

Decolorization of industrial dye Erionyl Turquoise by the white rot fungi *Bjerkandera* sp. R1

Juliana Osorio, Juan Carlos Quintero

*Grupo de Bioprocesos, Departamento de Ingeniería Química.
Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia.
Calle 67 53-108. Bloque 18-438, A.A. 1226, Medellín, Colombia.
juliana.osorio@udea.edu.co, carlos.quintero@udea.edu.co*

Abstract

The effluents from textile industries and manufacturers of dyes cause a negative environmental impact, mainly due to its high load of dye and recalcitrant compounds. In order to reduce these problems, textile effluents should be treated before being discharged into natural water bodies. In this work, the use of biological process for degradation of recalcitrant dyes, type phthalocyanine, using the white rot fungi anamorphous *Bjerkandera* sp. R1 was evaluated. Decolorization of industrial dye Erionyl Turquoise by the white rot fungi anamorphous *Bjerkandera* sp. R1 was performed in submerged batch culture using different initial concentration of the dye. The percentage of decolorization reached 70-80% in a seven days treatment. The toxicity reduction was 64%. Based on the obtained results a possible novel degradation pathway for the dye Erionyl Turquoise was proposed.

Keywords: phthalocyanine dye; anamorphous *Bjerkandera* sp. R1; decolorization; Erionyl Turquoise.

Decoloración del colorante industrial Turquesa Erionyl con el hongo de la pudrición blanca de la madera *Bjerkandera* sp. R1

Resumen

Los efluentes de las industrias textiles y de tintorería provocan un impacto ambiental negativo, debido principalmente a su alta carga de colorantes y compuestos recalcitrante. Con el fin de reducir estos problemas, estos efluentes deben ser tratados antes de ser descargados en los cuerpos de agua. En este trabajo se evaluó el uso de los procesos biológicos para la degradación de colorantes recalcitrantes del tipo ftalocianinas, empleando el hongo de pudrición blanca anamorfo *Bjerkandera* sp. R1. La decoloración del colorante Turquesa Erionyl se llevó a cabo a una escala de laboratorio en un cultivo sumergido por lotes usando diferentes concentraciones iniciales del colorante. El porcentaje de decoloración alcanzó 70 a 80% en 7 días de tratamiento y la reducción de la toxicidad del efluente fue del 64%. Con base a los resultados obtenidos se propuso una posible ruta de degradación para el colorante turquesa Erionyl.

Palabras clave: colorantes ftalocianina; *Bjerkandera* sp. R1; decoloración; Turquesa Erionyl.

Introducción

Los procesos industriales generan un significativo número de contaminantes que son liberados al ambiente principalmente a través de las aguas residuales, emisiones de gases y residuos sólidos. El tratamiento inadecuado

de las aguas residuales industriales contaminan ríos y otros recursos hídricos; muchas de las sustancias contaminantes que contienen estas aguas, son compuestos químicos altamente tóxicos y persistentes, como es el caso de los colorantes sintéticos. Estos colorantes poseen una compleja estructura molecular y son diseñados

para ser resistentes a la degradación física, química o microbiológica, además se ha demostrado que presentan altos índices de citotoxicidad y genotoxicidad [1-3]. Los colorantes poseen una fijación en textiles en el rango del 60-80%, por tanto la aplicación de colorantes a las fibras textiles, genera un problema ambiental asociado con la presencia de cantidades importantes de colorantes no fijados en las aguas residuales aumentando la demanda química y bioquímica (DQO y DBO) de oxígeno, y además se incrementa la concentración de sales y la turbidez disminuyendo la absorción de la luz (radiación solar) incidente generando además una desagradable apariencia visual [2].

Los colorantes reactivos del tipo ftalocianina son compuestos químicos sintéticos que contienen un elemento metálico, como el cobre, en el centro de una estructura base de anillos de ftalocianina. Estos colorantes son altamente solubles en agua y son resistentes a la degradación biológica en condiciones aerobias, además no se eliminan eficazmente por adsorción en los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales tradicionales, por lo que en la descarga de efluentes depurados aún pueden estar presentes. Este tipo de colorantes son potencialmente mutagénicos y tóxicos debido a la presencia de metales en su estructura [4].

El tratamiento del color en aguas residuales se puede realizar por métodos químicos y físicos, los cuales presentan buena capacidad de decoloración y alta velocidad de tratamiento, sin embargo, generan también altos costos de capital. Aunque estos métodos se utilizan comúnmente, se ha observado que generan algunos problemas como la producción de lodos o reducción de los colorantes a aminas aromáticas, que pueden ser aún más tóxicas que los colorantes originales [5]. Por otro lado, se han propuesto diferentes estrategias tecnológicas para la eliminación de los colorantes residuales y su toxicidad inherente. Los procesos biotecnológicos han mostrado un gran potencial por su eficiencia, ser amigables con el medio ambiente y atractivos económicamente. Una notable cantidad de trabajos se han dedicado a ampliar el conocimiento e implementación de estos procesos, considerándolos como sustitutos atractivos a los tratamientos convencionales, físicos y químicos. Las tecnologías que emplean hongos de pudrición blanca de la madera (hongos ligninolíticos) y sus enzimas se consideran como las más eficientes en el tratamiento de contaminantes. Hay un número considerable de estudios sobre la degradación de colorantes utilizando hongos ligninolíticos, en los cuales se han alcanzado remociones de color de más del 80% [5-8].

Los hongos ligninolíticos secretan varias enzimas extracelulares que son esenciales para la transformación inicial de la lignina y que en conjunto logran su

mineralización [9, 10]. Este sistema enzimático único y no específico funciona en el ambiente extracelular y su mecanismo está basado en la producción de radicales libres; por lo cual permite que estas enzimas sean catalíticamente activas sobre una gran diversidad de sustratos orgánicos con una amplia variedad de estructuras. El modo de ataque en los compuestos xenobióticos normalmente es oxidativo, que puede llevar a la biodegradación total (mineralización) y/o polimerización o dimerización de estos [10, 11].

Existe poca información acerca de la degradación de colorantes del tipo ftalocianina por medio de hongos ligninolíticos. Sin embargo, se han empleado colorantes con estructuras similares como el Azul Turquesa Remazol G 133% (C.I Azul Reactivo 21) para evaluar su degradación con hongos ligninolíticos, encontrándose evidencias de que enzimas ligninolíticas como la lacasa y la manganosa peroxidasa, están involucradas en el mecanismo de degradación [12]. También se han llevado a cabo estudios de degradación de efluentes textiles con mezclas de colorantes, incluyendo entre ellos al colorante Turquesa Erionyl, y empleando el hongo anamorfo *Bjerkandera* sp. R1. En estos estudios se han encontrado degradaciones superiores al 70% después de 8 días de tratamiento [13].

En este trabajo, se pretende profundizar en los estudios de degradación de colorantes reactivos tipo ftalocianina Turquesa Erionyl con el hongo de pudrición blanca de la madera anamorfo *Bjerkandera* sp. R1, con el fin de identificar los compuestos intermediarios que se forman durante su degradación, evaluar la toxicidad residual del efluente tratado y proponer una ruta posible de degradación.

Materiales y métodos

Microorganismo y medios de cultivo

Se utilizó la cepa del hongo ligninolítico de *Bjerkandera* sp. R1 cedida por el Grupo de Ingeniería Ambiental y Bioprocesos de la Universidad de Compostela (España). Este hongo fue previamente identificado como un anamorfo de *Bjerkandera* sp. por Taboada-Puid et al. [14]. Los cultivos se mantuvieron en caja Petri, con el medio de mantenimiento: agar (15 g/L); glucosa (10 g/L); extracto de malta (3,5 g/L) y pH de 5,5, incubando durante 8 días a 30°C y luego se almacenaron a 4°C hasta el momento de su uso.

Preparación de inóculo.

Se transfirieron tres trozos de agar colonizado a un matraz Fernbach con 100 mL de medio Kirk [15]. El cultivo se incubó durante 10 días a 30°C sin agitación y se homogenizó en licuadora el micelio formado durante 20 s

(concentración de $0,168 \pm 0,024$ g/L.), hasta el momento de preparar los ensayos de decoloración.

Decoloración del colorante turquesa Erionyl® en cultivo sumergido a escala de matraz

Se evaluó el potencial de decoloración del hongo frente al colorante turquesa Erionyl (225 mg/L), a partir de la medición del halo de crecimiento y de decoloración en medio semisólido. La capacidad de decoloración se evaluó en medio líquido a concentraciones iniciales de 100, 200, 300 y 400 mg/L. En la Figura 1 se presenta la estructura química del colorante.

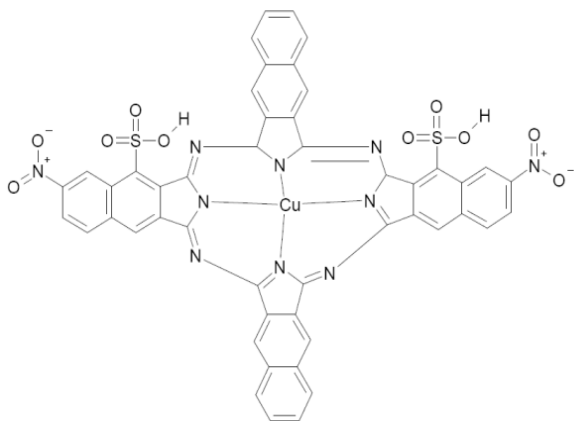


Figura 1. Estructura del colorante Turquesa Erionyl.

Los experimentos se realizaron en matraces de 500 mL, empleando 180 mL de medio de cultivo Kirk contaminado con el colorante y 20 mL de inóculo del hongo homogenizado. Los matraces se incubaron a 30°C y 175 rpm durante 8 días y se tomaron muestras periódicas para determinar la concentración de colorante residual, la actividad de las enzimas ligninolíticas y la presencia de metabolitos derivados de la degradación del colorante. Se realizaron controles experimentales con biomasa inactivada por calor, para evaluar una posible adsorción del colorante en la biomasa.

Métodos Analíticos

Determinación de actividad enzimática

La actividad enzimática de la lignina peroxidasa (LiP) [15], manganeso peroxidasa (MnP) [16] y lacasa [17], se valoró a un pH de 3,0, 4,5 y 3,5, respectivamente y a una temperatura de 30°C a partir del filtrado obtenido de cada muestra de cultivo. La unidad de actividad (U) se define como la cantidad de enzima necesaria para transformar (oxidar) 1 μ mol de sustrato, para LiP el alcohol veratrílico

y para MnP y Lacasa el dimetoxifenol (2,6 DMP), en un minuto.

Determinación de la concentración de colorante

El grado de decoloración en cada una de las muestras tomadas en los tratamientos, se determinó por espectrofotometría a una longitud de onda de 617 nm. El porcentaje de decoloración se obtuvo con la siguiente relación:

$$D = 100(C_i - C_f) / C_i \quad (1)$$

Donde: D es el porcentaje de decoloración (%); C es el valor de concentración de cada colorante (mg/L) y los subíndices i y f son al tiempo inicial y final del tratamiento respectivamente.

Análisis de productos de degradación

Las muestras fueron centrifugadas a 6000 rpm por 20 minutos y filtradas a través de membranas de 0.45 μ . Para la extracción de los metabolitos de interés se utilizó acetato de etilo en proporción 1:1 con el sobrenadante, con agitación magnética y posteriormente se realizó la separación de la fase orgánica. A la fase orgánica se le adicionó sulfato de sodio anhidro para obtener una fase anhidra. Esta fase, se concentró por rotaevaporación y posteriormente se analizó por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC/MS) [18] y espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) [19].

Ensayos de toxicidad

El procedimiento experimental para los ensayos de toxicidad por inhibición de la bioluminiscencia de *Vibrio fischeri*, se basó en la norma ISO 11348-3 de los protocolos estándar [20], usando un sistema comercialmente disponible de Microtox®.

Resultados y Discusión

Decoloración del colorante turquesa Erionyl® en cultivo por lotes

En medio semisólido, la velocidad de crecimiento del micelio sin y con presencia del colorante en el medio fue $1,40 \pm 0,02$ y $1,10 \pm 0,05$ cm/día, respectivamente. A 225 mg/L, concentración del colorante, se encontró una inhibición del 21% en el crecimiento de la biomasa. La velocidad de decoloración observada fue de $0,70 \pm 0,03$ cm/día, la cual es similar a resultados reportados en la degradación del colorante Poly R478 ($0,65$ cm/día) [14]. Este es el primer reporte relacionado con la degradación de colorantes industriales por este hongo, en estudios

anteriores se había evaluado para la producción de enzimas ligninolíticas [14, 21] y degradación de productos farmacéuticos y de aseo personal [22].

La Figura 2 muestra los resultados de eliminación de colorante durante los tratamientos en medio líquido. Se observa que el porcentaje de decoloración estuvo en un intervalo entre 73 al 83 % para las diferentes concentraciones de colorante, en un tiempo de 8 días. El seguimiento del proceso en el tiempo mostró que la decoloración se detuvo alrededor del día siete de tratamiento y las enzimas peroxidadas se detectaron a partir del segundo día alcanzando un valor de 20 U/L para LiP y 40 U/L para MnP al rededor del cuarto día. La actividad de las enzimas peroxidasa se mantuvo presente durante todo el tiempo de tratamiento pero no así la actividad de la enzima Lacasa. Los ensayos con biomasa inactiva, mostraron un porcentaje de adsorción del 6%.

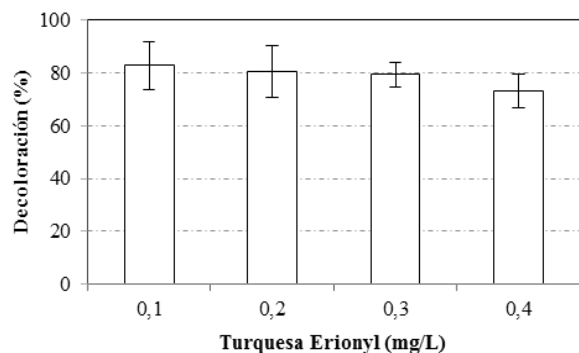


Figura 2. Decoloración medida como porcentaje para el colorante turquesa Erionyl a diferentes concentraciones iniciales tratado con el hongo *Bjerkandera sp. R1*.

En la figura 2 se mostró los resultados de eliminación del colorante turquesa Erionyl en cultivos por lotes a diferentes concentraciones iniciales de colorante, el cual se realizó en tres bloques, los cuales conservaron las mismas condiciones de incubación durante el periodo de prueba. En los experimentos se encontró un intervalo de decoloración entre 73 al 83%, siendo mayor la decoloración cuando se tenían concentraciones mayores de colorante. El análisis de varianza mostró que el aumento de la concentración de colorante no afecta significativamente el porcentaje de decoloración obtenido ($p > 0,05$).

De igual forma, al analizar las velocidades de decoloración o pendientes iniciales en los perfiles de decoloración, se tiene el mismo comportamiento, para un mismo tiempo de tratamiento se obtendrá una mayor decoloración en masa total de colorante, aunque no una diferencia significativa en porcentajes totales de decoloración (Figura 3). Esta reacción no involucra un solo mecanismo de decoloración y en las etapas iniciales

del cultivo, cuando aún no se ha alcanzado un nivel significativo de enzimas ligninolíticas, indicando que la decoloración puede deberse al fenómeno de adsorción sobre la biomasa del hongo para posteriormente iniciar el proceso de degradación mediado por las enzimas ligninolíticas. Este mecanismo se ha encontrado con *Phanerochaete chrysosporium* [23, 24]. En este sentido, junto con los ensayos realizados, se hicieron controles con biomasa inactiva con el fin de cuantificar el nivel de adsorción del colorante sobre la biomasa. Estos resultados demostraron que aunque se presenta una disminución en la concentración de color en los primeros días de prueba; en los últimos días las concentraciones aumentan nuevamente hasta un valor muy cercano al valor inicial.

Se compararon las velocidades de degradación y absorción para una concentración inicial del colorante de 225 mg/L, encontrándose valores de 27 y 7,2 mg/L. día, respectivamente, indicando que la adsorción no es el mecanismo principal de decoloración, sin embargo, tiene un papel muy importante en todo el proceso ya que cuando la biomasa adsorbe los grupos cromóforos contenidos en los colorantes, los encierra y permite el contacto con las enzimas responsables de la degradación.

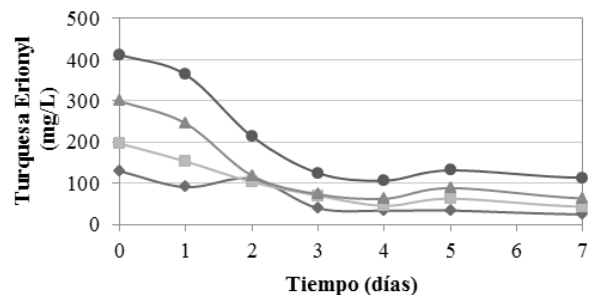


Figura 3. Cinética de degradación del colorante turquesa Erionyl a diferentes concentraciones iniciales con el hongo *Bjerkandera sp. R1*. 100 (◆); 200 (■); 300 (▲); 400 (●).

En la Figura 3 se observa que en todos los casos, la decoloración tarda menos de cuatro días en todos los casos, debido que el tinte podría actuar como sustrato adecuado para las peroxidadas producidas por el hongo. En la primera etapa del tratamiento existe una correlación entre los sitios activos de las enzimas y la cantidad de sustrato (colorante), presentándose una aceleración en la reacción de degradación, siendo este un caso contrario a la saturación de la enzima, en donde al adicionar más sustrato, al estar todos los sitios activos ocupados, se desacelera la reacción. Para nuestro caso, al aumentar la cantidad de enzima no se asegura que el colorante remanente llegue a

los sitios activos y ocurra la degradación, por lo que sería una especie de saturación del colorante hacia la enzima. Solo una cantidad basal de 20 U/L para LiP y 40 U/L para MnP son necesarias para promover la degradación de los colorantes. No se observó actividad enzimática significativa para el caso de lacasa en el periodo de estudio.

Similares resultados se presentan en un estudio de decoloración de los colorantes Metil Violeta, Naranja Acido y Magenta, con el hongo *Phanerochaete chrysosporium*, en donde la máxima producción de las enzimas MnP y LiP no está relacionada con la máxima decoloración [24]. Un estudio de decoloración del colorante Victoria Azul B con el hongo *P. chrysosporium*, mostró que la inhibición de producción de lacasa en tratamientos con diferentes concentraciones de Victoria Azul B redujo la decoloración, indicando que esta enzima es la responsable directa de la decoloración. [25].

Después de los ensayos de decoloración a nivel de matraz, se tomaron muestras finales de cada tratamiento y se analizaron para determinar el nivel de eco toxicidad del medio tratado frente al medio coloreado sin tratar. Los resultados de toxicidad de las muestras del colorante turquesa Erionyl, a una concentración inicial de 225 mg/L, antes y después del tratamiento con el hongo, mostraron que la dosis letal 50 (EC_{50}) se alcanza con una concentración del colorante del 8,8%, mientras que la EC_{50} para el colorante tratado, que alcanzó un 80% de

decoloración, requiere una concentración del 24,7%. En otras palabras, después del tratamiento se observa una reducción en la toxicidad del 64% con respecto a la toxicidad inicial.

Identificación de productos de degradación del colorante turquesa Erionyl.

En la Figura 4 se observa el cromatograma de HPLC y el espectro de masas para el colorante turquesa Erionyl puro, detectándose el colorante a un tiempo de 8,6 min. La masa molecular y el número total de grupos sulfónicos y nitro se pueden determinar a partir de la serie $[M-xHSO_3]^-$ iones y sus aductos de los grupos como $[M-(x+y)(SO_3+NO_2)+xH]$, que se observan en el espectro de masas ESI/ Negativo del colorante, donde el valor máximo de x ó $(x+y)$ es igual a número total de grupos presentes en la estructura.

La figura 5 muestra los resultados del análisis por HPLC de una muestra después de 8 días de tratamiento observándose que la intensidad del pico disminuye significativamente. Como respuesta a la disminución de la señal del colorante aparecen diferentes picos a tiempos de retención menores a 5 minutos, que sugieren la presencia de metabolitos intermedios en la degradación del colorante, En el análisis por MS de la muestra tratada se obtuvieron dos posibles compuestos de degradación con estructuras que pueden formar parte de la estructura principal del colorante.

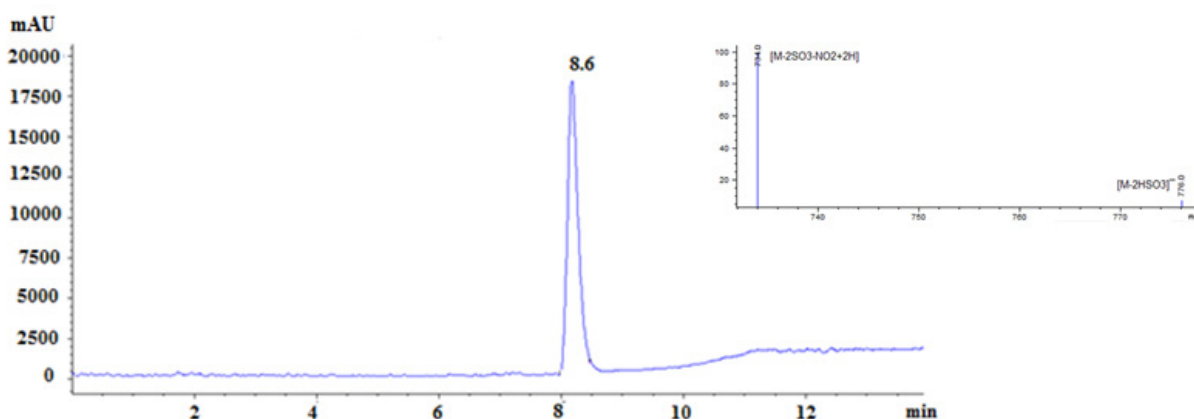


Figura 4. Cromatograma de HPLC y espectro de masas del colorante turquesa Erionyl. Ensayo control abiótico de 8 días de incubación detectado a 8,6 min.

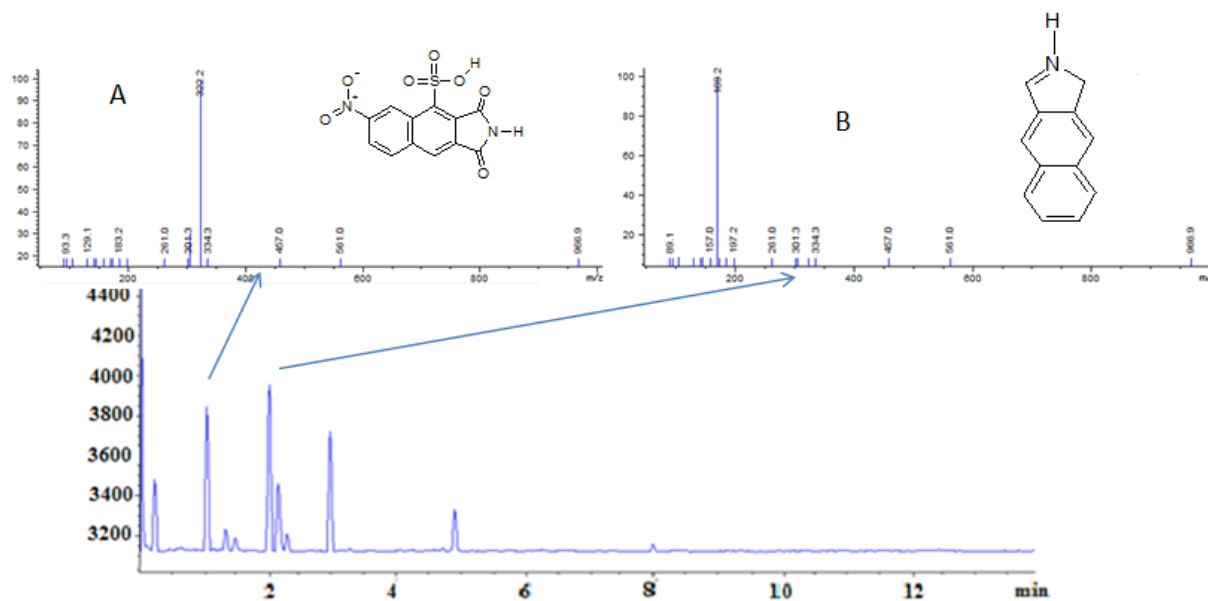


Figura 5. Cromatograma de HPLC y espectro de masas durante el tratamiento (8 días) del colorante Turquesa Erionyl con el hongo de *Bjerkandera* sp. R1. (A) Posible producto de degradación detectado a 0,3 min y (B) Posible producto de degradación detectado a 2,0 min.

De los resultados obtenidos (Figura 4 y 5) se observan disminuciones en las señales de los picos (cromatogramas) asociados al colorantes, los valores menores de estas señales se deben al tamaño molecular y las interacciones hidrofóbicas por la fase reversa de la columna, debido a que hay menor interacción de los compuestos intermedios generados, los metabolitos encontrados poseen terminales hidrofóbicas, por lo cual no tienen afinidad por la columna y la desalojan más rápidamente y por tanto se muestran en tiempo de retenciones menores.

En la Figura 6 se muestran los espectros infrarrojo (FTIR) de una muestra del ensayo colorante turquesa Erionyl puro y de una muestra de 8 días de tratamiento del mismo colorante. El espectro del control muestra las señales específicas de los grupos funcionales presentes en la estructura del colorante así: la banda que aparece en 1609 cm^{-1} corresponde a la vibración de alargamiento C-C de estructuras pirrol o similares y las señales de 1428 y 1332 cm^{-1}

corresponden al enlace C-C de grupos isoindol o similares. Una banda de intensidad media aparece a 915 cm^{-1} correspondiente con el metal ligado; que indica la gran estabilidad de la ftalocianina de metal debido a la fuerte unión entre los iones metálicos y los cuatro átomos de nitrógeno que rodean los anillos pirrol [12].

El espectro FTIR de la muestra del colorante tratado con el hongo muestra cambios significativos en las posiciones de los picos cuando se compara con el espectro del control. Aparece un nuevo pico entre $1700 - 1750\text{ cm}^{-1}$ que representa un grupo carbonilo en un ácido carboxílico. Se observaron deformaciones del enlace N-H (1515 cm^{-1}). El estiramiento N-H y vibraciones de flexión se observaron en $3200-3300$ y $1000 - 1100\text{ cm}^{-1}$, respectivamente, en los productos de ftalocianina. La ausencia de estas bandas en los controles se debe a la sustitución del hidrógeno por cationes metálicos [6]. Estas señales del FTIR apoyan el resultado del espectro de masas.

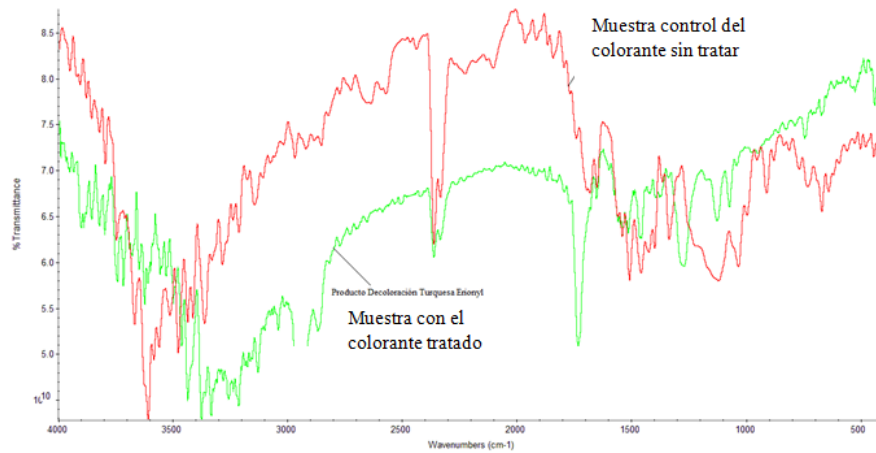


Figura 6. Espectros infrarrojos (FTIR) de muestras del colorante Turquesa Erionyl con 8 días de tratamiento con el hongo *Bjerkandera* sp. R1 y del control no tratado.

De acuerdo con los análisis por HPLC/MS y FTIR empleados se pudo determinar el destino del colorante y la aparición de nuevos compuestos orgánicos durante el proceso de degradación con el

hongo *Bjerkandera* sp. R1. Por lo anterior, se propone una ruta de degradación parcial del colorante turquesa Erionyl por medio de un hongo ligninolítico (Figura 7).

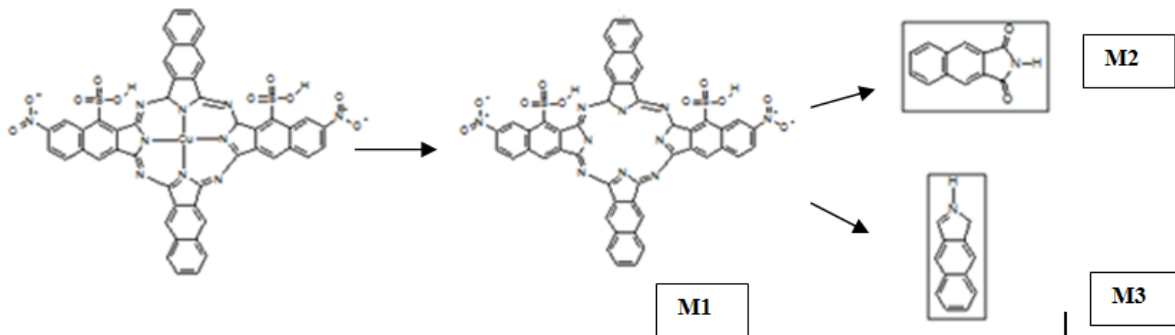


Figura 7. Ruta propuesta para la degradación de turquesa Erionyl por el hongo *Bjerkandera* sp. R1.

Dentro de la ruta planteada es posible encontrar la estructura de ftalocianina sin el cobre en el centro de su complejo (M1). Conneely, et al. (1999) obtuvieron resultados similares durante la degradación de los colorantes: Remazol Turquesa Azul G133, Everzol Turquesa Azul y Heligon Azul S4. A partir de análisis de LC y CE, plantearon una ruta de degradación para estos colorantes que poseen una estructura de ftalocianina, reportando la participación de la enzima manganoso peroxidasa del *Phanerochaete chrysosporium* en el proceso de rompimiento de liberación de ion cobre de la estructura [12]. Similares resultados se han

reportado para el tratamiento del colorante Azul Reactivo 21 con enzimas peroxidasa obtenidas del nabo (HRP), en donde se plantea que estas enzimas son las encargadas de realizar una liberación del ion cobre y a su vez el rompimiento de este anillo central, es decir, la estructura cromófora del colorante [26]. Algunos estudios de degradación de colorantes con estructura ftalocianina mediante *Phanerochaete chrysosporium* han mostrado este comportamiento, en los cuales análisis por absorción atómica mostraron una gran liberación del cobre antes de cumplir los 8 días de tratamiento [27].

La estructura denominada M1 no se detectó dentro de los análisis de HPLC/MS, posiblemente a que la muestra analizada correspondía a 8 días de tratamiento y en este tiempo ya se obtendría el total rompimiento de dicha estructura. A partir de los metabolitos encontrados (M2 y M3), es posible que se presentara un rompimiento de la estructura del metabolito M1 por los enlaces de N-N y presentándose una reacción de cambio de iones de nitrógeno por oxígeno ayudado por enzimas intermediarias en el proceso [4].

Esta es la primera propuesta de ruta de degradación que se presenta para este colorante ya que no hay antecedentes en la bibliografía al respecto.

Conclusiones

El hongo anamorfo *Bjerkandera* sp. R1, además de tolerar altas concentraciones de colorantes en medio líquido (400 mg/L), tiene la capacidad de reducir estas concentraciones, obteniéndose niveles de decoloración de 73 a 83 %.

Se observó una disminución en los niveles de toxicidad, aproximadamente del 64% al tratar las aguas coloreadas con este hongo ligninolítico. Cómo la toxicidad se ve reducida significativamente, el efluente es fácilmente tratable en plantas de aguas residuales convencionales para la completa mineralización.

La presencia de diferentes compuestos de degradación, permitieron proponer una posible ruta de degradación por acción de las enzimas ligninolíticas.

La adsorción del colorante sobre la biomasa del hongo es un mecanismo complementario en la remoción del colorante, ya que el colorante absorbido puede degradarse posteriormente por la acción de las enzimas ligninolíticas. Cuando la biomasa adsorbe los grupos cromóforos contenidos en los colorantes, los encierra y permite el contacto con las enzimas responsables de la degradación, que pueden estar asociadas a la superficie celular.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Grupo de Ingeniería Ambiental y Bioprocesos de la Universidad de Santiago de Compostela (España), por el obsequio de la cepa del hongo. Este trabajo se realizó con el apoyo del Comité para el Desarrollo de la Investigación CODI, de la Universidad de Antioquia.

Referencias bibliográficas

- [1] Zollinger, H. "Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments". *Angewandte Chemie International Edition*. Vol. 43. No. 40 (2004) 5291–5292.
- [2] Christie, R. M. "Environmental aspects of textile dyeing". Woodhead Publishing. Cambridge. 2007.
- [3] Verma, Y. "Acute toxicity assessment of textile dyes and textile and dye industrial effluents using *Daphnia magna* bioassay". *Toxicology and industrial health*. Vol. 24. No. 7 (2008) 491–500.
- [4] Matthews, R. D. "Transformation and decolorization of reactive phthalocyanine dyes". (Tesis doctoral inédita). Georgia Institute of Technology. (2003)
- [5] Anjaneyulu, Y., Sreedhara Chary, N., & Samuel Suman Raj, D. "Decolourization of Industrial Effluents – Available Methods and Emerging Technologies – A Review". *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. Vol. 4. No. 4 (2005) 245–273.
- [6] Spina, F., Anastasi, A., Prigione, V., Tigini, V., & Varese, G. C. "Biological treatment of industrial wastewaters: a fungal approach". *Chemical Engineering Transactions*. Vol. 27 (2012) 175–180.
- [7] Shinkafi, M. S., Mohammed, I. U., & Audu, A. A. "Degradation and decolourization of textile dyes effluents". *European Journal of Biotechnology and Bioscience*. Vol. 3. No. 9 (2015) 6–11.
- [8] Shinkafi, M., Mohammed, I., & Audu, A. "The potentials of white-rot fungi to decolorizing azo dyes and organic components of textile effluents". *European Journal of Biotechnology and Bioscience*. Vol. 3. No. 10 (2015) 52–57.
- [9] Sharma, K. K., Singh, D., Sapna, Singh, B., & Kuhad, R. C. "Ligninolytic Enzymes in Environmental Management". En C. R. Kuhad & A. Singh (Eds.), *Biotechnology for Environmental Management and Resource Recovery* (2013). 219–238.
- [10] Karigar, C. S., & Rao, S. S. "Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants: A Review". *Enzyme Research*. Vol. 2011 (2011) 1–11.
- [11] Christian, V., Shrivastava, R., Shukla, D., Modi, H. A., & Vyas, B. R. M. "Degradation of xenobiotic compounds by lignin-degrading white-rot fungi: Enzymology and mechanisms involved". *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol. 43. No. 4 (2005) 301–312.
- [12] Conneely, a., Smyth, W. F., & McMullan, G. "Study of the white-rot fungal degradation of selected phthalocyanine dyes by capillary electrophoresis

- and liquid chromatography". *Analytica Chimica Acta*. Vol. 451. No. 2 (2002) 259–270.
- [13] Osorio Echavarría, J., Vidal Benavides, A. I., & Quintero Díaz, J. C. "Decolorization of textile wastewater using the white rot fungi anamorph R1 of *Bjerkandera* sp". *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*. Vol. 57 (2011) 85–93.
- [14] Taboada-Puig, R., Lú-Chau, T., Moreira, M. T., Feijoo, G., Martínez, M. J., & Lema, J. M. "A new strain of *Bjerkandera* sp. production, purification and characterization of versatile peroxidase". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 27. No. 1 (2010). 115–122.
- [15] Tien, M., & Kent, K. "Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*". *Methods in Enzymology*. Vol. 161 (1988) 238–249.
- [16] Field, J. a, de Jong, E., Feijoo Costa, G., & de Bont, J. a. "Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi". *Applied and environmental microbiology*. Vol. 58. No. 7 (1992) 2219–26.
- [17] Slomczynski, D., Nakas, J. P., & Tanenbaum, S. W. "Production and Characterization of Laccase from *Botrytis cinerea* 61-34". *Applied and environmental microbiology*. Vol. 61. No. 3 (1995) 907–912.
- [18] Perlatti, B., da Silva, M. F. D. G. F., Fernandes, J. B., & Forim, M. R. "Validation and application of HPLC-ESI-MS/MS method for the quantification of RBBR decolorization, a model for highly toxic molecules, using several fungi strains". *Bioresource technology*. Vol. 124 (2012) 37–44.
- [19] Lewis, D. M., & Wang, J. C. "The use of fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy to study the state of heterobifunctional reactive dyes". *Dyes and Pigments*. Vol. 39. No. 2 (1998). 111–123.
- [20] ISO 11348-3:2007 - Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) -- Part 3: Method using freeze-dried bacteria. (2007).
- [21] Romero, E., Speranza, M., García-Guinea, J., Martínez, A. T., & Martínez, M. J. "An anamorph of the white-rot fungus *Bjerkandera adusta* capable of colonizing and degrading compact disc components". *FEMS microbiology letters*. Vol. 275. No. 1 (2007) 122–9.
- [22] Rodarte-Morales, A., Moreira, M., Feijoo, G. "Degradation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 27. No. 8 (2011). 1839-1846.
- [23] Senthilkumar, S., Perumalsamy, M., & Janardhana Prabhu, H. "Decolourization potential of white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* on synthetic dye bath effluent containing Amido black 10B". *Journal of Saudi Chemical Society*. Vol. 18. No. 6 (2014) 845-853.
- [24] Radha, K. V., Regupathi, I., Arunagiri, a., & Murugesan, T. "Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics". *Process Biochemistry*. Vol. 40. No. 10 (2005) 3337–3345.
- [25] Gomaa, O. M., Linz, J. E., & Reddy, C. a. "Decolorization of Victoria blue by the white rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium*". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 24. No. 10 (2008). 2349–2356.
- [26] Silva, M. C., Corrêa, A. D., Amorim, M. T. S. P., Parpot, P., Torres, J. A., & Chagas, P. M. B. "Decolorization of the phthalocyanine dye reactive blue 21 by turnip peroxidase and assessment of its oxidation products". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. Vol. 77 (2012). 9–14.
- [27] Conneely, A., Smyth, W. F., & McMullan, G. "A study of the microbial degradation of metal phthalocyanine textile dyes by high-performance liquid chromatography and atomic absorption". *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*. Vol. 3 (1999). 552–559.

Recibido el 1 de Octubre de 2016
En forma revisada el 19 de Octubre de 2017