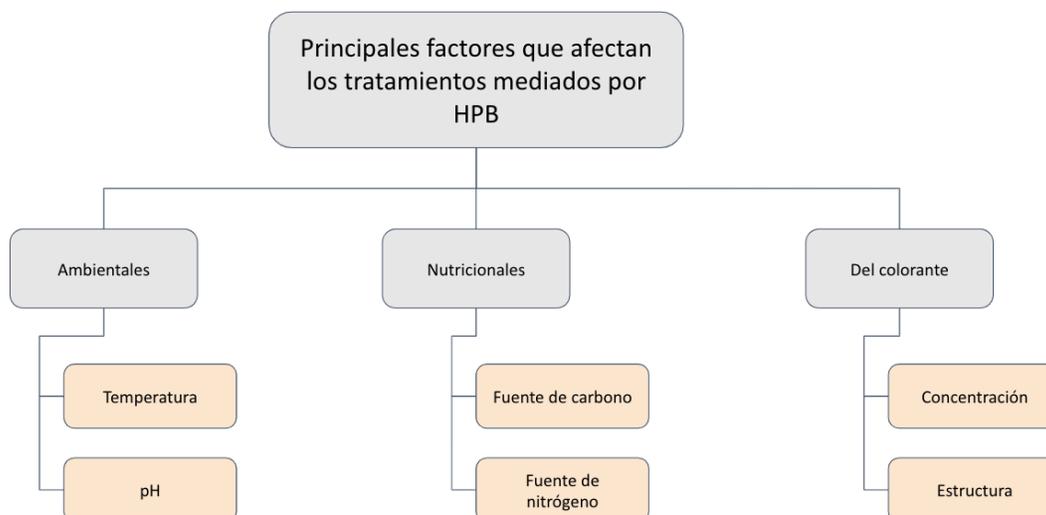


Figura 3. Recopilación de los principales factores que afectan los tratamientos mediados por HPB. Elaboración propia.

Temperatura.

La temperatura impacta directamente en la solubilidad y difusión de los compuestos en el medio acuoso; esta dependerá del colorante a tratar (Shi et al. 2016). Se ha reportado que la actividad enzimática de los HPB tiene un funcionamiento mayor a temperaturas entre 30 y 40 °C (Herath et al. 2024). Por tanto, hay que considerar la temperatura óptima para garantizar el crecimiento de la biomasa fúngica y aprovechar la maquinaria metabólica.

pH.

El pH es clave para desarrollar la actividad enzimática de los microorganismos, pero este varía según el género de HPB, por eso se reportan pH óptimos para los hongos en un rango de 3.0 a 8.0. (Herath et al. 2024). De igual manera, el pH afecta en el color otorgado por los colorantes es por esto que, a pH más ácidos, el color presenta mayor intensidad en las muestras de agua en comparación con valores de pH más cercanos a la neutralidad (Suciamith et al. 2019).

Fuente de carbono.

En general, la fuente de carbono más utilizada en procesos de biorremediación de colorantes azo mediados por HPB es la glucosa, esta molécula es de fácil asimilación para los hongos y favorece los procesos de degradación (Heath et.al 2024). No obstante, es posible mejorar la actividad metabólica de los HPB adicionando fuentes de carbono no convencionales como palillos de madera, aserrín, residuos agroindustriales, etc. Los cuales son comúnmente asimilados por este tipo de organismos (Shi et al. 2021; Kijpornyongpan et al. 2022).

Fuente de nitrógeno.

La fuente de nitrógeno afecta la actividad de las enzimas extracelulares no específicas secretadas por los HPB (Kijpornyongpan et al. 2022). Asimismo, la concentración de la fuente de nitrógeno puede actuar como un factor regulador de la actividad enzimática (Shi et al. 2021).

Concentración del colorante.

Altas concentraciones de colorante disminuyen la eficiencia del proceso de degradación. Se ha comprobado que las altas concentraciones de colorantes pueden causar posible inhibición del crecimiento de los HPB (Herath et al. 2024). Estudios donde se han evaluado los porcentajes de remoción de los colorantes azo utilizando HPB con variaciones en la concentración inicial de colorante, han demostrado que el porcentaje de remoción mayor se obtendrá con la concentración de colorante inicial más baja (Wang et al. 2017; Afiya et al.

2019). La disminución en los porcentajes de remoción se ha atribuido a la saturación de los sitios activos de las enzimas extracelulares a causa de la alta cantidad de colorante presente en el medio (Shi et al. 2021).

Estructura del colorante.

De manera general se describe que colorantes con pesos moleculares bajos y que presentan estructuras químicas simples muestran un porcentaje de decoloración más alto, en comparación con aquellos que son de peso molecular más altos y estructuras más complejas (Herath et al. 2024). Otro aspecto para tener en cuenta respecto a la eficiencia en biodegradabilidad, son las características de los grupos funcionales que se encuentran cerca a los enlaces azo de la molécula pues dependiendo de esto se puede hacer más complejo el proceso de degradación (Shi et al 2021; Sen et al. 2016).

Hasta ahora se ha descrito ampliamente la importancia de definir los requerimientos de los HPB para los procesos de remediación de colorantes azo, asimismo se tiene amplio conocimiento del rol de las enzimas ligninolíticas, sin embargo, son pocos los estudios que abordan el proceso de transformación de estas moléculas cuando son tratadas por este tipo de organismos.

El estudio conducido por Xueheng et al. 2006, donde se evaluó el potencial de *Pleurotus ostreatus* para la degradación del colorante naranja disperso 3 (20 % de degradación) propuso una ruta de degradación parcial del hongo (figura 4). En este estudio destaca la formación de aminas aromáticas como subproductos de degradación, pero no se refiere al cambio en la toxicidad del compuesto parental.

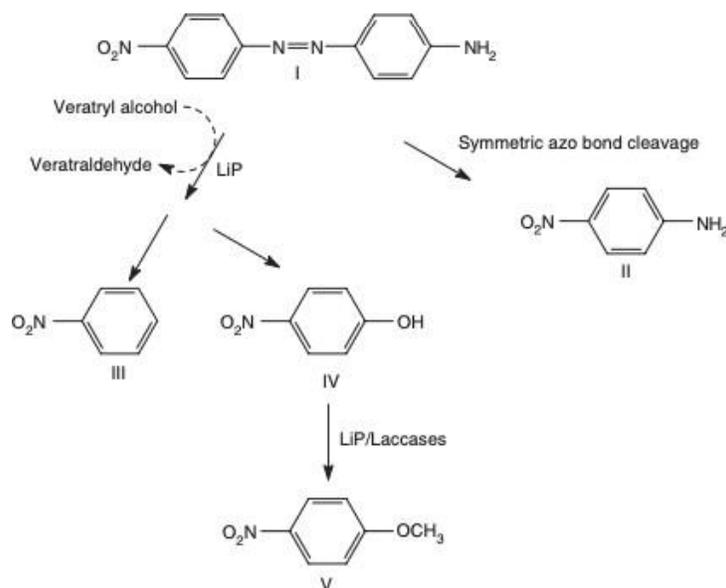


Figura 4. Ruta de transformación propuesta por Xueheng et al. 2006, para la degradación de naranja disperso 3 por *P.ostreatus*. Xueheng et al. 2006.

El estudio realizado por Si et al. 2012, evaluó la capacidad de decoloración del colorante azo rojo Congo mediada por el HPB *Trametes pubescens*; este potencial fue evaluado a una concentración de 50 mg/L durante 7 días. Para el caso de este colorante, se observó una decoloración del 80 % la cual se atribuyó a las enzimas extracelulares producidas por el hongo y detectadas en mayor concentración a partir del día 3 del proceso. Los metabolitos intermedios caracterizados durante el proceso de transformación de rojo Congo (figura 5) fueron aminas aromáticas secundarias incluyendo: Naftaleno y difenilamina. Durante el proceso se destaca que el primer paso para la transformación de esta molécula es el rompimiento del enlace azo resultado de la oxidación mediada por las enzimas extracelulares.

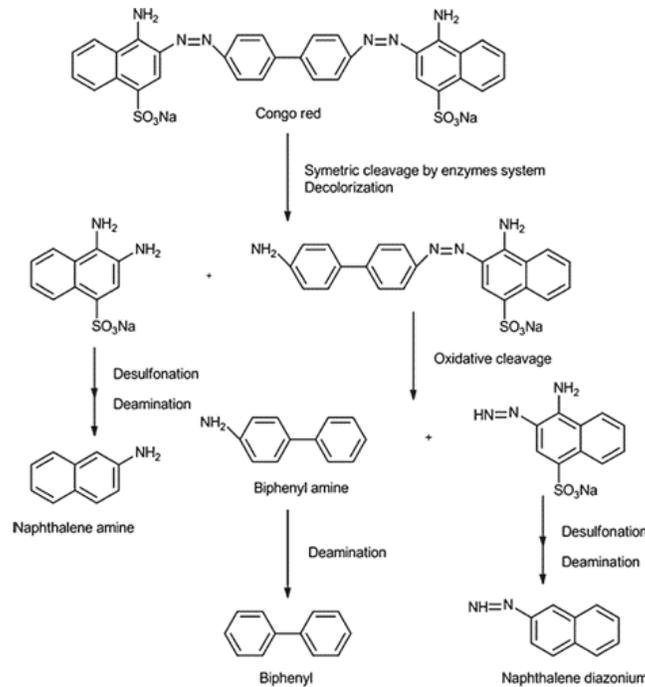


Figura 5. Ruta de transformación propuesta por Si et al. 2012, para la transformación de rojo Congo mediada por *Trametes pubescens*

Por otro lado, el estudio conducido por Alam et al. 2023 evaluó la capacidad de *Trametes hirsuta* de degradar colorantes azo, donde se incluyeron, negro reactivo 5 (NR5), azul ácido 113 (A113) y naranja ácido 7 (NA7). Para esto los autores prepararon soluciones de colorantes a una concentración de 100 mg/L, las cuales fueron inoculadas con la biomasa fúngica e incubadas a 100 rpm y 30°C durante 120 horas. En cada uno de los tratamientos fue posible observar un cambio de color con respecto al colorante inicial, alcanzando porcentajes de decoloración de 92 %, 97% y 30% para NR5, A113 y NA7 respectivamente.

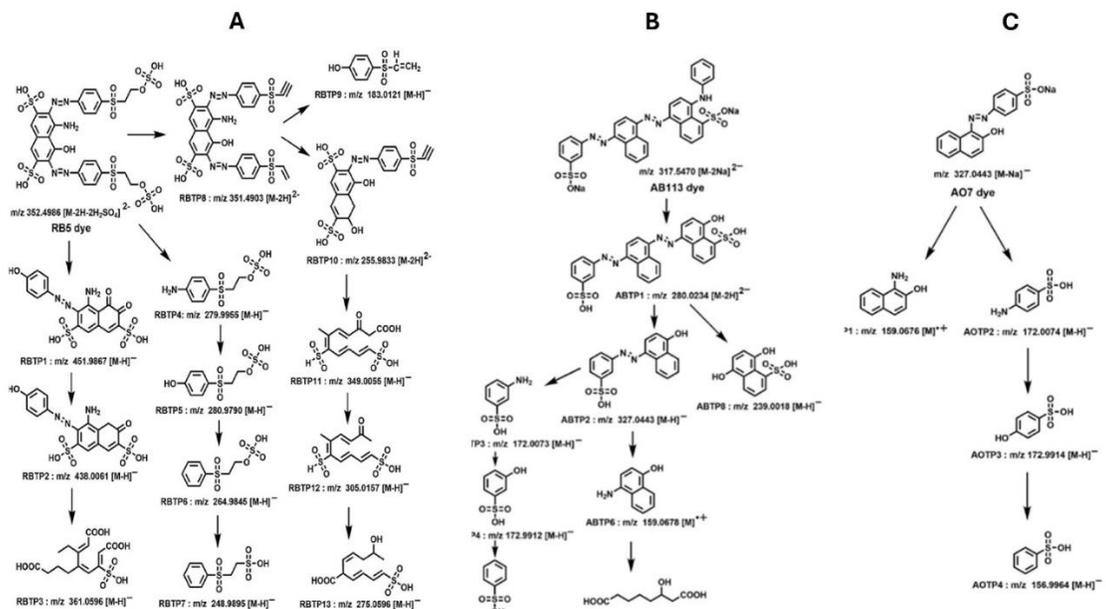


Figura 6. Ruta de transformación propuesta por Alam et al. 2023, para la biotransformación de A) NR5 B) A113 C) NA7 por *Trametes hirsuta*.

Los autores reportan la ruta de transformación obtenida para cada uno de los colorantes (figura 6) y atribuyen la capacidad de biotransformación del colorante a la actividad enzimática de la enzima extracelular lacasa, sin embargo, destacan que altas concentraciones de la enzima, no están directamente relacionadas con los porcentajes de decoloración alcanzados. Para este estudio fue posible identificar el proceso de transformación el cual varía dependiendo de la molécula del colorante. En el caso del NR5, se logró la identificación de 13 metabolitos; la transformación de este colorante inicia con la ruptura por oxidación enzimática del enlace diazo. Asimismo, se logró la detección de 8 metabolitos para la transformación del A113, la cual inició con el rompimiento de la amina aromática secundaria de la estructura del colorante, la oxidación para el rompimiento del enlace azo no ocurrió sino hasta las 72 horas de proceso. Por último, para el colorante AO7 (30% de decoloración) se detectaron 4 subproductos metabólicos. La ruta de transformación destaca el rompimiento inicial del enlace azo por oxidación. Para ninguno de los 3 colorantes fue posible alcanzar la mineralización, sin embargo, se destaca la disminución de la aromaticidad de la molécula y de la toxicidad del compuesto parental en un 25 %.

Es necesario tener en cuenta que la comprensión del proceso de rompimiento de los enlaces de las moléculas azoicas y los subproductos que se generan durante su biorremediación mediada por HPB, con el fin de tener un amplio conocimiento de los posibles potenciales riesgos ecotoxicológicos que se pueden presentar en los ecosistemas.

Conclusión

A lo largo de este artículo se ha revisado la aplicabilidad de los HPB para la remoción de colorantes azo provenientes de los desechos de la industria textil, lo que reviste de importancia biotecnológica y ambiental. La presente revisión destaca la importancia de conocer la diversidad metabólica de los HPB para entender su versatilidad y funcionalidad en los procesos de remediación, además, conocer las condiciones de operación y los distintos sistemas aplicados para mejorar las eficiencias en estos tratamientos. Si bien la utilización de los HPB para la remoción de colorantes azo es una estrategia prometedora, aún se encuentra en etapas de trabajo a escala de laboratorio y es necesario continuar con la exploración para conocer a mayor profundidad los procesos que ocurren durante la transformación de estas moléculas y sus efectos en los ecosistemas.

Referencias:

- Affat, S. S. (2021). Classifications, advantages, disadvantages, toxicity effects of natural and synthetic dyes: A review. Department of Chemistry, College of Science, University of Thi-Qar, Thi- Qar, Iraq. *Journal of Chemistry*.
- Afiya, H., Ahmet, E. E., & Shah, M. M. (2019). Enzymatic decolorization of Remazol Brilliant Blue Royal (RB 19) textile dye by white rot fungi. *Journal of Applied and Advanced Research*, 4(1), 11–15.
- Afreen, S., et al. (2021). "Fate and degradation of phthalocyanine dyes: environmental implications and bioremediation approaches." *Chemosphere*, 275, 130084.
- Ahmadian, M., Jaymand, M. (2023). Interpenetrating polymer network hydrogels for removal of synthetic dyes: a comprehensive review. *Coordination Chemistry Reviews*, 486, 215152.
- Alam, R., Mahmood, R. A., Islam, S., Ardiati, F. C., Solihat, N. N., Alam, M. B., Lee, S. H., Yuli Yanto, D. H., & Kim, S. (2023). Understanding the biodegradation pathways of azo dyes by immobilized white-rot fungus, *Trametes hirsuta* D7, using UPLC-PDA-FTICR MS

- supported by in silico simulations and toxicity assessment. *Chemosphere*, 313, 137505.
- Ali, I., et al. (2022). "Recent advances in dye removal from wastewater using low-cost adsorbents: A comprehensive review." *Journal of Environmental Management*, 303, 114190.
 - Al-Tohamy, R., Ali, S. S., Li, F., Okasha, K. M., Mahmoud, Y. A.-G., Elsamahy, T., Jiao, H., Fu, Y., & Sun, J. (2022). A critical review on the treatment of dye-containing wastewater: Ecotoxicological and health concerns of textile dyes and possible remediation approaches for environmental safety. Biofuels Institute, School of the Environment and Safety Engineering, Jiangsu University.
 - Alzain, Hassan & Kalimugogo, Victor & Hussein, Karim & Karkadan, Mona. (2023). A Review of Environmental Impact of Azo Dyes. *International Journal Of Engineering Research and General Science*. 10. 673-689. 10.52403/ijrr.20230682.
 - Bal, G., & Thakur, A. (2022). Distinct approaches of removal of dyes from wastewater: A review. *Materials Today: Proceedings*, 50(5), 1575-1579.
 - Barrios-Ziolo, L. F., Gaviria-Restrepo, L. F., Agudelo, E. A., & Cardona-Gallo, S. A. (2015). Tecnologías para la remoción de colorantes y pigmentos presentes en aguas residuales: Una revisión. *DYNA*, 82(191), 118-126.
 - Bayburt, C., Karaduman, A. B., Yenice Gürsu, B., Tuncel, M., & Yamaç, M. (2020). Decolourization and detoxification of textile dyes by *Lentinus arcularius* in immersion bioreactor scale. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(3), 945–958
 - Bayer, A., Asner, R., Schüssler, W., (2014). Behavior of sartans (antihypertensive drugs) in wastewater treatment plants, their occurrence and risk for the aquatic environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 10830–10839
 - Ben Fradj, A., Boubakri, A., Hafiane, A., & Ben Hamouda, S. (2019). Removal of azoic dyes from aqueous solutions by chitosan enhanced ultrafiltration. *Resources, Conservation & Recycling*, 149, 100017.
 - Bogale, T. T. (2020). Biotechnological applications of white rot fungi: A review. *Microbial Biotechnology Research Program, National Agricultural Biotechnology Research Center, Ethiopian Institute of Agricultural Research, Holeta.*
 - Caicedo-Montoya, C., Copete-Pertuz, L. S., Correa-Londoño, G. A., Mora-Martínez, A. L., & Yepes-Pérez, M. (2022). Decolorization of colored wastewaters with Turquoise Blue dye by the *Leptosphaerulina* sp. native Colombian fungus - Influence of operational parameters. *DYNA. Universidad Nacional de Colombia.*
 - Chakraborty, S., Basak, B., Dutta, S., Bhunia, B., & Dey, A. (2013). Decolorization and biodegradation of Congo red dye by a novel white rot fungus *Alternaria alternata* CMERI F6. *Bioresource Technology*, 147, 662–666.
 - Chaturvedi, Anuj & Singh, R S & Jaiswal, Ravi & Rai, BN. (2021). A comprehensive review on the integration of advanced oxidation processes with biodegradation for the treatment of textile wastewater containing azo dyes. *Reviews in Chemical Engineering*. 10.1515/revce-2020-0010.
 - Couto, S. R., Rodríguez, A., Paterson, R. R. M., Lima, N., & Teixeira, J. A. (2006). Laccase activity from the fungus *Trametes hirsuta* using an air-lift bioreactor. *Letters in Applied Microbiology*, 42(6), 612–616.
 - Dave, S., Das, J. (2022) *Trends and Contemporary Technologies for Photocatalytic Degradation of Dyes. Environmental Science and Engineering.* Springer.
 - Doran, P. M., & García Labiano, F. J. (1998). *Principios de ingeniería de los bioprocesos*

- (1st ed.). Acribia, Editorial, S.A.
- 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
 - El Boujaady, H., Mourabet, M., Bennani-Ziatni, M., & Taitai, A. (2014). Adsorption/desorption of Direct Yellow 28 on apatitic phosphate: Mechanism, kinetic and thermodynamic studies. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 16, 64-73.
 - El-Nemr, M. A., Abdelmonem, N. M., Ismail, I. M. A., Ragab, S., & El Nemr, A. (2020). The efficient removal of the hazardous azo dye Acid Orange 7 from water using modified biochar from Pea-peels. *Desalination and Water Treatment*, 202, 26190.
 - Espinosa-Ortiz, E. J., Rene, E. R., Pakshirajan, K., van Hullebusch, E. D., & Lens, P. N. L. (2016). Fungal pelleted reactors in wastewater treatment: Applications and perspectives. *Chemical Engineering Journal*
 - Fideles, R. A., Mageste, A. B., Nascimento, L. L. B. S., Ferreira, G. M. D., Neves, H. P., de Lemos, L. R., Ferreira, G. M. D. (2024). Aqueous two-phase systems for the extraction, separation, and recovery of synthetic dyes. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 117652.
 - Gholami Derami, H., Jiang, Q., Ghim, D., Cao, S., Chandar, Y. J., Morrissey, J. J., et al. (2019). A robust and scalable polydopamine/bacterial nanocellulose hybrid membrane for efficient wastewater treatment. *Journal Name*, 2, 1092-1101.
 - Girijan, S., & Kumar, M. (2019). Immobilized biomass systems: An approach for trace organics removal from wastewater and environmental remediation. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 12, 18-29.
 - Gómez, J., Pazos, M., Rodríguez Couto, S., & Sanromán, M. Á. (2005). Chestnut shell and barley bran as potential substrates for laccase production by *Corioloropsis rigida* under solid-state conditions. *Journal of Food Engineering*, 68(3), 315-319.
 - Herath, I. S., Udayanga, D., Jayasanka, D. J., & Hewawasam, C. (2024). Textile dye decolorization by white rot fungi – A review. *Bioresource Technology Reports*.
 - Holguín Múnera, J. F., Escobar Oquendo, A. E., Monroy Rodríguez, R. P., & Muñoz Marín, G. M. (2017). Remoción de colorantes reactivos empleando el hongo *Bjerkandera adusta*. *Informador Técnico (Colombia)*, 81(2), 142-150.
 - Hong Sodaneath, Jung-In Lee, Seung-Ok Yang, Hyekyeng Jung, Hee Wook Ryu, & Kyung-Suk Cho. (2017). Decolorization of textile dyes in an air-lift bioreactor inoculated with *Bjerkandera adusta* OBR105. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*.
 - Hossain, L., Sarker, S. K., & Khan, M. S. (2018). Evaluation of present and future wastewater impacts of textile dyeing industries in Bangladesh. *Environmental Development*.
 - Hossen, A., Chowdhury, T., & Mondal, I. H. (2022). Purification of textile dye-contained wastewater by three alternative promising techniques: adsorption, biodegradation and advanced oxidation processes (AOPs) - A review. *Journal of Textile Engineering & Fashion Technology*, 8(3), 96-98.
 - Jargalsaikhan, M., Lee, J., Jang, A., & Jeong, S. (2021). Efficient removal of azo dye from wastewater using the non-toxic potassium ferrate oxidation-coagulation process. *Applied Sciences*, 11(15), 6825.
 - Jawaduddin, M., Su, Z., Siddique, M. S., Rashid, S., & Yu, W. (2024). Purifying surface water contaminated with azo dyes using nanofiltration: Interactions between dyes and dissolved organic matter. *Chemosphere*, 361, 142438.

- Kalnake, R. P., Raval, R., Murthy, D. V. R., Vanzara, P. B., & Raval, K. (2023). Enhanced degradation of azo dye using mixed cultures of white-rot fungi in a modified rotating packed disc bioreactor and reuse of treated water. *Bioresource Technology Reports*, 22, 101449.
- Kandasamy, Sivasubramani & Punamalai, Ganesh & Paramasivam, Sivagurunathan & Kasinathan, Kolanjinathan & Hemalatha, Raman. (2020). Biodegradation potential of an estuarine bacterium *Bacillus megaterium* PNS 15 against an azo dye, Reactive Blue 194. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 10.7324/JABB.2021.9417.
- Kapoor, R. T., Danish, M., Singh, R. S., Rafatullah, M., & Khalil, A. H. P. S. (2021). Exploiting microbial biomass in treating azo dyes contaminated wastewater: Mechanism of degradation and factors affecting microbial efficiency. Amity Institute of Biotechnology, Amity University.
- Kelm, M. A. P., da Silva Júnior, M. J., de Barros Holanda, S. H., de Araujo, C. M. B., de Assis Filho, R. B., Freitas, E. J., dos Santos, D. R., & da Motta Sobrinho, M. A. (2019). Removal of azo dye from water via adsorption on biochar produced by the gasification of wood wastes. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 28558-28573.
- Khan, J., Sayed, M., Ali, F., & Khan, H. M. (2018). Removal of Acid Yellow 17 Dye by Fenton Oxidation Process. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*.
- Kijpornyongpan, T., Schwartz, A., Yaguchi, A., & Salvachúa, D. (2022). Systems biology-guided understanding of white-rot fungi for biotechnological applications: A review. *iScience*, 25(7), 104640. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104640>
- Kumar, A., et al. (2022). "An overview on the recent advancements in bioremediation of synthetic dyes: Current status and future prospects." *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(1), 106776.
- Latif, W., Ciniglia, C., Iovinella, M., Shafiq, M., & Papa, S. (2023). Role of white rot fungi in industrial wastewater treatment: A review. *Applied Sciences*, 13(14), 8318.
- Li, S., Wang, H., & Zhang, X. (2020). Removal of Allura Red AC from wastewater by electrochemical degradation: Performance and mechanistic insights. *Journal of Hazardous Materials*, 399, 123153
- Liu, Y., Li, C., Bao, J., Wang, X., Yu, W., & Shao, L. (2022). Degradation of azo dyes with different functional groups in simulated wastewater by electrocoagulation. *Water*, 14, 123.
- Luo, X., Liang, C., & Hu, Y. (2019). Comparison of different enhanced coagulation methods for azo dye removal from wastewater. Article. School of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou Higher Education Mega Centre, Guangzhou 510006, China. The Key Lab of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, South China University of Technology, Guangzhou Higher Education Mega Centre, Guangzhou 510006, China
- Malik, A., Akhtar, R., & Grohmann, E. (2014). Environmental deterioration and human health: natural and anthropogenic determinants. *Environmental Deterioration and Human Health: Natural and Anthropogenic Determinants*, 1–421.
- Mani, Sujata & Bharagava, Ram. (2018). *Textile Industry Wastewater: Environmental and Health Hazards and Treatment Approaches*.
- Martínez-Berra, Carolina & Díaz, Rubén & Sánchez-Minutti, Lilia & Díaz-Godínez, Gerardo. (2018). Biodegradation of azo dyes by *Pleurotus ostreatus*. *Mexican Journal of Biotechnology*. 3. 43-59. 10.29267/mxjb.2018.3.1.43.
- Mir-Tutusaus, J. A., & Sarrà, M. (2020). Fungal Reactors: A Solution for the Removal of Pharmaceuticals in Urban and Hospital Wastewater. In *Handbook of Environmental Chemistry* (pp. 145-162). (Handbook of Environmental Chemistry; Vol. 108). Springer

Science and Business Media Deutschland GmbH.

- Mohan, S., et al. (2020). "Degradation of textile industry dyes using advanced techniques: a comprehensive review." *Journal of Hazardous Materials*, 399, 123205.
- Mokif, L. A. (2019). Removal methods of synthetic dyes from industrial wastewater: A review. *Mesopotamia Environmental Journal*, 5(1), 23-40.
- Moreira, M. T., Feijoo, G., & Lema, J. M. (2003). Fungal bioreactors: Applications to white-rot fungi. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2(4), 247–259
- Mostacero-León, J., De La Cruz-Castillo, A., Taramona-Ruíz, L., Alva Calderón, R., Seijas-Bernabé, P., & Mendoza Rodríguez, R. (2020). Efecto citotóxico del colorante alimentario rojo 40 en nauplios de *Artemia salina* Leach. *Revista De Investigaciones De La Universidad Le Cordon Bleu*, 7(2), 60-66.
- Múnera, John & Oquendo, Andrey & Rodriguez, Rocío & Marín, Gloria. (2017). Remoción de colorantes reactivos empleando el hongo *Bjerkandera adusta*. *Informador Técnico*.
- Nachiyar, C. V., Rakshi, A. D., Sandhya, S., Jebasta, N. B. D., & Nellore, J. (2023). Developments in treatment technologies of dye-containing effluent: A review. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 7, 100339
- Nilsson, I., Möller, A., Mattiasson, B., Rubindamayugi, M. S. T., & Welander, U. (2006). Decolorization of synthetic and real textile wastewater by the use of white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(1), 94–100.
- Organización de las Naciones Unidas ONU. (2015). Contaminación del agua generada por vertimientos de la industria textil.
- Pakshirajan, K., & Kheria, S. (2012). Continuous treatment of coloured industry wastewater using immobilized *Phanerochaete chrysosporium* in a rotating biological contactor reactor. *Journal of Environmental Management*, 101, 118-123
- Pakshirajan, K., & Singh, S. (2010). Decolorization of synthetic wastewater containing azo dyes in a batch-operated rotating biological contactor reactor with the immobilized fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Department of Biotechnology, Indian Institute of Technology Guwahati, Guwahati -781039, India.
- Pal, M., et al. (2023). "Degradation of sulfur dyes from textile wastewater using advanced oxidation processes: a comprehensive review." *Journal of Water Process Engineering*, 49, 103007.
- Pazarlioglu, N. K., Urek, R. O., & Ergun, F. (2005). Biodecolourization of direct blue 15 by immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. *Process Biochemistry*, 40(5), 1923–1929.
- Przystas, 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
- Rafatullah, M., et al. (2021). "Azo dye removal and recovery by hybrid technologies: overview and recent advances." *Chemosphere*, 272, 129723.
- Selvam, K., & Shanmuga Priya, M. (2012). Biological treatment of AZO dyes and textile industry effluent by newly isolated White ROT fungi *Schizophyllum commune* and *Lenzites eximia*. *International Journal of Environmental Sciences*, 2(4).
- Sen, S. K., Raut, S., Bandyopadhyay, P., & Raut, S. (2016). Fungal decolouration and degradation of azo dyes: A review. *Fungal Biology Reviews*, 30, 112-133.
- Senol, Z. M., El Messaoudi, N., Cigeroglu, Z., Miyah, Y., Arslanoglu, H., Baglam, N., Kazan-Kaya, E. S., Kaur, P., & Georgin, J. (2024). Removal of food dyes using biological materials via adsorption: A review. *Food Chemistry*, 450, 139398.

- Senthil Rathi, B., & Senthil Kumar, P. (2022). Sustainable approach on the biodegradation of azo dyes: A short review. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry, Collection - Green methods for pollution control* (2022).
- Senthilkumar, S., Perumalsamy, M., & Janardhana Prabhu, H. (2014). Decolourization potential of white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* on synthetic dye bath effluent containing Amido black 10B. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(6), 1038-1044.
- Shabbir, M. (Ed.). (2019). *Textiles and clothing: Environmental concerns and solutions*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; Salem, Massachusetts: Scrivener Publishing, LLC.
- Shahamat, Y. D., Masihpour, M., Borghei, P., & Rahmati, S. H. (2022). Removal of azo red-60 dye by advanced oxidation process O₃/UV from textile wastewaters using Box-Behnken design. *Inorganic chemistry communications*, 143, 109785.
- Shanmugam, S., Palvannan, T., Kumar, T. S. (2005). Biological decolourization of textile and paper effluents by *Pleurotus florida* and *Agaricus bisporus* (white-rot Basidiomycetes). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1149–1151
- Shi, Y., Yang, Z., Xing, L., Zhang, X., Li, X., & Zhang, D. (2021). Recent advances in the biodegradation of azo dyes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37, 137.
- Si, J., Cui, B.-K., & Dai, Y.-C. (2012). Decolorization of chemically different dyes by white-rot fungi in submerged cultures. *Environmental Science and Pollution Research*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg and the University of Milan
- Singh, G., Dwivedi, S. K., & Mishra, J. (2020). Role of fungal enzymes in the removal of azo dyes. In N. K. Arora, A. Mehnaz, & S. Balestrini (Eds.), *Microbial Enzymes: Roles and Applications in Industries* (pp. 231-251). Springer.
- Slama Ben H., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Pourhassan, Z., Alenezi, F. N., Silini, A., Oszako, T., Luptakova, L., Golińska, P., & Belbahri, L. (2021). Diversity of synthetic dyes from textile industries, discharge impacts and treatment methods. *Applied Sciences*, 11(14), 6255
- Slama Ben H., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Pourhassan, Z., Alenezi, F. N., Silini, A., Oszako, T., Luptakova, L., Golińska, P., & Belbahri, L. (2021). Diversity of synthetic dyes from textile industries, discharge impacts and treatment methods. *Applied Sciences*, 11(14), 6255.
- Sodaneath, H., Lee, J.-I., Yang, S.-O., Jung, H., Ryu, H. W., & Cho, K.-S. (2017). Decolorization of textile dyes in an air-lift bioreactor inoculated with *Bjerkandera adusta* OBR105. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*.
- Stevens, L. J., Burgess, J. R., & Stochelski, M. A. (2021). The effect of artificial food colorings on children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Pediatrics*, 147(6), e2020046164.
- Suciati, & Yuliar. (2019). Effect of coloring pH and mordant on fungal dyes quality using woolen yarn. Research Center for Biology, Indonesian Institute of Sciences, Cibinong Science Center, Cibinong, West Java, Indonesia.
- Tadesse, H., Kebede, T., & Mekonnen, Y. (2020). Azo dye toxicity in the aquatic environment: Assessment and remediation strategies. *Environmental Chemistry Letters*, 18(5), 1543-1557.
- Tavares, M. F., Avelino, K. V., Araújo, N. L., Marim, R. A., Linde, G. A., Colauto, N. B., & do Valle, J. S. (2020). Decolorization of azo and anthraquinone dyes by crude laccase produced by *Lentinus crinitus* in solid state cultivation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 99–106.

- Verma, S., et al. (2020). "Dyes removal from wastewater by adsorption using bioadsorbents: a comprehensive review." *Journal of Environmental Management*, 260, 110059.
- Villar Gutiérrez, J. C. (2008). *Biología aplicada a la fabricación de pulpa y papel*. In J. González Molina & J. M. Carbajo García (Eds.), *Panorama de la industria de celulosa y papel en Iberoamérica 2008* (Capítulo VIII).
- Wang, N., Chu, Y., Wu, F., Zhao, Z., & Xu, X. (2017). Decolorization and degradation of Congo red by a newly isolated white rot fungus, *Ceriporia lacerata*, from decayed mulberry branches. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 117, 236-244.
- Wang, N., Chu, Y., Wu, F., Zhao, Z., & Xu, X. (2017). Decolorization and degradation of Congo red by a newly isolated white rot fungus, *Ceriporia lacerata*, from decayed mulberry branches. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 117, 236-244.
- Wong, K.H., et al. (2020). "Degradation of phthalocyanine dyes in wastewater: a review." *Applied Catalysis B: Environmental*, 278, 11930.
- Yaseen, D.A. & Scholz, M. (2019). "Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review." *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(2), 1193–1226.
- Yemendzhieva, H., Alexieva, Z., & Krastanov, A. (2014). Decolorization of synthetic dye Reactive Blue 4 by mycelial culture of white-rot fungi *Trametes versicolor* 1. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*.
- Yusuf, M. (2019). Synthetic dyes: A threat to the environment and water ecosystem. In M. Shabbir (Ed.), *Environmental Chemistry: Techniques and Applications* (Chap. 2).
- Zaruma Arias, P. E., Proal Nájera, J. B., Chaires Hernández, I., & Salas Ayala, H. I. (2018). Los colorantes textiles industriales y tratamientos óptimos de sus efluentes de agua residual: Una breve revisión. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, (19), 38.
- Zhao, X., Hardin, I. R., & Hwang, H.-M. (2006). Biodegradation of a model azo disperse dye by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57(1), 1-6.
- Zuleta Correa, A. (2013). *Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido* (Tesis de grado). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Minas, Departamento de Geociencias y Medio Ambiente, Medellín, Colombia.

Decoloración de colorante Rojo 40 mediado por cepas salvajes de hongos de la podredumbre blanca.

Introducción:

Los colorantes son compuestos orgánicos sintéticos solubles en agua con estructuras químicas diversas, que incluyen azo, nitro, ftalocianinas, entre otros. (Ben et al. 2021) Estas sustancias están conformadas por un grupo cromóforo, encargado de absorber la luz y reflejar el color en el espectro visible, así como por grupos auxocromos, responsables de la fijación de las moléculas de color a la superficie donde son aplicadas (Benkhaya, et al.2020).

Los colorantes de origen sintético son utilizados en la fabricación de productos en industrias de papel, alimentos y textiles, entre otras. Se estima que entre el 2 y el 50 % de colorantes son desechados a través de los efluentes industriales sin tratamiento previo, siendo esta una de las principales fuentes de contaminación de los cuerpos de agua (Bojalil et al. 2021; Oliveira et al. 2018).

La industria alimentaria y textil representan dos sectores económicos de importancia mundial, la primera consume entre el 5-20% del recurso hídrico global (Castillo et al. 2017), y genera aguas residuales ricas en materia orgánica y colorantes tipo azo como tartrazina, azul brillante y rojo allura o rojo 40 (Barciela et al 2023). Se estima que, en los Estados Unidos, al menos un 10% de las 2.200 toneladas de colorantes demandados en el primer trimestre de 2021 para esta industria, fueron liberados como residuo coloreado a los efluentes (FDA 2021). Por otro lado, la industria textil, aunque crucial para la economía global, es la segunda mayor fuente de efluentes contaminados con colorantes, principalmente de tipo azo (Rania et al. 2022; Mani et al. 2018) con una pérdida estimada del 10-15% de estos en las aguas residuales liberadas durante el proceso productivo (Gurbuz et al. 2019; Salem et al. 2019). Países como Bangladesh e India, representativos para esta industria, enfrentan problemas graves de contaminación debido a la descarga directa de aguas residuales coloreadas en los cuerpos de agua naturales (Slama et al. 2021).

En Colombia, la industria textil es fundamental para la economía nacional, representando aproximadamente el 28 % de los empleos; aunque su gran aporte a la economía del país, los residuos provenientes de esta industria son una de las principales fuentes de contaminación de cuerpos de agua con descargas residuales de 170.000 toneladas anuales (Holguín et al. 2017), en la mayoría de los casos sin tratamiento previo para la eliminación de color, pues la normativa reguladora a nivel nacional (Decreto 0631 de 2015) no hace referencia a límites máximos permisibles, únicamente exige análisis y reporte de estos compuestos contaminantes para todas las industrias (MinAmbiente, 2015). Sumado a lo anterior, se han presentado eventos de contaminación por colorantes en diferentes efluentes de las principales ciudades del país, como consecuencia de vertimientos industriales. Algunos de los casos se reportaron en ciudades como Cali, Manizales y Medellín (Barrios-Ziolo et al. 2016) donde las fuentes hídricas se tiñen de diferentes colores producto de las aguas residuales industriales.

La descarga no controlada de colorantes en cuerpos de agua superficiales tiene diversos impactos negativos, a nivel paisajístico, pequeñas concentraciones de los tintes tienen la capacidad de alterar las características visuales de los cuerpos de agua (Gurbuz et al 2019), producen efectos nocivos para el ecosistema, intervienen en la actividad fotosintética de plantas acuáticas y otros organismos limitando la penetración de la luz, causan procesos de eutrofización al disminuir la disponibilidad de oxígeno en el agua, y pueden alterar las características fisicoquímicas del agua (demanda química y biológica de oxígeno, carbono orgánico total, sólidos suspendidos y oxígeno disuelto), disminuyendo por tanto la calidad del agua (Bojalil et al.2021; Selim et al. 2021). La presencia de radicales y metales

pesados en la estructura de los colorantes también pueden afectar la salud humana por la generación de compuestos aromáticos y aminas libres, con alto poder tóxico y carcinogénico (Prystaz et al 2018; Cellis et al. 2019). Adicionalmente, su estructura química los hace fotolíticamente estables y recalcitrantes en el ambiente (Sharma et al. 2021). En particular para el colorante Rojo 40 (destacado como uno de los más utilizados a nivel mundial) su presencia en cuerpos de agua puede causar afectaciones en el balance de nutrientes e intercambio de gases producto del metabolismo de los organismos acuáticos, además de alteraciones mutagénicas y desbalance en la actividad acuática (Tadesse et. al 2020). Este colorante es estable frente a cambios en las condiciones medioambientales (pH y temperatura) lo que lo hace persistente en el ecosistema.

El tratamiento de aguas residuales coloreadas se ha abordado desde diferentes perspectivas, empleando métodos físicos (adsorción, carbón activado, filtración por membrana e irradiación) y químicos (oxidación, floculación y coagulación); ambas opciones presentan limitantes como su elevado costo, gasto energético y la generación de subproductos en algunos casos más tóxicos (Selim et al 2021; Prystas et al 2018). En consecuencia, se han considerado otras alternativas de tratamiento que hacen uso de la versatilidad metabólica de los microorganismos como una opción costo-efectiva y sostenible para la degradación de estas sustancias (Bojalil et al. 2021). Entre las posibilidades existentes, la micorremediación se reconoce como una alternativa prometedora, en la cual se utiliza el potencial metabólico de los hongos, en especial hongos de la podredumbre blanca (HPB) para tratar las aguas residuales contaminadas. Los HPB tienen la capacidad de colonizar grandes superficies, tolerar fluctuaciones de las condiciones fisicoquímicas del ambiente, y degradar compuestos orgánicos e inorgánicos complejos utilizando enzimas extracelulares dentro de las que se incluyen: lacasa, manganeso peroxidasa y lignina peroxidasa (Brayburt et al.2019; Harmen et al. 2021; Dihn et al. 2022). Estas enzimas tienen baja especificidad por el sustrato, lo que les permite degradar una amplia gama de contaminantes orgánicos con estructuras complejas, compuestos cíclicos y de cadena larga, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y compuestos policlorados bifenilos (PCBs) (Kijpornyongpan et al.2022). No obstante, el mecanismo de degradación de los colorantes utilizando enzimas extracelulares de los HPB, así como el desarrollo de las condiciones de cultivo de estos hongos para diferentes grupos de colorantes no ha sido completamente establecido, puesto que cada efluente presenta una composición particular y puede tener diferentes efectos sobre los microorganismos seleccionados para el proceso de degradación (Xiao et al 2022; Yesilada et al. 2018).

Bajo este contexto y conociendo la aplicabilidad de las enzimas producidas por HPB para la eliminación de compuestos complejos entre ellos los colorantes, esta investigación tuvo como objetivo realizar la bioprospección de diferentes géneros de HPB con el fin de evaluar su potencial para la decoloración de un efluente de agua residual industrial contaminado con rojo 40 (R40) colorante.

Materiales y métodos.

Bioprospección de HPB

La recolección de los especímenes se realizó aplicando un diseño muestral aleatorio con recorridos libres en diferentes ecosistemas y puntos de la ciudad (zona centro occidental 6°N, 31°E; zona suroriental 6°N, 75°O) siguiendo la metodología O' Dell 2004. El material recolectado fue transportado al laboratorio envuelto en papel parafinado para evitar que el exceso de humedad afecte los especímenes colectados y guardados en recipientes planos con tapa, y en neveras de icopor a temperatura de 25°C. La descripción e identificación de los especímenes en fresco se realizó siguiendo las pautas de Franco et al. (2005) para cada grupo taxonómico, la descripción del color se

realizó utilizando el atlas de colores de Kornerup y Wanscher (1978), se tomaron fotografías de todos los especímenes en fresco. Los hongos fueron deshidratados en un deshidratador de alimentos convencional y las colecciones se depositaron en el Herbario de la Universidad de Antioquia (HUA) cumpliendo con los requisitos del Permiso Marco de Recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica de la Universidad de Antioquia, número 0524-014, que respalda este proyecto. Para el aislamiento y cultivo de los hongos colectados se tomaron fragmentos del píleo y estípites de los esporocarpos frescos utilizando un bisturí quirúrgico y se colocaron a crecer en agar agua al 2% o medio agar papa dextrosa (PDA de la sigla en inglés) suplementado con cloranfenicol al 0.01%, garantizando condiciones estériles durante el proceso. Las cajas se incubaron por 15 días a 25°C, y cada 2 días se verificó el crecimiento micelial hasta obtener cultivos axénicos. Las cepas obtenidas fueron preservadas en una mezcla de glicerol al 2% y agua destilada estéril y guardadas a 4°C. Después de ser identificadas, las cepas fueron depositadas en la Colección de Microorganismos de la Escuela de Microbiología CM-EM-UdeA.

Evaluación del potencial de decoloración de los hongos colectados.

La muestra de agua coloreada con R40 proviene del efluente coloreado de una empresa dedicada a la producción textil. La muestra de agua residual se almacenó en un recipiente oscuro y se mantuvo a 20°C en el laboratorio. La caracterización fisicoquímica de la muestra indicó un contenido de sólidos entre el 17 y 22%, contenido de sales entre el 25-40 % contenido de color variable, entre 30 y 45% y pH entre 5 y 10. Para la evaluación del potencial de decoloración de los HPB colectados se emplearon medios sólidos y medios -líquidos (Extracto de malta BELLCHEM, Glucosa Merck, Peptona Merck y agar-agar) con agua residual coloreada con R40 diluida con medio de cultivo hasta alcanzar una concentración de colorante de 100 mg/L. El inóculo para estos ensayos se obtuvo a partir de las cepas colectadas que se encontraban preservadas a 4°C, las cuales se activaron en agar PDA, incubados a 30°C durante 5 días. Ambos, medios de cultivo sólidos y líquidos, se inocularon con un trozo de 4x4 mm de micelio del hongo. Los medios de cultivo sólidos se incubaron a 30°C, midiendo diariamente el crecimiento radial de la biomasa del hongo (diámetro del micelio DM) y la decoloración del medio (halo de decoloración HD) durante 15 días o hasta obtener la decoloración total del medio de cultivo, lo que primero se presentara. Los tratamientos se establecieron por triplicados e incluyeron un control abiótico (medio sólido con residuo coloreado sin inocular) y un control de crecimiento de biomasa (medio sólido sin residuo coloreado e inoculado con el HPB). El índice de decoloración se estableció por la relación entre el HD y DM (Santana et al. 2023). A partir de los resultados obtenidos en los medios sólidos se seleccionaron las cepas de HPB que presentaron más porcentaje de decoloración, para continuar el proceso de evaluación del potencial de decoloración en medios líquidos.

Las pruebas de decoloración en medios líquidos se realizaron en recipientes (Erlenmeyer) de 150 mL con un volumen efectivo de 70% de medio de cultivo líquido y colorante a una concentración de 100 mg/L. Adicionalmente, en estos medios se incluyó aserrín de pino o *Luffa cylindrica* (estropajo), como fuente de lignina para el HPB, con el propósito de inducir la producción de las enzimas extracelulares (Kijpornyongpan et al. 2022). Como se mencionó anteriormente, en los medios líquidos se evaluaron las cepas de HPB para las cuales se observaron altos porcentajes de degradación en los ensayos en medio sólido. Los cultivos líquidos se incubaron a 30 °C unos en agitación (80 rpm) y otros sin agitación durante 15 días; tomando muestras cada 2 días para determinar la concentración de colorante remanente y por tanto su porcentaje de decoloración. Los tratamientos se establecieron por triplicado y se incluyó un control abiótico (medio de cultivo con agua residual coloreada).

Para determinar la concentración de colorante residual en el medio de cultivo líquido, se tomaron 5 mL de cada cultivo y se centrifugaron a 10.000 rpm por 5 minutos, se recuperó el sobrenadante y se analizó en un espectrofotómetro uv/vis (Thermo Scientific GENESYS 30), posterior al espectro de

absorción para el colorante que permitió determinar la máxima absorción de este, 504 nm. La concentración de colorante se obtuvo a partir de la curva de calibración, previamente elaborada para el colorante R40 puro. El porcentaje de decoloración se determinó utilizando la fórmula expresada por Jadhav et al. (2008), donde A_i hace referencia a la absorbancia al inicio del proceso y A_t hace referencia a la absorbancia obtenida en el tiempo t

$$\text{Decoloración (\%)} = \frac{A_i - A_t}{A_i} \times 100$$

Determinación de la actividad enzimática (AE).

La actividad de la enzima Lacasa (Lac) se determinó utilizando como sustrato 2,2'- azinobis ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS), siguiendo la metodología descrita por Niku-Paavola et al. (1988). La actividad de la enzima Manganese Peroxidasa (MnP) se determinó utilizando como sustratos DMAB/MBTH (ácido 3- dimetilaminobenzoico/ 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona clorhidrato), siguiendo el protocolo propuesto por Vyas et al. (1994). La toma de muestra para la determinación de la actividad enzimática se realizó cada 2 días durante los 12 días de duración del tratamiento de decoloración. Todas las pruebas de actividad enzimática (AE) se realizaron por triplicado; la absorbancia se midió en un espectrofotómetro uv/vis (Thermo Scientific GENESYS 30) a una longitud de onda de 420 nm para la AE de Lac y 610 nm para la AE de MnP. La AE se expresó en Unidades Internacionales (UI), donde una unidad se define como la cantidad de enzima que oxida 1 μmol de sustrato en 1 min.

Análisis estadístico.

Con el fin de corroborar la significancia de los resultados obtenidos en relación con la variable respuesta (% de remoción de R40) se realizaron análisis estadísticos exploratorios (boxplot) y análisis de varianzas (ANOVA). La normalidad y homocedasticidad de los datos fue corroborada a partir de las pruebas de Tukey y Kolmogorov, teniendo en cuenta el valor p obtenido para un nivel de significancia de 0,05. Los análisis se realizaron en el software libre R studio (R team, 2021.09.2)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Bioprospección de HPB y screening del potencial de decoloración.

Los HPB pertenecen al grupo de los Basidiomicetos, son ubicuos en el ambiente, tolerantes a los cambios fisicoquímicos y se destacan por ser organismos saprófitos; lo que explica su empleo frecuente en el establecimiento de procesos biotecnológicos relacionados con la remoción de compuestos complejos y altamente tóxicos como hidrocarburos aromáticos policíclicos, trinitrotolueno (TNT), insecticidas organoclorados y colorantes (Rui et al. 2021; Filho et al. 2023). A partir del proceso de bioprospección, se aislaron e identificaron, 7 géneros diferentes de HPB: *Lentinus* sp., *Phanerochaete* sp., *Pycnoporus* sp., *Coprinus* sp., *Xylaria* sp., *Inonotus* sp., y *Schizophyllum* sp.

La evaluación del potencial de decoloración de los HPB colectados se realizó mediante ensayos en medios sólidos y líquidos que contenían agua residual coloreada con R40. Los resultados observados en los ensayos de decoloración en medio sólido sugieren que los géneros *Coprinus* sp., *Xylaria* sp.,

Inonotus sp., y *Schizophyllum sp.*, no tienen la capacidad para decolorar el R40 presente en el medio. En contraste, los resultados observados para los géneros *Lentinus sp.*, *Phanerochaete sp.*, *Pycnoporus sp.*, presentan un índice de decoloración del 100 % en medio sólido en 10 a 11 días de cultivo (Tabla 4).

Tabla 4. Evaluación del potencial de decoloración de R40 (100 mg/L) en medio de cultivo sólido mediada por los HPB colectados durante el proceso de bioprospección en el Valle de Aburrá. Los valores se expresaron como el promedio de los datos \pm las desviaciones.

Género HPB	Tiempo de incubación (días)	Diámetro del halo decoloración (cm)	Índice de decoloración (%)
<i>Lentinus sp.</i>	8	8 \pm 0,2	83
	9	9	94
	10	9	100
<i>Phanerochaete sp.</i>	8	5 \pm 0,5	59
	9	8 \pm 0,5	92
	10	9	100
<i>Pycnoporus sp.</i>	8	3 \pm 0,3	35
	9	5 \pm 0,3	57
	10	7 \pm 0,2	81
	11	9	100
<i>Coprinus sp.</i>	15	0	0
<i>Xylaria sp.</i>	15	0	0
<i>Inonotus sp.</i>	15	0	0
<i>Schizophyllum sp.</i>	15	0	0

El empleo de cepas de hongos como alternativa para el tratamiento biológico de colorantes necesariamente implica la optimización de las condiciones para contar con suficiente cantidad de biomasa y una tasa metabólica adecuada. En este sentido, parámetros como temperatura, pH y agitación, son críticos para la eficiencia del tratamiento (Ardila et al. 2021). Particularmente, para los HPB es necesario considerar otros factores que influyen en la eficiencia del tratamiento, en este caso se ha sugerido que la producción de las enzimas puede ser dependiente o independiente del sustrato; por ejemplo, se ha observado que las enzimas lignolíticas incrementan su actividad en presencia de compuestos ricos en lignina como el aserrín de pino (Kijpornyongpan et al. 2022; Sánchez-Corzo et al. 2021). Asimismo, en los ensayos de decoloración realizados en este estudio se incluyó la adición de aserrín de pino o *Luffa cylindrica* como inductores de la producción de enzimas lignolíticas y la influencia de la agitación durante el proceso de decoloración (Tripathi et al. 2012).

Los ensayos de decoloración en medios líquidos se inocularon con los géneros de HPB que exhibieron altos porcentajes de decoloración en el menor tiempo en el medio sólido (*Lentinus sp.*, *Phanerochaete sp.* y *Pycnoporus sp.*). En la tabla 5, se encuentran los porcentajes de decoloración obtenidos con las condiciones de cultivo probadas i) adición de un inductor de producción de enzimas (aserrín de pino o *Luffa cylindrica*), y ii) con y sin agitación.

Tabla 5. Evaluación del potencial de decoloración de R40 (100 mg/L) en medio de cultivo líquido luego de 12 días, mediada por los HPB colectados durante el proceso de bioprospección en el Valle de Aburrá.

Género HPB	Inductor	Condición de incubación	Remoción de R40 (%)
<i>Lentinus</i> sp.	Aserrín de pino	Agitado 80 rpm	66 ± 0,002
	Aserrín de pino	Estático	94 ± 0,001
	<i>Luffa cylindrica</i>	Agitado 80 rpm	11 ± 0,5
	<i>Luffa cylindrica</i>	Estático	57 ± 0,4
<i>Phanerochaete</i> sp.	Aserrín de pino	Agitado 80 rpm	95 ± 0,004
	Aserrín de pino	Estático	95 ± 0,002
	<i>Luffa cylindrica</i>	Agitado 80 rpm	30 ± 0,3
	<i>Luffa cylindrica</i>	Estático	13 ± 0,5

Los resultados observados a partir de este ensayo mostraron que el mejor tratamiento para el proceso de decoloración de R40 por parte de los hongos seleccionados son: **cultivo líquido con aserrín y sin agitación**. Los cultivos inoculados con la cepa del género *Lentinus* sp., alcanzaron un porcentaje de decoloración del 94%, y los inoculados con la cepa de *Phanerochaete* sp., un 95%, ambos en 4 días de incubación. Cabe resaltar que en los ensayos con el hongo del género *Pycnoporus* sp., se alcanzó un porcentaje de decoloración igual (95%) en el tratamiento con aserrín y agitación (80 rpm); sin embargo, en este caso el tiempo de incubación se extendió hasta el día 20, adicionalmente se observó para este hongo el fenómeno de biosorción en el micelio fúngico (datos no mostrados). Los ensayos en cultivos líquidos con *Luffa cylindrica* sin agitación se incubaron durante 12 días; en los cultivos inoculados con el hongo del género *Lentinus* sp. se obtuvo un 57% de decoloración al día 12 de incubación, mientras que con el género *Phanerochaete* sp., se alcanzó un 13% de decoloración en el mismo tiempo de incubación. Los cultivos se incubaron hasta el día 15 no obstante, después del día 12 de incubación no se presentaron cambios en el porcentaje de decoloración en los ensayos inoculados con ambos géneros de hongos.

En general, se reconoce que los HPB exhiben principalmente dos mecanismos de acción frente a la transformación o degradación de compuestos colorantes: i) uno asociado a la actividad enzimática de las enzimas lignolíticas extracelulares (lac y MnP), y ii) mediante la biosorción de la molécula colorante a la biomasa del hongo; siendo la actividad de las enzimas ligninolíticas extracelulares el mecanismo más frecuente (Salazar-López et al. 2017; Indunil et al. 2024). Estudios previos reportan la utilización de enzimas extracelulares producidas por especies del género *Phanerochaete* sp., a las cuales se les atribuye la remoción de colorantes tipo azo Amarillo directo 27 y Negro reactivo 5, con porcentajes de decoloración del 50 % de una concentración de 100 mg/L en 10 días de tratamiento (De Almeida et al. 2021). Asimismo, Sosa-Martínez et al. (2020) reportaron un porcentaje de decoloración del 10 % de una concentración inicial de 50 mg/L para el colorante Rojo Congo con especies de hongos del mismo género, en un tiempo de cultivo de 36 horas.

Los hongos del género *Lentinus* sp., también son frecuentemente utilizados en el desarrollo de procesos de biorremediación por su capacidad de producir diferentes enzimas extracelulares (lacasas, celulasas, pectinasas y peroxidases) que participan en la eliminación de contaminantes recalcitrantes del ambiente (Filho et al. 2023). Estudios previos reportan para este género porcentajes de decoloración del 76% para el azul remazol y un 100% para el azul reactivo 220 en concentraciones de hasta 1,2 g/L en 24 horas de tratamiento en estado sólido y medios de cultivo a base de residuos

agroindustriales (pulpa cítrica de café y bagazo de caña, respectivamente) (Almeida et al. 2018; Tavares et al. 2020). Porcentajes similares de decoloración para el colorante azul remazol, 84% de una concentración de 50 mg/L, se han sugerido en estudios que utilizan en el proceso de decoloración la enzima lac purificada de *Pycnoporus* sp. (Salazar-López et al. 2017).

Si bien los procesos de decoloración mediados por enzimas extracelulares de HPB son los más frecuentes, el mecanismo de biosorción también es una alternativa para la remoción de colorantes. En esta línea, Peckova et al. (2021), reportaron una baja concentración de enzimas lignolíticas extracelulares, acompañadas de un 5-10% de remoción del colorante R40 mediado por un mecanismo de biosorción del colorante a la biomasa del hongo, para este estudio se cultivó *Pycnoporus* sp., en tratamiento sumergido con medio de cultivo que contenía glucosa como fuente de carbono y cofactores enzimáticos con un tiempo de tratamiento de 14 días. La biosorción mediada por biomasa viva de HPB se ha reportado como un mecanismo eficiente para la remoción de colorantes de aguas contaminadas, la combinación de los mecanismos (adsorción y biodegradación) es posible gracias a la capacidad de estos HPB a adsorber el colorante en su pared celular y la acción de las enzimas lignolíticas para degradar el colorante (Legorreta-Castañeda et al. 2020).

En lo referente a la utilización de aserrín de madera como inductor de la producción de enzimas ligninolíticas, se destaca que el tipo de madera que compone el aserrín es un aspecto crítico para su función como inductor de la actividad enzimática, en tanto se estimula la producción de uno u otro grupo de enzimas (Kijpornyongpan et al 2022). En experimentos exploratorios se evaluaron tres tipos de aserrín: de nogal, de eucalipto y de pino, en los cultivos en los que se adicionó aserrín de nogal y eucalipto no se observó crecimiento de la biomasa de los hongos (*Lentinus* sp., *Phanerochaete* sp., *Pycnoporus* sp.) (datos no mostrados). Este fenómeno observado se relaciona a la presencia de compuestos con propiedades antimicóticas como lo son los taninos presentes en el aserrín de maderas como nogal y eucalipto, que impiden el crecimiento de los hongos (Peralta 2012; Mandariaga-Mazón et al .2019).

De igual manera, la elección de *Luffa cylindrica* se basó en su composición, celulosa y lignina, y el hecho de que este material hace las veces de matriz de inmovilización para la biomasa del hongo lo que en algunos casos representa una ventaja funcional para el éxito del proceso (Gaviria- Arroyave et al. 2018). En el gráfico 2, se muestran los resultados obtenidos a partir del análisis estadístico exploratorio el cual sugiere que, para ambos géneros *Lentinus* sp. y *Phanerochaete* sp., la adición de aserrín como inductor de la actividad enzimática favorece el proceso de decoloración en comparación con los tratamientos con *Luffa cylindrica*. En cuanto a la influencia de la agitación en la eficiencia del proceso de decoloración, se encontró que los cultivos con agitación requieren un mayor tiempo de incubación para alcanzar la decoloración de R40. En contraste con los cultivos sin agitación donde se observó una rápida decoloración del medio en 4 días y un alto porcentaje de decoloración (94%), que puede atribuirse al efecto positivo que tiene el aserrín de pino en la producción de las enzimas extracelulares.

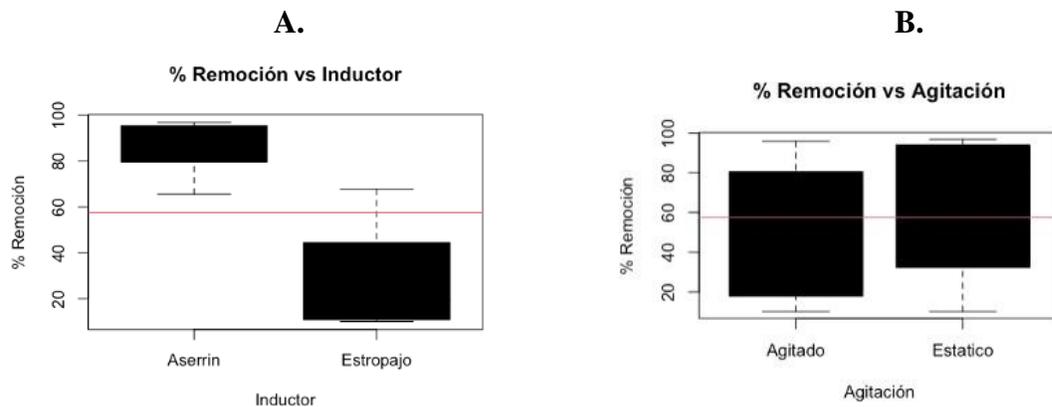


Gráfico 2. Gráfico de cajas y bigotes A) efecto de los inductores evaluados: aserrín de pino y *Luffa cylindrica* (estropajo) vs el porcentaje de remoción de R40. B) efecto de la agitación vs porcentaje de remoción de R40. Durante 12 días de tratamiento mediado por los hongos *Phanerochaete* sp. y *Lentinus* sp.

El aserrín induce la actividad lignolítica de los HPB por su rol en la naturaleza como sustrato para este tipo de organismos, lo que favorece la producción y secreción de enzimas lignolíticas particularmente lac y MnP a las cuales se les atribuye la capacidad de favorecer los procesos hidrolíticos y oxidativos implicados en el rompimiento de moléculas contaminantes de alto peso molecular (Hultberg et al. 2024). Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este punto para los ensayos posteriores se realizaron los tratamientos del efluente contaminado con R40 con los hongos *Phanerochaete* sp., y *Lentinus* sp., cultivados sin agitación y utilizando aserrín como inductor de la actividad enzimática.

Evaluación de la decoloración de R40 y determinación las enzimas extracelulares producidas.

A partir de las condiciones de cultivo establecidas, se incrementaron las concentraciones de colorante en los medios (250,450,1000 mg/L) y se determinaron las enzimas extracelulares producidas durante el proceso de decoloración, los géneros de HPB seleccionados para inocular los cultivos fueron: *Lentinus* sp. y *Phanerochaete* sp. En los gráficos 3 y 4, se observan la cinética de decoloración de colorante R40 en 12 días de cultivo y la producción de las enzimas lignolíticas, MnP y Lac, en los ensayos inoculados con los hongos *Lentinus* sp. y *Phanerochaete* sp.

Tanto la cinética de decoloración como los porcentajes de decoloración observados confirman que ambos géneros (*Lentinus* sp. y *Phanerochaete* sp.), tienen potencial para transformar o degradar el colorante R40 en concentraciones de 1000 mg/L, siendo el género *Lentinus* sp. el que exhibe mayores porcentajes de decoloración, (por encima del 60%), en comparación con el género *Phanerochaete* sp. (44% de decoloración). Este proceso de remoción de colorante se configuró como un cultivo en lote, por tanto, una vez se agotan las fuentes de carbono disponibles se da una disminución de la tasa metabólica del hongo y, en consecuencia, la eficiencia del proceso de desaparición del colorante (Naabela et al.2023). Los resultados observados en este ensayo coinciden con el fenómeno indicado; no obstante, a pesar de la disminución detectada en el porcentaje de decoloración de R40 los datos confirman el potencial biotecnológico que tienen los géneros evaluados, particularmente el género *Lentinus* sp., con relación a esto, algunos estudios refieren la utilización de este género en la degradación de colorantes confirmándose así el potencial de este hongo para decolorar aguas contaminadas con colorantes tipo azo. En el estudio realizado por Bayburt.et al (2020), evaluaron el potencial de *Lentinus* arcularius para degradar colorantes de diferentes tipos, encontrando porcentajes de decoloración entre 87-100% para colorantes tipo azo (amaranto y azul cibacron) en cultivos

sumergidos con una concentración inicial de colorante de 0,038 mg/L y 0,19 mg/L, respectivamente. Además, se estableció que la actividad fúngica responsable de la decoloración de los colorantes tipo azo correspondía principalmente a la producción de la enzima MnP resultados que coinciden con los hallazgos encontrados en el presente estudio. De forma similar, el género *Phanerochaete* sp., se ha empleado también en procesos de decoloración de tintes de tipo azo en cultivos sumergidos, encontrando porcentajes de decoloración de 82, 89 y 94% para los colorantes amarillo directo, negro reactivo 5 y rojo reactivo 120 respectivamente, con una concentración inicial de 50 mg/L en un tiempo de incubación de 10 días. Estos datos resultados son similares a los encontrados en el presente estudio, y constituyen una evidencia adicional del potencial que tienen ambos géneros de HPB en los procesos de decoloración de aguas contaminadas (Almeida et al.2021).

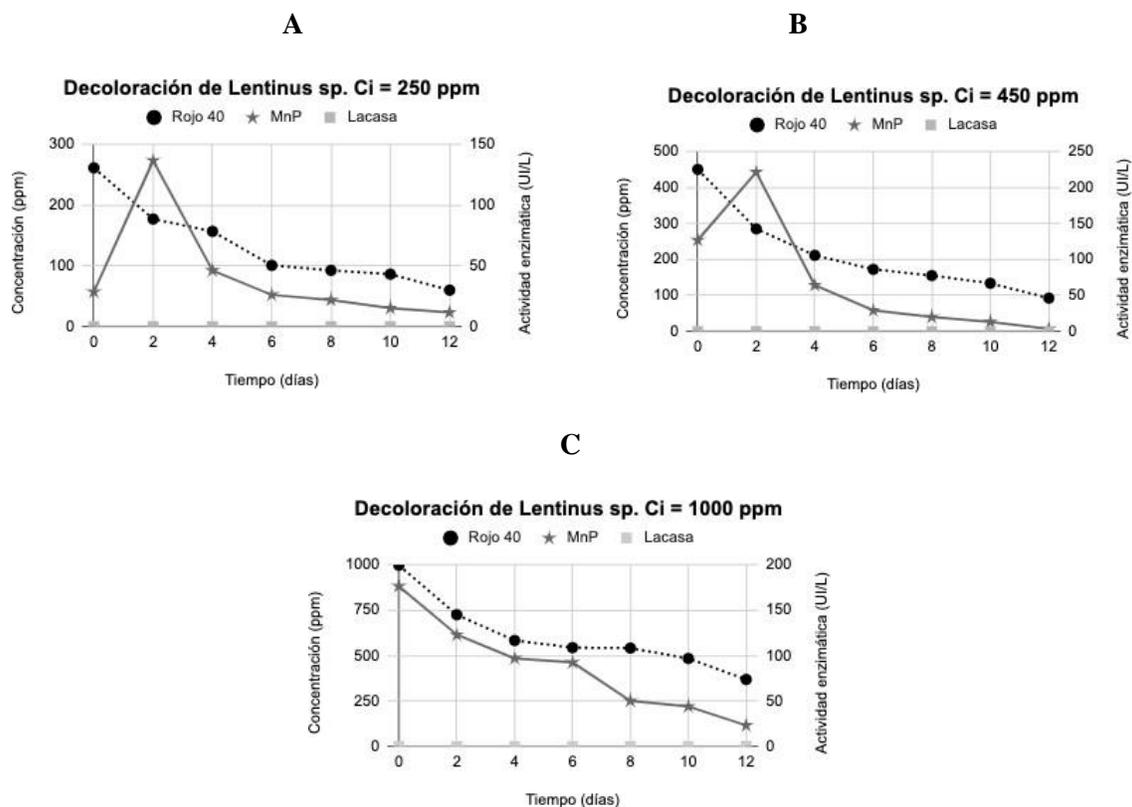


Gráfico 3. Cinética de decoloración de R40 mediada por *Lentinus* sp. Partiendo de diferentes concentraciones iniciales A) 250 mg/L B) 450 mg/L C) 1000 mg/L. La línea punteada hace referencia al proceso de decoloración, la línea sólida gris oscura hace referencia a la actividad de la enzima MnP y la línea gris clara hace referencia a la actividad de la enzima Lacasa.

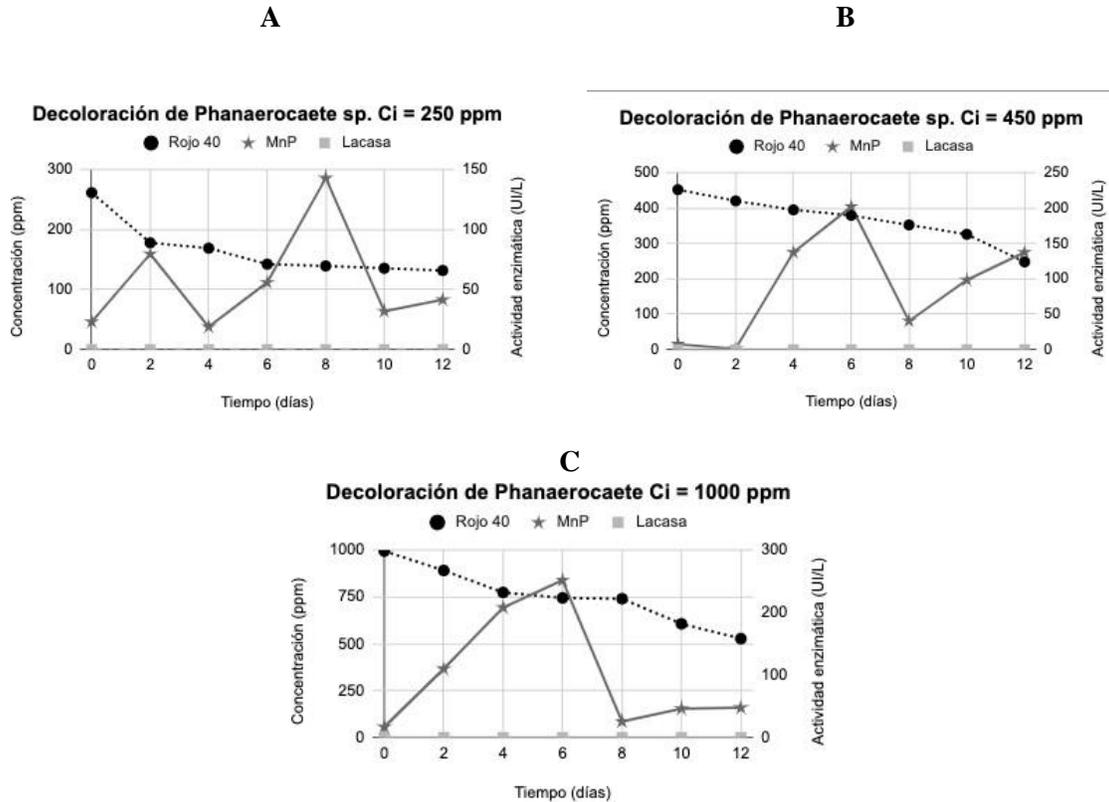
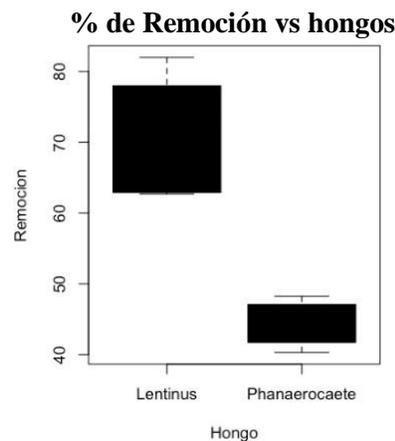


Gráfico 4. Cinética de decoloración de R40 mediada por *Phanerochaete* sp. Partiendo de diferentes concentraciones iniciales A) 250 mg/L B) 450 mg/L C) 1000 mg/L. La línea punteada hace referencia al proceso de decoloración, la línea sólida gris oscura hace referencia a la actividad de la enzima MnP y la línea gris clara hace referencia a la actividad de la enzima Lacasa.

En cuanto a la actividad enzimática, durante el proceso de decoloración mediado por ambos HPB, no se detectó la producción de la enzima lac, en contraste con lo observado en cuanto a la producción de la enzima MnP, la cual se detectó en todos los cultivos y en todas las concentraciones de colorante evaluadas (250,450,1.000 mg/L). Esta dinámica coincide con lo sugerido en estudios previos frente a la producción de enzimas extracelulares durante los procesos de decoloración, sugiriendo que la actividad enzimática está vinculada a aspectos como la cepa de hongo empleada, la composición del medio de cultivo (fuente de carbono y nitrógeno), el pH del medio, la temperatura y la adición de cofactores e inductores, para estimular la producción de enzimas (Cardozo et al. 2018; Tavares, 2020). El uso de glucosa y extracto de malta en el medio de cultivo incrementa la actividad metabólica y la producción de la enzima MnP en cultivos sumergidos inoculados con HPB; aspecto que fue previamente indicado por Jhonsy et.al (2010) quienes observaron una dinámica similar empleando extracto de malta y peptona (0,1%) en los medios de cultivos inoculado con HPB. El extracto de malta es rico en nutrientes, vitaminas, minerales y aminoácidos aromáticos como el triptófano y la tirosina cuya presencia favorece la producción de MnP. Adicionalmente, la peptona actúa como fuente de nitrógeno favoreciendo así la producción de la enzima mencionada. En ambos casos, los cultivos inoculados con los géneros *Lentinus* sp., y *Phanerochaete* sp., exhibieron una alta producción de la enzima MnP durante el proceso de decoloración de R40 en cultivos sumergidos. Otro aspecto que influye en la producción de la enzima MnP es la agitación, en procesos agitados, no se favorece la producción de esta enzima a diferencia de los cultivos en incubación estática. Para el caso particular de este estudio, los cultivos fueron incubados sin agitación lo cual permitió detectar un efecto positivo en cuanto a la cantidad de enzima MnP producida. Los resultados observados en el estudio de Tripathi et.al (2012) donde se comparó la producción de las enzimas Lac y MnP, en

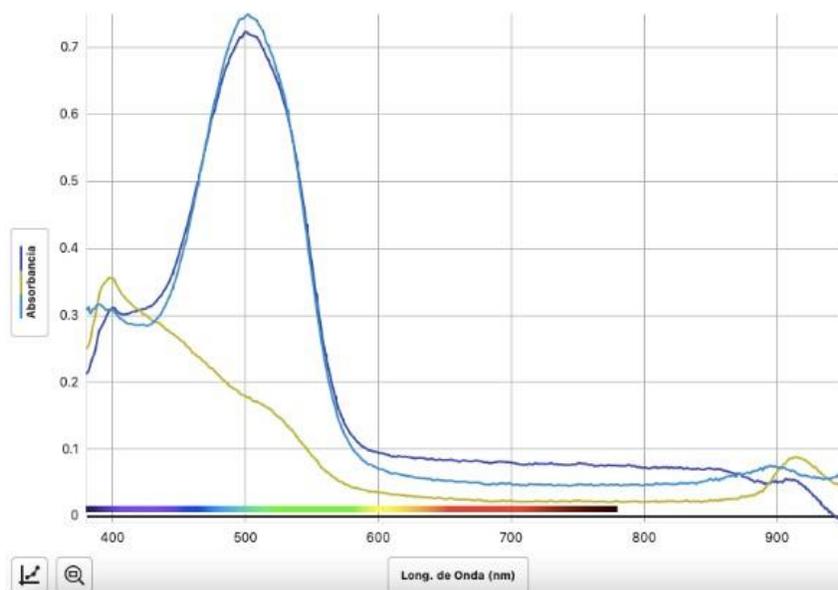
cultivos en estado sólido y cultivos sumergidos sin agitación ambos inoculados con cepas de *Lentinus squarrosulus*, presentan una mayor producción de la enzima MnP en comparación con la enzima Lac, corroborando lo indicado en cuanto a la incidencia de la agitación en la producción de las enzimas. Adicionalmente, con el fin de evaluar si los hongos empleados para el tratamiento y la concentración inicial de colorante tenían un efecto significativo sobre el porcentaje de remoción del colorante R40 se realizó un análisis de varianza (ANOVA) ($p < 0,05$), el cual corroboró la hipótesis planteada, por tanto, ambos, las cepas de hongos y la concentración inicial del colorante inciden en el porcentaje de remoción del colorante R40. Asimismo, los resultados del análisis estadístico exploratorio confirman que la remoción del colorante R40 es mayor en los cultivos sumergidos inoculados con el género *Lentinus* sp., en comparación con el mismo tipo de cultivos inoculado con el género *Phanerochaete* sp. (Gráfica 5).



Gráfica 5. Gráfico de cajas y bigotes referente a la eficiencia de los hongos *Lentinus* sp., y *Phanerochaete* sp., en la decoloración de R40.

Adicional a la determinación del proceso de decoloración, se evaluó por espectrofotometría Uv/Vis los espectros ultravioletas para todos los tratamientos (gráfica 6). Cabe anotar que, para este análisis, se seleccionaron los cultivos inoculados con *Lentinus* sp., en tanto estos presentaron los más altos porcentajes de decoloración. Los espectros generados a partir de los tratamientos inoculados exhibieron algunos cambios en los puntos de absorción en comparación con los espectros obtenidos a partir de los controles abióticos. De estos el más representativo es el que se observó a 400 nm (línea amarilla), sugiriendo posiblemente la formación de subproductos metabólicos como resultado del tratamiento biológico, adicionalmente se observa la reducción del tamaño de la curva del efecto espectro a 504 nm que indica la desaparición del colorante.

Espectro de decoloración de R40



Gráfica 6. Espectro ultravioleta/visible de los tratamientos de R40 mediado por *Lentinus* sp. Línea azul: control del tratamiento línea morada: tratamiento (día 0). Línea amarilla: tratamiento (día 12).

Es importante resaltar la necesidad de desarrollar técnicas analíticas más robusta como cromatografía líquida acoplada a masas, espectroscopía infrarroja o análisis de resonancia magnética, para estudios posteriores, esto con el fin de monitorear las moléculas formadas durante la remoción y posible transformación del colorante y la toxicidad relacionada a las mismas (Almeida et al. 2021).

Conclusión

El aprovechamiento de especies fúngicas autóctonas para el tratamiento de aguas residuales contaminadas es relevante para la implementación de estas en procesos sostenibles de remediación de aguas contaminadas con colorantes. Los HPB aislados mostraron potencial para decolorar el R40, siendo el género *Lentinus* sp., el más eficiente en la remoción del colorante que se alcanza a los 12 días de tratamiento. La eficiencia del proceso de remoción depende, en el caso de los HPB objeto de estudio, de la producción de las enzimas extracelulares, por tanto, la inducción de la actividad enzimática es un aspecto crucial para alcanzar la eficiencia de remoción del colorante en el medio. De las enzimas evaluadas la MnP es la que se produce en mayor concentración en cultivos estáticos, lo que coincide con los datos encontrados en estudios previos y vincula a la enzima MnP como la directamente responsable del proceso de decoloración. Lo que se complementa además con los espectros UV-VIS observados que sugieren la formación de un producto intermediario durante el proceso de decoloración. Aun así, es necesario tener en cuenta a la hora de implementar este tipo de procesos los posibles subproductos generados durante el tratamiento y la posible toxicidad derivada de los mismos, por tanto, es importante realizar un monitoreo constante y reconocer las rutas de transformación biológica de estos compuestos contaminantes.

Referencias:

- Almeida, A. P., Macrae, A., Ribeiro, B. D., et al. (2021). Decolorization and detoxification of different azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 under submerged fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(2), 727–738.
- Amaringo Villa, F. A., & Hormaza Anaguano, A. D. S. (2018). Adsorción de rojo 40 sobre

- cascarilla de arroz: determinación del equilibrio, cinética y termodinámica. *Tecnura*, 22(56), 13–28.
- Astha, Tripathi., R., C., Upadhyay., Surendra, Singh. (2012). Extracellular Ligninolytic Enzymes in *Bjerkandera adusta* and *Lentinus squarrosulus*. *Indian Journal of Microbiology*, 52(3):381-387.
 - Barciela, P., Perez-Vazquez, A., & Prieto, M. A. (2023). Azo dyes in the food industry: Features, classification, toxicity, alternatives, and regulation. *Food and Chemical Toxicology*, 178, 113935.
 - Barrios-Ziolo, L. F., Gaviria-Restrepo, L. F., Agudelo, E. A., & Cardona-Gallo, S. A. (2015). Tecnologías para la remoción de colorantes y pigmentos presentes en aguas residuales: Una revisión. *DYNA*, 82(191), 118-126.
 - Bayburt, C., Karaduman, A. B., Yenice Gürsu, B., Tuncel, M., & Yamaç, M. (2019). Decolourization and detoxification of textile dyes by *Lentinus arcularius* in immersion bioreactor scale. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(6), 647-660.
 - Ben Slama, H., Chenari Bouket, A., Pourhassan, Z., Alenezi, F. N., Silini, A., Cherif-Silini, H., Oszako, T., Luptakova, L., Golińska, P., & Belbahri, L. (2021). Diversity of synthetic dyes from textile industries, discharge impacts and treatment methods. *Applied Sciences*, 11(14), 6255.
 - Benkhaya, S., M'rabet, S., & El Harfi, A. (2020). A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes. *Inorganic Chemistry Communications*, 115, 107891.
 - Boguniewicz-Zablocka, J., Klosok-Bazan, I., Callegari, A., & Capodaglio, A. G. (2020). Snack-food industry effluent pre-treatment for annatto dye and yeast removal: Process improvement for effectiveness and sustainability. *Journal of Cleaner Production*, 277, 124117.
 - Castillo, A., Vall, P., Garrido-Baserba, M., Comas, J., & Poch, M. (2017). Selection of industrial (food, drink and milk sector) wastewater treatment technologies: A multi-criteria assessment. *Journal of Cleaner Production*, 143, 180-190.
 - De Almeida, A. P., Macrae, A., Ribeiro, B. D., et al. (2021). Decolorization and detoxification of different azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 under submerged fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(2), 727–738.
 - Dinh Giap, V., Huu Nghi, D., Huu Cuong, L., & Thu Quynh, D. (2022). Lignin peroxidase from the white-rot fungus *Lentinus squarrosulus* MPN12 and its application in the biodegradation of synthetic dyes and lignin. *BioResources*, 17(3), 4480-4498.
 - Dos Santos Filho, J. R., da Silva Santos, É., Linde, G. A., Colauto, N. B., Gonçalves, R. A. C., & de Oliveira, A. J. B. (2023). *Lentinus crinitus*: Traditional use, phytochemical and pharmacological activities, and industrial and biotechnological applications. *Food Research International*, 172, 113179.
 - Gaviria-Arroyave, M. I., Osorio-Echavarría, J., & Gómez-Vanegas, N. A. (2018). Evaluating the scale-up of a reactor for the treatment of textile effluents using *Bjerkandera* sp. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (88), 80-90.
 - Herath, I. S., Udayanga, D., Jayasanka, D. J., & Hewawasam, C. (2024). Textile dye decolorization by white rot fungi – A review. *Bioresource Technology Reports*, 25, 101687.
 - Hultberg, M., & Golovko, O. (2024). Use of sawdust for production of ligninolytic enzymes by white-rot fungi and pharmaceutical removal. *Journal of Environmental Biotechnology*,

- 17(3), 220-230.
- Kijpornyongpan, T., Schwartz, A., Yaguchi, A., & Salvachúa, D. (2022). Systems biology-guided understanding of white-rot fungi for biotechnological applications: A review. *iScience*, 25(7), 104640.
 - Legorreta-Castañeda, A. J., Lucho-Constantino, C. A., Beltrán-Hernández, R. I., Coronel-Olivares, C., & Vázquez-Rodríguez, G. A. (2020). Biosorption of water pollutants by fungal pellets. *Water*, 12(4), 1155.
 - Madariaga-Mazón, A., Hernández-Alvarado, R., Noriega-Colima, K., Osnaya-Hernández, A., & Martínez-Mayorga, K. (2019). Toxicity of secondary metabolites. *Physical Sciences Reviews*, 4(12), 20180116.
 - Menezes, G. dos S., Carvalho, T. A. de ., Almeida, W. dos S., Sussuchi, E. M., Viégas, P.
 - Marino, R. H (2017). Bioremediation potential of filamentous fungi in methylene blue: Solid and liquid culture media. *Ciência E Agrotecnologia*, 41(5), 526–532. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017415002917>
 - Mora Bonilla, K. Y. (2021). Degradación del colorante rojo allura en solución acuosa mediante un proceso avanzado de oxidación. Universidad Nacional de Colombia- Sede Manizales, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química. Manizales.
 - Nabeela, Khan, S. A., Mehmood, S., Bin Shabbir, S., Ali, S., Alrefaei, A. F., Albeshr, M. F., & Hamayun, M. (2023). Efficacy of fungi in the decolorization and detoxification of Remazol Brilliant Blue dye in aquatic environments. *Journal of Environmental Science*, 15(2), 123-134.
 - O'Dell, T. E., Lodge, D. J., & Mueller, G. M. (2004). Approaches to sampling macrofungi. In G. M. Mueller, G. F. Bills, & M. S. Foster (Eds.), *Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods* (pp. 163-168). San Diego, CA: Elsevier Academic Press.
 - Pecková, V., Legerská, B., Chmelová, D., et al. (2021). Comparison of efficiency for monoazo dye removal by different species of white-rot fungi. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 18(1), 21–32.
 - Salazar-López, M., Rostro-Alanis, M. d. J., Castillo-Zacarías, C., et al. (2017). Induced Degradation of Anthraquinone-Based Dye by Laccase Produced from *Pycnoporus sanguineus* (CS43). *Water Air Soil Pollution*, 228, 469
 - Santana, M. D. F., Couceiro, S. R. M., & Lara, T. S. (2023). Biodegradation and reduction of toxicity of Azo Trypan Blue dye by Amazonian strains of gasteroid fungi (Basidiomycota). *Journal of Environmental Biotechnology*, 12(3), 145-156.
 - Santillán Espinoza, F. A., & Maza Mejía, I. M. (2018). Remoción de colorantes azoicos rojo allura (rojo 40) mediante el uso de perlas de quitosano magnetizadas en medio acuoso. *Revistade la Sociedad Química del Perú*, 84(1), 18-26.
 - Tadesse, H., Kebede, T., & Mekonnen, Y. (2020). Azo dye toxicity in the aquatic environment: Assessment and remediation strategies. *Environmental Chemistry Letters*, 18(5), 1543-1557.
 - Tavares, M. F., Avelino, K. V., Araújo, N. L., et al. (2020). Decolorization of azo and anthraquinone dyes by crude laccase produced by *Lentinus crinitus* in solid state cultivation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(1), 99–106
 - U.S. Food and Drug Administration - FDA. (2021). Report on the Certification of Color Additives: 2nd Quarter, Fiscal Year 2021, January 1-March 31.
 - Zhuo, R., Fan, F., et al. (2021). A comprehensive insight into the application of white rot

fungi and their lignocellulolytic enzymes in the removal of organic pollutants. *Science of The Total Environment*, 778, 146132.

Tratamiento biológico mediado por *Lentinus* sp. para la remoción de Rojo 40 de un efluente industrial en un biorreactor operado en lote

Introducción.

La actividad industrial es la base para la producción y el desarrollo económico, sin embargo, inevitablemente conlleva a la generación de residuos contaminantes cuya composición es variable dependiendo de la actividad productiva y que, a menudo, se liberan en las aguas residuales (Mostacero et al. 2020). Las industrias textil y alimentaria en particular descargan efluentes contaminados con elevadas concentraciones de colorantes, que son aplicados a los productos con el objetivo de conferirles atractivo visual para los consumidores (Samsami et al. 2020; Biswal et al. 2022). Los colorantes poseen un rango de fijación entre 65-80 % para la industria textil y del 90 % para la industria alimentaria, liberándose a través de las aguas residuales un rango entre el 10- 45 % de colorantes no fijados en el proceso productivo para ambas industrias (Gurbuz et al. 2019 y Salem et al. 2019).

Los colorantes tipo azo son uno de los grupos de colorantes más utilizados, estos se caracterizan porque su grupo cromóforo está conformado por enlaces R-N=N-R (enlaces azo) y los grupos funcionales contienen grupos amino, hidroxilo o sulfonilo, que les otorgan propiedades anfóteras; son molecular y químicamente versátiles, de bajo costo y fácilmente accesibles, siendo ampliamente utilizados en la industria textil y alimentaria (Barciela et al. 2023). El colorante Rojo 40 (R40) pertenece al grupo de colorantes azoicos y se usa con frecuencia en los sectores industriales mencionados. Se ubica en el grupo de los monoazos, es ácido y posee una estructura aromática constituida por tres anillos bencénicos (Moreno et al. 2012; Bojallil et al. 2021). Esta molécula se emplea generalmente en la fabricación de bebidas gaseosas, productos lácteos y repostería, siendo su presencia asociada a algunos efectos sobre la salud humana que incluyen reacciones alérgicas e hiperactividad en niños, de tal forma que su consumo no es recomendado para la población infantil en algunos países de Europa (Soylak et al. 2011; Santillán et al. 2018)

De forma general, la descarga de colorantes en los cuerpos de agua puede generar efectos tóxicos en los ecosistemas y la salud humana, la liberación de bajas concentraciones de colorantes en cuerpos de agua puede cambiar la calidad del líquido, alterar el pH, disminuir el paso de la luz a través de la columna de agua y cambiar el color natural del cuerpo de agua (Cellis et al. 2019; Gaviria-Arroyave et al. 2018). En el caso de los colorantes tipo azo por su naturaleza química, una vez en contacto con el agua pueden generar aminas aromáticas, asociadas a la ocurrencia de mutaciones genéticas en microorganismos y organismos superiores (Gaviria-Arroyave et al. 2018); Algunos de los efectos ecotoxicológicos de los vertimientos industriales contaminados con el colorante R40 han sido evidenciados en algunos organismos como larvas de *Daphnia* sp., disminuyendo su movilidad, y la microalga *Selenastrum* sp., afectando la duplicación celular de este organismo (Barrios et al. 2017). En la búsqueda de alternativas para reducir el impacto causado por los vertimientos contaminados con colorantes de tipo azo se han propuesto distintas estrategias dentro de las cuales se incluyen tratamientos físicos y químicos como, adsorción con carbón activado, filtración por membrana y procesos de oxidación avanzados; sin embargo, estos tratamientos, tienen un costo elevado de implementación y pueden generar compuestos intermediarios más tóxicos que el colorante parental (Gaviria-Arroyave et al. 2018; Osorio et al. 2018). Una propuesta alternativa es la micorremediación utilizando hongos de la podredumbre blanca (HPB), los cuales han sido frecuentemente empleados en procesos de biorremediación debido a que poseen un complejo multienzimático extracelular con actividad no específica: lacasa (Lac), manganeso peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP). Los hongos de la podredumbre blanca utilizan estas enzimas para degradar moléculas complejas como la lignina y la celulosa de la madera; razón por la cual se han convertido

en el foco de estudios para evaluar su capacidad de degradar polímeros similares, compuestos aromáticos, colorantes sintéticos, entre otros (Montoya et al. 2015). Las cepas comúnmente utilizadas para el tratamiento de compuestos recalcitrantes pertenecen a los géneros *Phanerochaete* sp., *Trametes* sp. y *Schizophyllum* sp., reconocidos todos por su efectividad en la degradación de celulosa y lignina (Montoya et al. 2015).

Las estrategias de biorremediación basadas en la utilización de hongos para el tratamiento de aguas residuales coloreadas incluyen, la adición de enzimas lignolíticas purificadas al agua contaminada con colorantes para favorecer el proceso de degradación (Shi et al. 2021), o el empleo de un cultivo activo del organismos seleccionado para el tratamiento; siendo este último más ventajoso en la medida que se elimina el proceso de purificación enzimática, que tiene elevados costos (Chmelová et al. 2022), y permite que el metabolismo del hongo participe en los procesos de oxidación del colorante utilizando enzimas intracelulares, como es el caso de las enzimas producidas por el sistema citocromo p450 (Kijpornyongpan et al. 2022). La elección de la biomasa fúngica activa para la realización de procesos de biorremediación de aguas residuales, es crucial para la selección adecuada del tipo de biorreactor, ya que el mecanismo de funcionamiento incide directamente en el éxito del proceso evitando la ocurrencia de problemas operacionales comunes como: 1) el desarrollo no deseado del micelio del hongo en las paredes del recipiente o en los agitadores del reactor, 2) necesidad de mayor adición de nutrientes y 3) prolongados tiempos de retención hidráulica lo que se traduce en mayores costos operacionales (Sośnicka et al. 2022). Los reactores inoculados con biomasa fúngica inmovilizada y operados en lote, se han configurado como una alternativa viable y eficiente para favorecer los procesos de transformación y remoción de estos contaminantes en el tratamiento de aguas residuales industriales con contaminantes emergentes, este tipo de sistemas favorecen la actividad metabólica de la biomasa fúngica por un mayor tiempo y evitan la necesidad de adición constante de nutrientes (Mir-Tutusaus et al. 2020). No obstante, la mayoría de los procesos de micorremediación de aguas residuales empleando biorreactores se realizan a escala de laboratorio, siendo limitados los datos a una mayor escala (Hossain et al. 2016).

En este contexto, el presente estudio pretende profundizar en el conocimiento aplicado de los procesos de remoción o degradación de colorantes presentes en aguas residuales industriales, empleando dos escalas de un sistema biorreactor estático inoculados con el HPB *Lentinus* sp., inmovilizado en un matriz no convencional (*Luffa cylindrica*) en los que se determinó la eficiencia del proceso de remoción o degradación del colorante R40 y el nivel de toxicidad y calidad del efluente tratado.

METODOLOGÍA

Agua residual a tratar.

El agua residual coloreada proviene del efluente de una empresa de tintes para alimentos y textiles. La concentración del colorante presente en el efluente era de 80 mg/L, la caracterización fisicoquímica indicó la presencia de sólidos en un rango de 17 a 22%, sales entre 25 a 40%, compuestos orgánicos 15 a 25%, un contenido de color entre 30 a 45% y un pH entre 5 y 10. Todos los parámetros se determinaron de acuerdo con el protocolo consignado en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater ed. 24th (APHA 2023),

Selección del HPB a utilizar y preparación del inóculo.

Los ensayos de remoción o degradación se realizaron utilizando como cultivo activo una cepa del HPB *Lentinus* sp., aislado previamente en muestreos realizados en el Valle de Aburrá (Antioquia-Colombia), e identificado según el atlas de Kornerup y Wanscher (1978). La cepa de *Lentinus* sp. se encuentra resguardada en la Colección de Microorganismos de la Escuela de Microbiología CM-EM-UdeA.

La activación y mantenimiento de la cepa se realizó con repiques del micelio del hongo utilizando un sacabocados para obtener un micelio de tamaño 4x4 mm, utilizado para inocular cultivos de agar PDA incubados a 30 °C durante 5 días, y almacenados a 4 °C hasta el momento de su uso.

Diseño y establecimiento del reactor estático

El inóculo de micelio fúngico se preparó previo a la puesta en marcha del reactor, con el fin de obtener la mayor cantidad de biomasa posible. El preinóculo se preparó utilizando micelio del hongo *Lentinus* sp. activado en agar PDA, el cual se transfirió a un Erlenmeyer que contenía 2 L de medio de cultivo extracto de malta comercial (glucosa 13,6g/L, peptona 8 g/L en 1 L de agua). Teniendo en cuenta los resultados obtenidos durante el proceso de evaluación y estandarización de las condiciones de crecimiento óptimas, se adicionó aserrín de pino (30 g/L) al medio de cultivo para favorecer la actividad de las enzimas extracelulares producidas por el hongo (datos sin publicar), el cultivo se incubó a 30 °C sin agitación durante 4 días, al cabo de los cuales se alcanzó un abundante crecimiento de la biomasa del hongo.

Para determinar el sistema reactor más eficiente en aras de llevar a cabo el proceso de remoción del colorante R40, se partió del diseño y evaluación funcional de dos reactores de volumen diferente, uno de 1.5 L y otro de 8 L, este último con un volumen efectivo de 6 L. De forma similar, en el proceso de evaluación y estandarización de las condiciones de cultivo se evaluaron diferentes superficies para inmovilizar el hongo, encontrando que el empleo de *Luffa cylindrica* favorece en gran medida el proceso de remoción. (datos sin publicar). El montaje del sistema se realizó por duplicado, se cortaron dos trozos de un diámetro de 8 cm de la matriz de soporte (*L. cylindrica*), la cual se esterilizó previamente en autoclave a 121°C durante 15 minutos para eliminar cualquier posible contaminación y se introdujo en el reactor, un trozo se ubicó en la superficie del volumen útil del reactor y la otra se ubicó a 2/4 partes del volumen de la columna; a continuación, se adicionaron el medio de cultivo (extracto de malta), el preinóculo y finalmente el agua residual coloreada en proporción hasta alcanzar una concentración total de 80 mg/L en el sistema. El biorreactor operó en lote a 30 °C durante 12 días, sin agitación. Se tomaron muestras de cultivo cada 2 días y se llevaron a refrigeración a 4 °C para su análisis posterior. En la figura 3, se presenta un esquema general del sistema.

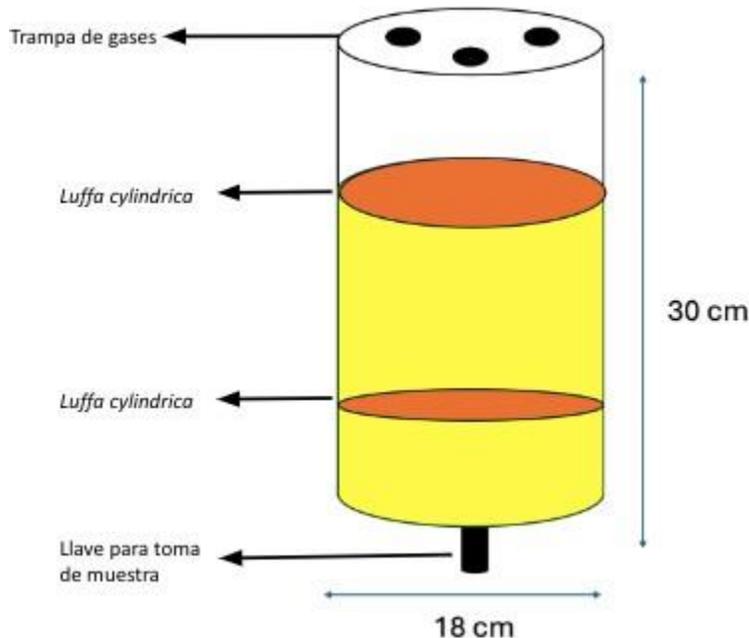


Figura 7. Esquema del diseño del biorreactor estático utilizado para la remoción de R40 de efluentes industriales utilizando *Lentinus* sp. Fuente propia.

Cinética de decoloración durante el tratamiento Durante el funcionamiento del biorreactor se tomaron 5 mL de medio de cultivo cada dos días. Las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos para precipitar la biomasa y recuperar el sobrenadante. Previamente se determinó la longitud de onda apropiada para la lectura de los sobrenadantes del cultivo en el espectrofotómetro para lo cual se evaluó el espectro completo del colorante puro a longitudes de onda entre 350 y 900 nm. Los sobrenadantes se analizaron en un espectrofotómetro UV/vis (Thermo Scientific GENESYS 30) a una longitud de onda de 504 nm. La concentración de R40 remanente se determinó a partir de la curva de cuantificación espectrofotométrica realizada. El porcentaje de decoloración se determinó utilizando la fórmula expresada por Jadhav et al. (2008). (Donde A_i hace referencia a la absorbancia al inicio del proceso y A_t hace referencia a la absorbancia obtenida en el tiempo t).

$$\text{Decoloración (\%)} = \frac{A_i - A_t}{A_i} \times 100$$

Determinación de la actividad enzimática durante el proceso de decoloración.

La actividad de la enzima Lac se determinó utilizando como sustrato 2,2'- azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico, ABTS), siguiendo la metodología descrita por Niku-Paavola et al. (1988). Y la actividad de la enzima MnP se determinó utilizando DMAB/MBTH (ácido 3-dimetilaminobenzoico/ 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona clorhidrato) como sustratos siguiendo el protocolo propuesto por Vyas et al. (1994). Todas las pruebas de la actividad enzimática se realizaron por triplicado.

La actividad enzimática se expresó en Unidades Internacionales (UI), donde una unidad se define como la cantidad de enzima que oxida 1 μmol de sustrato en 1 min (Vyas et al. 1994)

Determinación de la calidad del efluente tratado

La evaluación de la calidad del efluente tratado incluyó la determinación de parámetros como la demanda química de oxígeno (DQO) del cultivo en el biorreactor y la determinación del pH del efluente tratado, de acuerdo con el protocolo consignado en el Standard Methods for the Examination

of Water and Wastewater ed. 24th (APHA 2023).

Ensayos de ecotoxicidad.

El nivel de toxicidad del colorante R40 se determinó mediante una prueba de fitotoxicidad en el efluente no tratado y en el efluente tratado. Las pruebas de toxicidad se realizaron con semillas de *Lactuca sativa* siguiendo la metodología adaptada por Sobrero et al (2004). Un total de 20 semillas de *L.sativa* (de dimensiones similares, color café y que no estuvieran sometidas a aplicación de plaguicidas) en una placa de Petri

, y se adicionaron 4 mL de la solución a evaluar (Efluente del pretratamiento y post tratamiento). Los ensayos se efectuaron por triplicado y como control se empleó agua destilada en lugar de agua residual coloreada. Todas las muestras fueron envueltas individualmente con papel parafilm para evitar la evaporación de la muestra e incubadas a 28 °C en ausencia de luz durante 7 días. Al finalizar el período de incubación, se determinó el porcentaje de germinación de semillas y el crecimiento de la raíz de las semillas germinadas. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Análisis de Resonancia magnética nuclear.

Las muestras se analizaron en el laboratorio del grupo de investigación de sustancias bioactivas de la Universidad de Antioquia; estas se prepararon de la siguiente manera: a 600 µL de muestra líquida (efluente tratado y control abiótico) se le adicionaron 60 µL de buffer fosfato 1.5 M pH 6.2 preparado en agua deuterada. El colorante puro fue preparado a una concentración de 80 µg/mL en agua tipo II de la forma antes descrita. Los análisis se realizaron en un equipo de resonancia magnética nuclear de 600 MHz Bruker (Avance HD III, BioSpin) con una sonda fría TCI de 5 mm y 300 K. Los espectros fueron adquiridos con una longitud de pulso de 90° e irradiación de radiofrecuencia óptima de baja potencia para la presaturación de la señal de agua.

Análisis estadísticos.

Los tratamientos se realizaron por triplicado y todos fueron analizados. Los datos se expresaron como los promedios ± desviación estándar. Adicionalmente, se aplicó un análisis de varianza ANOVA para determinar las diferencias significativas entre los valores medios de los tratamientos, teniendo en cuenta el valor p obtenido para un nivel de significancia de 0,05

Resultados y discusión:

Decoloración de Rojo 40 mediada por *Lentinus* sp., y determinación de actividad enzimática.

El tratamiento del efluente contaminado se llevó a cabo en un reactor estático diseñado de acuerdo con los resultados obtenidos en ensayos previos realizados por el grupo de investigación (datos sin publicar), donde se estableció el uso de *Luffa cylindrica* como matriz para soporte del micelio fúngico, en este caso de *Lentinus* sp. Esta matriz es una esponja natural, con alto contenido de lignina, de bajo costo y fácil de manipular (Golebiowska et al. 2022); tiene una ventaja estructural que favorece la colonización e inmovilización de la biomasa fúngica sobre su superficie al tiempo que tiene una baja absorción de colorantes lo que la hace ideal para este tipo de tratamiento (Gaviria-Arroyave et al. 2018).

En primera instancia se evaluó el porcentaje de remoción de colorante R40 en el reactor de 1,5 L, este tratamiento se estableció por duplicado y se alcanzó un porcentaje de remoción del 73,3 % en 12 días. Estudios previos conducidos en reactores pequeños con biomasa fúngica de HPB inmovilizada han obtenido resultados favorables para la decoloración de colorantes, Pazarlioglu et al. (2005) obtuvieron un 95% de decoloración utilizando este tipo de reactores para remover el colorante azo azul directo (20 mg/L), utilizando biomasa inmovilizada de *Phanerochaete chrysosporium*. Asimismo, De forma similar, Hong et al (2017), obtuvieron una remoción de 68 % y 38 % para los colorantes azo colorante rojo reactivo y negro reactivo utilizando *Bjerkandera* sp., en 24 horas en un reactor tipo airlift durante 30 días de tratamiento. Es claro que la eficiencia del tratamiento depende entre otros de la concentración y estructura de la molécula colorante, y del género de hongo empleado para el proceso; no obstante, es posible indicar la efectividad de la estrategia biotecnológica empleada que en todos los casos es un sistema biorreactor .

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos a escala 1,5 L, se planteó la realización del proceso en un reactor de 6 L. La imagen 1, presenta la configuración de los reactores de 6 L utilizados para el tratamiento del efluente industrial contaminado con R40.



Imagen 1. Biorreactores utilizados para el tratamiento del efluente contaminado con R40 previo a la adición de colorante e inoculación con el hongo. Fuente propia.

El porcentaje de remoción de R40 detectado en el reactor con volumen de 6 L fue de 51 % (38 mg/L) de una concentración inicial de 80 mg/L, después de 12 días de tratamiento (gráfica 7). La diferencia en el porcentaje de remoción en los reactores evaluados, 1,5 L y 6 L, se atribuyen en primera instancia puede al aumento de volumen, que entre otras cosas dificulta la homogeneidad en el sistema generando posibles disminuciones en las eficiencias (Doran, 1998). Sistemas con volúmenes similares (6 L) han alcanzado porcentajes de remoción de colorantes azo (azul mordiente 9 y rojo directo 80 cada uno con concentración de 50 mg/L) entre el 77 % y 95 % utilizando *Phanerochaete chrysosporium* en un reactor de tambor rotatorio de 5 L durante 24 horas (Pakshirajan et al. 2010), y 69% de remoción para el azul índigo utilizando biomasa inmovilizada *Bjerkandera* sp. en un biorreactor de 5 L (Gaviria-Aroyave et al 2018).

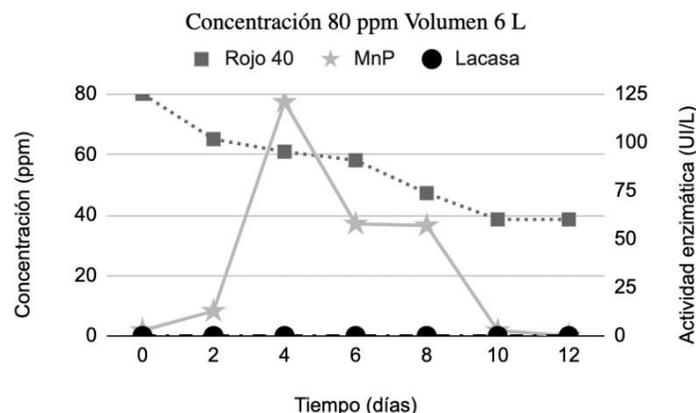


Gráfico 7. Cinética de decoloración de R40 mediada por *Lentinus* sp., partiendo de la concentración inicial de 80 mg/L. La línea punteada hace referencia al proceso de decoloración, la línea sólida gris oscura hace referencia a la actividad de la enzima MnP y la negra hace referencia a la actividad de la enzima Lac.

La determinación de las enzimas extracelulares producidas durante el proceso de decoloración, mostraron una concentración máxima 120 U/L de la enzima MnP al cabo de cuatro días de funcionamiento del sistema. En contraste, no se detectó la producción de la enzima Lac en ninguna de las muestras evaluadas. Esta dinámica enzimática es similar a la observada previamente en el proceso de evaluación y estandarización realizado (datos no mostrados). Estos resultados sugieren que el proceso de decoloración de R40 está influenciado por la presencia de la enzima MnP. Un estudio realizado en condiciones similares, (decoloración mediada por HPB en un reactor estático), no detectó producción de la enzima Lac, indicando que la producción de esta enzima se ve influenciada por la presencia de subproductos que inhiben el sitio activo de la enzima provenientes del proceso de decoloración y degradación de la fuente de carbono del tratamiento propuesto. (Ramadhan et al. 2021) En el caso particular de cultivos inoculados con *Lentinus* sp., se ha observado que en procesos de fermentación en estado sólido se favorece la producción de la enzima Lac, en comparación con los procesos de fermentación sumergida donde se detecta una mayor producción de la enzima MnP (Bayburt et al. 2019); lo que coincide con los resultados encontrados en el presente estudio donde la enzima detectada es la MnP.

La eficiencia del proceso de decoloración está influenciada por la estructura del colorante y por las enzimas secretadas durante el tratamiento. El porcentaje de decoloración observado en este caso se atribuye a la actividad de la enzima MnP detectada a partir del día 2 de la puesta en marcha del biorreactor. La enzima MnP es una proteína peroxidasa con un sitio activo fuerte para la unión con productos de alta complejidad molecular destacando la capacidad de eliminación de este tipo de compuestos (Rahjans et al. 2023). Los datos encontrados en la literatura revisada sugieren la capacidad de la enzima MnP para oxidar el enlace azo de los colorantes lo que favorece la remoción de diferentes colorantes tipo azo como el amaranto, negro reactivo 5 y amarillo cibacrón, alcanzando porcentajes de remoción de 95, 76 y 46 % respectivamente, (Rekik et al. 2019).

Para el caso del presente estudio, la mayor concentración de enzima (120 UI) se detectó el día 4, en los días sucesivos de cultivo se observó la disminución de la concentración de la enzima hasta el final de tratamiento. Sin embargo, en este sistema la decoloración la reducción más alta en la concentración de R40 se observó al día 2 (60 mg/L) con una concentración de MnP de 12.9 UI. Gaviria-Arroyave et al. (2018) describieron una dinámica similar, con un porcentaje de remoción del 69% y una baja actividad de las enzimas extracelulares; indicando que la cantidad de enzima secretada no está directamente relacionada con la eficiencia del proceso de decoloración; hipótesis soportada por Alam et al. (2023) quienes plantean que no es posible correlacionar en todos los casos la eliminación de

colorante con la actividad enzimática de los HPB.

Calidad del efluente tratado.

La calidad del efluente final, obtenido como resultado del proceso de remoción en el biorreactor inoculado con *Lentinus* sp., se estableció en términos de remoción de materia orgánica. La concentración de DQO detectada en el efluente al finalizar el tratamiento fue de 253,75 mgO/L, lo que indica una remoción del 99 % de materia orgánica con respecto a la concentración inicial de DQO detectada (27.875 mgO/L). Durante el periodo de funcionamiento del sistema, se midió el pH con valores detectados entre 6,75-7.

La micorremediación se ha visto como una alternativa efectiva para la remoción no solo de color de las aguas residuales, también de la materia orgánica (en términos de DQO) mejorando la calidad de los efluentes tratados, En este sentido, Arikan, et al. (2019) utilizaron hongos de los géneros *Aspergillus* sp., y *Penicillium* sp., para la remoción de colorantes y materia orgánica de un efluente de la industria textil tratado en un reactor de lecho fluidizado operado en lote y con inmovilización de la biomasa en esponjas artificiales con macro poros. El porcentaje de remoción de DQO fue del 70%. Los resultados obtenidos por en el estudio de Arikan et al. 2019 y los obtenidos en el presente estudio, demuestran que los procesos de mediados por HPB para el tratamiento de aguas residuales contaminadas, representan alternativas viables para mejorar la calidad de los efluentes tratados. En el marco de la normativa ambiental en Colombia, el efluente después del tratamiento es apto para la descarga, pues este contempla valores de DQO en un rango entre 200 a 400 mgO/L y un rango de pH entre 6 a 9 unidades. (Resolución 0631 de 2015, MinAmbiente).

Ensayos de ecotoxicidad

La determinación de los niveles de toxicidad en los efluentes de descarga es un aspecto importante para asegurar la calidad del agua a descargar (Selim et al. 2021). Las pruebas de fitotoxicidad que contemplan la germinación de semillas y elongación de la raíz son los más simples y representativos para determinar la acción tóxica de un compuesto (De Oliveira et al. 2018). En la tabla 6, se presentan los resultados de los ensayos de ecotoxicidad realizados en el efluente del tratamiento realizado en el biorreactor estático.

Tabla 6. Resultados de toxicidad del efluente. Los valores presentados corresponden a los promedios de los resultados obtenidos durante los ensayos +/- la desviación estándar.

Tratamiento	Porcentaje de germinación de semillas (%)	Crecimiento radicular (cm)
Control (Agua destilada)	100	1,83 ± 0,88
Efluente sin tratamiento (80 mg/L de R40)	30	1,33 ± 0,93
Efluente post tratamiento (38 mg/L de R40)	45	1,46 ± 0,99

El efluente sin tratamiento con mayor concentración de colorante (80 mg/L) presentó una menor tasa de germinación de semillas (30 %) en comparación con el efluente después de ser tratado en el biorreactor inoculado con *Lentinus* sp. (45 %). De acuerdo con estos resultados, la toxicidad del efluente final disminuyó en un 15 % indicando el tratamiento biológico con *Lentinus* sp., no produce

un aumento de la toxicidad del efluente tratado en comparación con el efluente inicial. Estudios relacionados con la remoción de colorantes de efluentes industriales mediada por HPB demuestran que, si bien se logra la disminución de la fitotoxicidad del efluente, en la mayoría de los casos no es posible disminuir la toxicidad del efluente final en un 100 % esto debido a la posible formación de subproductos generados por los hongos durante el tratamiento del colorante (Almedia et al. 2021; He et al. 2018; Mota et al. 2015)

En cuanto al crecimiento radicular de las semillas, el efluente sin tratar presentó una longitud promedio de 1,33 cm y el efluente tratado en el biorreactor presentó una longitud promedio de 1,46 cm. El análisis de varianza (ANOVA) realizado no evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$); indicando que pese a existir una reducción en la toxicidad en el cultivo tratado en el biorreactor, la eficiencia de remoción del colorante y la disminución de la DQO no tienen ningún efecto en el desarrollo de las semillas. Resultados similares fueron indicados por Almedia et al. (2021), quienes evaluaron la remoción de diferentes colorantes azo (Amarillo directo 27, negro reactivo 5, rojo reactivo 10), utilizando el hongo *Phanerochaete chrysosporium*, las pruebas de toxicidad realizadas en el efluente después del tratamiento no presentaron diferencias significativas. Asimismo, Mota et al. (2015) realizaron un tratamiento biológico para remover el colorante rojo congo utilizando *Ganoderma lucidum*, los resultados no evidenciaron diferencias significativas en cuanto a la reducción de la toxicidad, determinada por la elongación de las semillas germinadas en los ensayos de fitotoxicidad. En este caso, los autores atribuyeron este fenómeno a la posible formación de subproductos después de la biotransformación de rojo congo, sugiriendo que la ausencia de color no se traduce necesariamente en la ausencia total de toxicidad en el efluente tratado.

Hasta el momento, no se encuentra información relacionada con la toxicidad del colorante R40 y los subproductos formados durante su proceso de transformación biológica mediada por hongos. La ausencia de esta información sustenta además la realización de estudios toxicológicos para determinar el impacto ecotoxicológico de los compuestos generados y sus posibles efectos adversos, bioacumulación o biomagnificación, comprobados en otro tipo de contaminantes (Naiuda et al. 2016).

Análisis de subproductos por resonancia magnética nuclear

En la figura 8 se presenta el espectro de NMR-1H del colorante R40 sin tratamiento y la asignación de las señales observadas en la molécula de colorante. En el espectro se observa la presencia de todos los protones esperados de acuerdo con la estructura química del colorante.

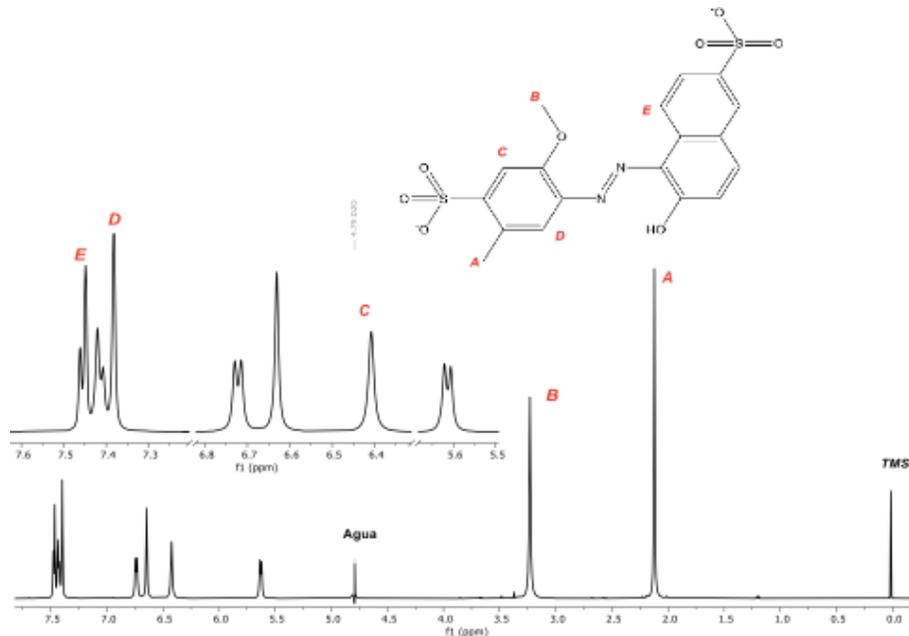


Figura 8. Espectro NMR-1H para el colorante R40.

La figura 9 muestra los resultados de NMR-1H de 2 muestras tomadas durante el tratamiento (días 4 y 12 de incubación) comparadas con el espectro para el colorante sin tratamiento. Como respuesta a la disminución de la señal del colorante (identificada entre 7.50 y 7.35 mg/L) es posible indicar la aparición de 2 nuevas señales entre 7.35 y 7.30 mg/L los cuales pueden estar asociados a los protones nuevos que adquiere la estructura después de la reducción del grupo azo mediada por *Lentinus* sp. El espectro observado sugiere el rompimiento del grupo azo de la molécula, generando 2 posibles subproductos de degradación del colorante.

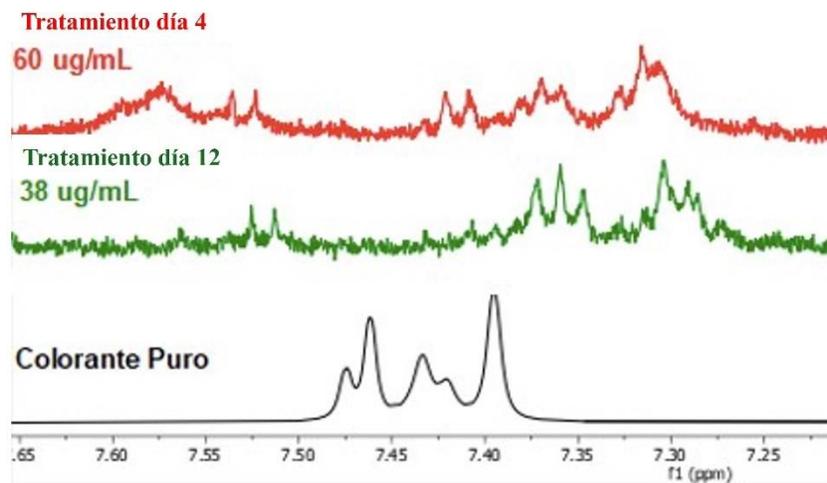


Figura 9. Espectro NMR-1H la línea roja representa el espectro para la muestra tomada luego de 4 días de incubación, la línea verde representa el espectro para la muestra final del tratamiento (12 días de incubación) y la línea negra representa el efluente sin tratamiento.

En la figura 10, se presenta la estructura química probable de los productos intermedios formados

a partir del colorante R40 durante el proceso de remoción del colorante mediado por el HPB *Lentinus* sp. Los hidrógenos resaltados en color rojo corresponden a las señales nuevas de protones que aparecen en el espectro.

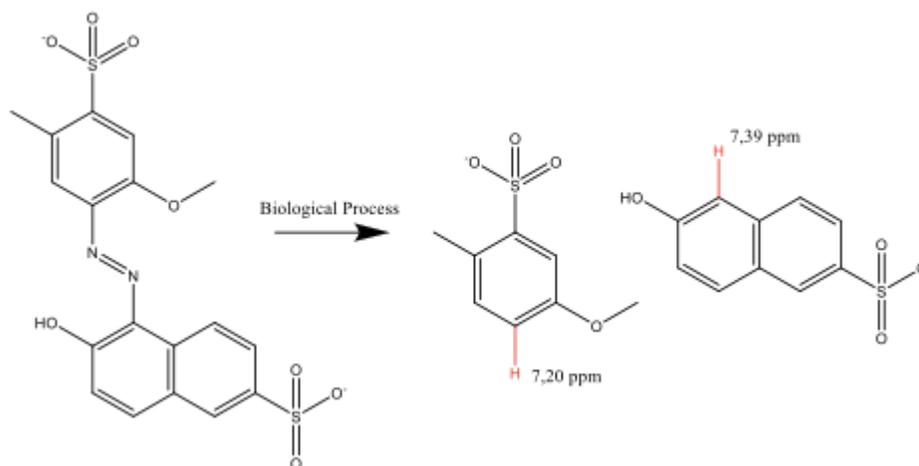


Figura 10. Esquema de biotransformación de la molécula de colorante rojo 40 a través del rompimiento del enlace azo mediado por la acción biológica del hongo *Lentinus* sp.

Es importante resaltar el rompimiento del enlace azo que conforma el cromóforo de la molécula, atribuido a la acción de las enzimas extracelulares; en este caso a la actividad enzimática de la MnP detectada durante el proceso, lo que favorece la pérdida de color (Liu et al. 2020). El estudio realizado por Qin et al. (2024) obtiene resultados similares en un proceso de biodegradación del colorante azo naranja reactivo 16 mediado por *Aspergillus flavus*, los investigadores destacan la acción de las enzimas extracelulares no específicas de hongos lignocelulósicos para el rompimiento de los enlaces azo. De forma similar, en el estudio conducido por Alam et al. (2023), se determinaron las posibles rutas de degradación de colorantes azo (azul reactivo 5, azul ácido 113 y naranja ácido 7) mediada por el HPB *Trametes hirsuta*, los resultados permitieron establecer que la transformación de la molécula de los 3 colorantes evaluados inicia por la oxidación enzimática de los enlaces azo. Los estudios mencionados presentan resultados similares a los encontrados en el presente estudio; refiriendo la transformación de la molécula colorante en compuestos como aminas aromáticas; sin alcanzar la completa mineralización. Lo anterior, se traduce básicamente en la pérdida de color en el agua coloreada después del tratamiento en el reactor inoculado con *Lentinus* sp., y la leve disminución de la toxicidad de los efluentes tratados.

En la literatura revisada se encuentra un reporte sobre las de rutas de degradación del colorante puro R40 (Kale et al 2014), por la bacteria *Ochrobactrum anthropi*, la ruta de degradación propuesta indica un rompimiento inicial del enlace azo y posterior formación de 2 aminas aromáticas hasta llegar a la completa mineralización del colorante luego de 24 horas de tratamiento a una concentración de 10 g/L. Al respecto de la degradación de R40 empleando HPB, no se han encontrado reportes previos por tanto los resultados del presente estudio constituyen un acercamiento que aporta información sobre la eficiencia de la remoción o degradación del colorante R40 mediada por el hongo *Lentinus* sp., así como, fuertes indicios sobre la formación de productos intermedios durante este proceso.

Conclusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten concluir que el *Lentinus* sp., es un organismo eficiente para la implementación de procesos de biorremediación para la eliminación del colorante

R40 de efluentes de aguas residuales no domésticas en volúmenes medios (6 L), mostrando la transformación del colorante R40 en aminas aromáticas lo que favorece la disminución de la toxicidad en el efluente tratado. Asimismo, se requiere la exploración de otros factores que permitan optimizar el tratamiento como la determinación de la concentración mínima inhibitoria de R40 sobre *Lentinus* sp., y profundizar en el conocimiento de las rutas metabólicas empleadas por *Lentinus* sp. en la transformación de R40 mediada por HPB.

Asimismo, se propone como perspectiva la realización de estudios que incluyan el escalado del proceso de tratamiento a para su implementación estrategia biotecnológica de tratamiento de aguas en sectores de interés; y la continuidad en el desarrollo de estudios ecotoxicológicos de los colorantes utilizando para esto especies autóctonas, sirviendo esta información como punto de partida para la creación de futuras regulaciones relacionadas con este tipo de contaminantes.

Referencias:

- Almeida, A. P. de, Macrae, A., Ribeiro, B. D., & do Nascimento, R. P. (2021). Decolorization and detoxification of different azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 under submerged fermentation. *Journal of Environmental Biotechnology*, 18(2), 150-160.
- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Lipps WC, Braun-Howland EB, Baxter TE, eds. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 24th ed. Washington DC: APHA Press; 2023
- Arikan, E. B., Isik, Z., Bouras, H. D., & Dizge, N. (2019). Investigation of immobilized filamentous fungi for treatment of real textile industry wastewater using up flow packed bed bioreactor. *Bioresource Technology Reports*, 7, 100197.
- Barciela, P., Perez-Vazquez, A., & Prieto, M. A. (2023). Azo dyes in the food industry: Features, classification, toxicity, alternatives, and regulation. *Food and Chemical Toxicology*, 178, 113935.
- Barrios Ziolo, L. F., Gaviria Restrepo, L. F., Agudelo, E. A., & Cardona Gallo, S. A. (2016). Estudio de la toxicidad asociada al vertimiento de aguas residuales con presencia de colorantes y pigmentos en el área metropolitana del Valle de Aburrá. *Revista EIA*, (26), 61-74.
- Bayburt, C., Karaduman, A. B., Yenice Gürsu, B., Tuncel, M., & Yamaç, M. (2020). Decolourization and detoxification of textile dyes by *Lentinus arcularius* in immersion bioreactor scale. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(3), 945–958.
- Biswal, A. K., Sahoo, M., Suna, P. K., Panda, L., Lenka, C., & Misra, P. K. (2022). Exploring the adsorption efficiency of a novel cellulosic material for removal of food dye from water. *Journal of Molecular Liquids*, 350, 118577.
- Bojalil Carrillo, J., Hernández Flores, M. F., & Segura López, L. R. (2021). Tecnologías microbianas de remoción de colorantes azoicos en la industria textil. *RD-ICUAP*, 7(20), 186-201.
- Chmelová, D., Legerská, B., Kunstová, J., et al. (2022). The production of laccases by white-rot fungi under solid-state fermentation conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38, 21. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03207>
- De Oliveira, G. A. R., Leme, D. M., de Lapuente, J., Brito, L. B., Porredón, C., Rodrigues, L. de B., Brull, N., Serret, J. T., Borràs, M., Disner, G. R., Cestari, M. M., & de Oliveira, D.

- P. (2023). A test battery for assessing the ecotoxic effects of textile dyes. *Journal of Environmental Toxicology*, 35(4), 250-265.
- Gaviria-Arroyave, M. I., Osorio-Echavarría, J., & Gómez-Vanegas, N. A. (2018). Evaluating the scale-up of a reactor for the treatment of textile effluents using *Bjerkandera* sp. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (88), 80-90.
 - Gołębiowska, A., & Knotek, A. (2022). Immobilization of whole-cell *Yarrowia lipolytica* catalysts on the surface of *Luffa cylindrica* sponge. *Biology and Life Sciences Forum*, 18, 39.
 - Gurbuz, F., Ozcan, A., Ciftci, H. et al. (2019). Treatment of textile effluents through bio-composite column: decolorization and COD reduction. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16, 8653–8662.
 - He, X., Song, C., Li, Y., Wang, N., Xu, L., Han, X., & Wei, D. (2018). Efficient degradation of azo dyes by a newly isolated fungus *Trichoderma tomentosum* under non-sterile conditions. State Key Laboratory of Separation Membranes and Membrane Processes, Tianjin Engineering Center for Safety Evaluation of Water Quality & Safeguards Technology, School of Environment and Chemical Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin, China.
 - Hossain, K., Quaik, S., Ismail, N., Rafatullah, M., Avasan, M., & Shaik, R. (2016). Bioremediation and detoxification of the textile wastewater with membrane bioreactor using the white-rot fungus and reuse of wastewater. Department of School of Industrial Technology, University Sains Malaysia.
 - Kale, R.V. and P.R. Thorat (2014); Biodegradation of Allura Red AC (ARAC) by *Ochrobactrum anthropi* HAR08, isolated from textile dye contaminated soil. *Int. J. of Adv. Res.* 2 (Sep). 0] (ISSN 2320-5407).
 - Kijpornyongpan, T., Schwartz, A., Yaguchi, A., & Salvachúa, D. (2022). Systems biology-guided understanding of white-rot fungi for biotechnological applications: A review. *iScience*, 25(7), 104640.
 - Liu, S., Xu, X., Kang, Y., Xiao, Y., & Liu, H. (2020). Degradation and detoxification of azo dyes with recombinant ligninolytic enzymes from *Aspergillus* sp. with secretory overexpression in *Pichia pastoris*. *Royal Society Open Science*, 7(9), 200688.
 - Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2015). Por la cual se establecen los parámetros y valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones. Resolución 0631. 17 de marzo de 2015.
 - Mir-Tutusaus, J.A., Sarrà, M. (2020). Fungal Reactors: A Solution for the Removal of Pharmaceuticals in Urban and Hospital Wastewater. In: Rodríguez-Mozaz, S., Blánquez Cano, P., Sarrà Adroguer, M. (eds) *Removal and Degradation of Pharmaceutically Active Compounds in Wastewater Treatment. The Handbook of Environmental Chemistry*, vol108. Springer, Cham.
 - Montoya, S., Sánchez, O. J., & Levin, L. (2015). Production of lignocellulolytic enzymes from three white-rot fungi by solid-state fermentation and mathematical modeling. *African Journal of Biotechnology*, 14(15), 1304-1317.
 - Moreno, Anderson, Figueroa, Danilo, & Hormaza, Angelina. (2012). Diseño estadístico para la remoción eficiente del colorante rojo 40 sobre tusa de maíz. *Producción + Limpia*, 7(2),9-19.
 - Mostacero-León, J., De La Cruz-Castillo, A., Taramona-Ruíz, L., Alva Calderón, R., Seijas-Bernabé, P., & Mendoza Rodríguez, R. (2020). Efecto citotóxico del colorante alimentario

- rojo 40 en nauplios de *Artemia salina* Leach.
- Mota, T. R., Kato, C. G., Peralta, R. A., Bracht, A., de Morais, G. R., Baesso, M. L., de Souza, C. G. M., & Peralta, R. M. (2015). Decolourization of Congo Red by *Ganoderma lucidum* laccase: Evaluation of degradation products and toxicity. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226, 351
 - Naidu, R., Arias, V. A., Liu, Y., & Jit, J. (2016). Emerging contaminants in the environment: Risk-based analysis for better management. *Chemosphere*, 154, 350–357.
 - Osorio, J., & Quintero, J. C. (2018). Decolorization of industrial dye Erionyl Turquoise by the white rot fungi *Bjerkandera* sp. R1. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 41(1), 32-40.
 - Pakshirajan, K., & Singh, S. (2010). Decolorization of synthetic wastewater containing azo dyes in a batch-operated rotating biological contactor reactor with the immobilized fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Department of Biotechnology, Indian Institute of Technology Guwahati, Guwahati -781039, India.
 - Qin, W., Guo, S., Li, Q., Tang, A., Liu, H., & Liu, Y. (2024). Biotransformation of the azo dye reactive orange 16 by *Aspergillus flavus* A5P1: Performance, genetic background, pathway, and mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, 468, 133562.
 - <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.133562>
 - Rajhans, G., Sen, S. K., Barik, A., & Raut, S. (2023). Ligninolytic enzyme system of white-rot fungi: A natural approach to bioremediation and detoxification of azo dyes in textile wastewater. Center for Biotechnology, School of Pharmaceutical Sciences, Siksha O Anusandhan (Deemed to be University), Bhubaneswar, Odisha, India; Biostadt India Limited, Waluj, Aurangabad, Maharashtra, India.
 - Ramadhan, K. P., Anita, S. H., Oktaviani, M., Laksana, R. P. B., Sari, F. P., Nurhayat, O. D., & Yanto, D. H. Y. (2021). *Biosaintifika*, 13(1), 16-25. *Journal of Biology & Biology Education*. <https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika>
 - Rekik H., Jaouadi N.Z., Bouacem K., Zenati B., Kourdali S., Badis A., Annane R., Bouanane-Darenfed A., Bejar S., Jaouadi B., (2019), Physical and enzymatic properties of a new manganese peroxidase from the white-rot fungus *Trametes pubescens* strain i8 for lignin biodegradation and textile-dyes biodecolorization, *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, -514-525.
 - Salem, S. S., Mohamed, A. A., El-Gamal, M. S., Talat, M., & Fouda, A. (2019). Biological Decolorization and Degradation of Azo Dyes from Textile Wastewater Effluent by *Aspergillus niger*. *Egyptian Journal of Chemistry*, 62, 1799-1813.
 - Samsami, S., Mohamadizani, M., Sarrafzadeh, M.-H., Rene, E. R., & Firoozbahr, M. (2020). Recent advances in the treatment of dye-containing wastewater from textile industries: Overview and perspectives. *Process Safety and Environmental Protection*, 143, 138-163.
 - Selim, M. T., Fouda, A., Salem, S. S., Mohamed, A. A., El-Gamal, M. S., & Awad, M. F. (2023). Biological treatment of real textile effluent using *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporium* and their consortium along with the evaluation of their phytotoxicity. *Journal of Environmental Biotechnology*, 17(3), 220-230.
 - Shi, K., Liu, Y., Chen, P., et al. (2021). Contribution of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase in lignite degradation by mixed white-rot fungi. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 3753–3763.
 - Sośnicka, A., Kózka, B., Makarova, K., Giebułtowicz, J., Klimaszewska, M., & Turło, J. (2022). Optimization of white-rot fungi mycelial culture components for bioremediation of

- pharmaceutical-derived pollutants. *Water*, 14(1374).
- Soylak, M., Unsal, Y. E., & Tuzen, M. (2011). Spectrophotometric determination of trace levels of allura red in water samples after separation and preconcentration. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1183–1187.
 - Sobrero MS, Ronco A (2004) Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L). In: Castillo G (ed) *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. *BrazJ Microbiol* (2021) 52:727–738 737 Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IDRC, IMTA, Canadá, pp 71–79