



Importancia de las enzimas lignina peroxidasa (Lip) y manganeso peroxidasa (Mnp) en la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes de curtiembres.

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico

Bogotá, septiembre del 2022



Importancia de las enzimas lignina peroxidasa (Lip) y manganeso peroxidasa (Mnp) en la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes de curtiembres.

Paula Andrea Cedeño Ríos

Karin Mercedes Rodríguez Sánchez

Asesor interno:

Ligia Consuelo Sánchez Leal MSc

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad Ciencias de la salud

Programa Bacteriología y Laboratorio clínico

Bogotá, septiembre del 2022.



Importancia de las enzimas lignina peroxidasa (Lip) y manganeso peroxidasa (Mnp) en la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes de curtiembres.

Aprobada _____

Jurados _____

Asesores _____

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad Ciencias de la salud

Programa Bacteriología y Laboratorio clínico

Bogotá, septiembre del 2022

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico a familia, especialmente a mi madre, mi abuela y mi hermana, quienes son el pilar de mi vida, la motivación para seguir mis sueños sin importar lo difícil que pueda parecer, quienes me impulsan a ser mejor cada día y quienes me han enseñado lo importante que es ser feliz.

A mis amigos, especialmente a Stefanny Motta, Alejandra Díaz y Daniela Salazar quienes me hicieron este camino más fácil, me motivaron cada día y se aseguraron de que, cada día, tuviese una sonrisa, han sido una parte fundamental en mi vida y les agradezco de todo corazón todo lo que han hecho por mí.

A Dios, por darme el valor y la fuerza de afrontar todas las situaciones difíciles en mi vida, y porque sin tu voluntad y sin tu amor, no estaría acá.

Paula Andrea Cedeño

Primeramente a Dios por permitirme llegar hasta este punto, por darme la valentía, fortaleza y sabiduría de culminar un objetivo más, segundo a mis padres Omar Rodríguez Sierra quien ha sido mi apoyó emocional y económico, ha sido más que un padre un amigo incondicional, a mi madre Luz Mery Sánchez que gracias a sus oraciones y lecciones me ha enseñado a ser mejor persona y poder así dar lo mejor de mi a la sociedad, a mi hermano y mi sobrino por el cariño y amor que me han brindado y a Mateo por ser mi bastón, mi compañero y por darme la fuerza cuando sentía que no podía más.

Karin Mercedes Rodríguez Sánchez

AGRADECIMIENTOS.

Le damos gracias a Dios por permitir culminar este proceso tan importante en la vida de cada una de nosotras, por permitirnos plasmar conocimientos y aptitudes en este trabajo que nos acompañará siempre. Le agradecemos eternamente a nuestros familiares, que nos ayudaron en cada una de las etapas, que nos vieron crecer y culminar este proyecto desde sus inicios, y por supuesto, nos verán tener éxitos con el.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	9
Abstract	10
1. INTRODUCCIÓN	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo general	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. Antecedentes	15
4. MARCO REFERENCIAL	28
4.1. Biorremediación	28
4.2. Colorantes usados en la industria del cuero.	29
4.3. Clasificación de los colorantes.	32
4.4. Degradación de colorantes.	35
4.5. Lignina peroxidasa (LiP)	37
4.5.1 Mecanismo de acción.	38
4.6. Microorganismos productores de enzimas lignocelulolíticas.	39
4.6.1. Bacterias productoras de enzimas lignocelulolíticas.	40
4.7. Manganeso peroxidasa (MnP)	42
4.8. Producción de enzimas fúngicas.	43
5. Diseño metodológico	44
5.1. Tipo de investigación	44
5.2. Nivel o enfoque investigativo	44
5.3. Universo	45
5.4. Población de estudio	45
5.5. Muestra	45
5.6 Técnicas y procedimientos.	45
5.6.1 Revisión de la información existente.	45
5.6.2 Selección del material bibliográfico de acuerdo a la temática a tratar.	46

5.6.3. Estructuración coherente del documento y análisis	46
6. Resultados.	46
FASE 1. Búsqueda y revisión de la información.	46
FASE 2. Selección de material bibliográfico.	48
FASE 3. Organización lógica del documento	49
7. Discusión.	55
8. CONCLUSIONES.	60
Referencias bibliográficas	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Clasificación de los colorantes según su estructura.

Figura 2: Clasificación general de los colorantes usados en la industria de curtiembres.

Figura 3: Algunas técnicas utilizadas en la degradación de colorantes azoicos.

Figura 4. Selección de la información para el desarrollo del documento.

Figura 5. Principales temáticas para tratar en la revisión.



**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA**

Importancia de las enzimas lignina peroxidasa (Lip) y manganeso peroxidasa (Mnp) en la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes de curtiembres.

Resumen

El curtido es el proceso de transformación de pieles de animales en cuero, como resultado de la estabilización de las fibras de colágeno de la piel con agentes curtientes. Este proceso se lleva a cabo con el fin de evitar su descomposición y facilitar su uso para la fabricación de productos de calzado, marroquinería, tapizados, entre otros. Las curtiembres generan sustancias tales como los contaminantes orgánicos e inorgánicos, los cuales son altamente tóxicos para la biota acuática y la población que utiliza el recurso. Los residuos industriales líquidos de curtiembre que son descargados sin tratamiento a cuerpos de agua provocan una desestabilización del ambiente por efecto de diversos contaminantes. Por lo anterior, la biorremediación a partir de microorganismos productores de enzimas como lignina peroxidasa (Lip) y manganeso peroxidasa (Mnp), ha surgido como una alternativa para la reparación de ambientes contaminados porque son capaces de oxidar compuestos fenólicos, no fenólicos y otros desechos químicos. El objetivo de este trabajo fue realizar una

revisión bibliográfica de la biorremediación mediante el uso de enzimas que puedan degradar colorantes provenientes de la industria del cuero. Para ello, se estudiaron dos enzimas principales: lignina peroxidasa (Lip) y manganeso peroxidasa (MnP). Se revisaron diferentes bases de datos, números artículos experimentales y teóricos donde se aprobara o rechazara el uso de enzimas catalizadoras de desechos químicos, uso de organismos fúngicos y una revisión acerca del funcionamiento enzimático. Se encontraron artículos, trabajos e investigaciones que afirmaron la capacidad enzimática que pueden tener diferentes microorganismos, sus mecanismos degradativos y absorbentes para diferentes colorantes, por otra parte se hizo una documentación de los diferentes colorantes que son utilizados en la industria de curtiembres y el gran impacto al que puede llegar sobre el ambiente por el descuido y poca consciencia del uso desmedido de colorantes, afectando principalmente al ecosistema acuático y por ende a la población que lo habita.

Palabras clave: Microorganismos, biorremediación, curtiembres, lignina peroxidasa (Lip), manganeso peroxidasa (MnP).

Abstract

Tanning is the process of transforming animal skins into leather, as a result of stabilizing the collagen fibers of the skin with tanning agents. This process is carried out in order to prevent its decomposition and facilitate its use for the manufacture of footwear, leather goods, upholstery products, among others. Tanneries generate substances such as organic and inorganic pollutants, which are highly toxic for the aquatic biota and the population that uses the resource. The liquid industrial tannery waste that is discharged without treatment into bodies of water causes a destabilization of the environment due to the effect of various pollutants. Therefore, bioremediation from microorganisms that produce enzymes such as lignin peroxidase (Lip) and manganese peroxidase (Mnp), has emerged as an alternative for the repair of contaminated environments because they are capable of oxidizing phenolic and non-phenolic compounds and other waste chemicals. The objective of this work was to carry out a bibliographic review of

bioremediation through the use of enzymes that can degrade dyes from the leather industry. For this, two main enzymes were studied: lignin peroxidase (Lip) and manganese peroxidase (MnP). Different databases, numbers of experimental and theoretical articles were reviewed where the use of enzymes that catalyze chemical waste, the use of fungal organisms, and a review of enzyme function were approved or rejected. Articles, works and investigations were found that affirmed the enzymatic capacity that different microorganisms can have, their degradative and absorbent mechanisms for different dyes, on the other hand a documentation of the different dyes that are used in the tannery industry and the great impact to which it can reach the environment due to carelessness and little awareness of the excessive use of dyes, mainly affecting the aquatic ecosystem and therefore the population that inhabits it.

Keywords: Microorganisms, bioremediation, tanneries, lignin peroxidase (Lip), manganese peroxidase (MnP).

Estudiantes: Paula Andrea Cedeño Rios, Karin Mercedes Rodríguez

Docente: Ligia Consuelo Sánchez Leal

Institución: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Septiembre del 2022.

1. INTRODUCCIÓN

La industria de curtiembres utiliza piel del ganado vacuno para la producción de diferentes tipos de prendas, durante la fabricación de sus productos, se utilizan numerosos químicos que finalmente son desechados en las cuencas hídricas de las grandes ciudades. El mayor problema de estas industrias es el mal tratamiento que se le tiene a los desechos generados pues, la mayoría de las empresas no realizan un pretratamiento químico ocasionando que las fuentes hídricas se vean amenazadas incluso disminuyendo la vida acuática¹².

El proceso general para la fabricación de curtiembres involucra la utilización de colorantes sintéticos. Pero estos colorantes no se adhieren con totalidad a la piel pues se ha descrito que los tintes tienen un rango de fijación del 60-80%, y el restante se desecha sin pretratamiento a las corrientes de agua¹⁷. Se estima, que alrededor del mundo, se descargan aproximadamente 280.000 toneladas de residuos de colorantes en los efluentes¹².

La afectación a las corrientes de agua es cada vez peor, pues al desechar los colorantes, surgen problemas con la penetración de la luz porque los tintes absorben la luz solar que entra en las corrientes de agua y ocasionan que no sea utilizada por los organismos. Las aguas residuales también presentan aumento en la demanda química y biológica de oxígeno (DQO y DBO), ocasionando problemas con la transferencia de oxígeno a los cuerpos de agua¹⁷. Las corrientes de agua, pueden presentar incrementos en la concentración de sal, turbidez y contenido orgánico, también se presenta una variación en los valores de pH que conllevan a otras problemáticas⁷.
(rosales)

La industria del cuero ha utilizado cada vez más los colorantes sintéticos, debido a esto, se ha llevado a establecer soluciones para la degradación de los mismos. La decoloración de los tintes se puede conseguir mediante métodos químicos y físicos, pues se han presentado buenos porcentajes de degradación, pero generan altos costos y tienen repercusiones medioambientales¹⁷.

Las alternativas que emplean microorganismos productores de enzimas para la descontaminación de efluentes ha sido cada vez más estudiada y se considera una buena opción para ello. Los hongos o bacterias poseen un sistema enzimático que son esenciales para la degradación de la lignina, tales como la lignina peroxidasa (LiP) y manganoso peroxidasa (MnP). La utilización de las enzimas se explica porque la lignina tiene estructuras parecidas a los colorantes, y las enzimas son capaces de degradarlos².

La enzima lignina peroxidasa es una hemoproteína que oxida compuestos de lignina fenólicos y no fenólicos, es altamente degradadora de contaminantes con alto contenido no específico e incluso es capaz de oxidar xenobióticos. Por otra parte, la enzima manganoso peroxidasa (MnP) actúa degradando compuestos químicos como la lignina y hace parte del grupo de enzimas con capacidad de oxidar fenoles, interactuando con la enzima lignina peroxidasa, la expresión de estas enzimas en los microorganismos se da en su mayoría por la limitación de carbono y/o nitrógeno o sulfato en el medio²

Así pues, se deben seleccionar el grupo de microorganismos que tienen estas enzimas, aunque los hongos como los basidiomicetos son productores de lignina peroxidasa, también otros microorganismos como las bacterias son capaces de hacerlo, por lo tanto, se han utilizado más cepas bacterianas porque ofrecen una cantidad mayor de lignina peroxidasa o enzimas, también tienen un pH neutro o alcalino y algunas de ellas también pueden ser termoestables⁴. Adicionalmente, lignina peroxidasa también puede sintetizar biopolímeros y producción de fármacos porque es químicamente específico y regio específico⁴.

Por tal motivo, se han buscado diferentes formas de biorremediar para detener los efectos adversos de estas industrias, dando lugar a procesos de filtración, adsorción, coagulación, degradación. Sin embargo, no se han podido reducir estos efectos en una mejor manera, es por ello, que este trabajo se enfoca en procesos de beneficio, tanto al medio ambiente como al industrial, utilizando el tratamiento biológico que es considerado de un costo moderado y amable con el ecosistema acuático y seres humanos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Realizar una revisión documental sobre la relevancia del uso de enzimas lignina peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP) provenientes de microorganismos para la biorremediación de efluentes industriales contaminados con colorantes utilizados en la industria de las curtiembres.

2.2 Objetivos específicos

- Recolectar información bibliográfica para la comprensión del uso de enzimas lignocelulolíticas en la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes proveniente de industrias dedicadas a curtiembre.
- Organizar la información relacionada con el uso de enzimas ligninolíticas para la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes de industrias dedicadas a curtiembre
- Establecer los mecanismos enzimáticos lignocelulolíticos para la bioremediación de aguas contaminadas con colorantes procedentes de curtiembres.
- Analizar la información sobre el uso de microorganismos para la biorremediación de corrientes de agua contaminadas con colorantes de industrias de curtiembres

3. Antecedentes

A continuación, se presentan las investigaciones recopiladas y relacionadas con el objetivo del trabajo.

La investigación de Levin et al¹ se basó en la evaluación de hongos de pudrición blanca con capacidad de producir enzimas para decolorar colorantes industriales. Para ello, se tomaron 26 hongos de pudrición blanca de Argentina y diferentes colorantes como verde malaquita, azul B, poli R-478, azul antraquinona, rojo congo y xilidina. Todos los hongos fueron cultivados en placas de agar con extracto de malta, glucosa y agar, todos los medios de cultivo fueron suplementados con colorantes diferentes y se inocularon cepas sin colorante. La actividad de las enzimas lacasa y manganeso peroxidasa se evaluó con un tampón de agar (micelio con zona decolorada) y un tampón de reacción que contenía sustrato enzimático. Así pues, la actividad de manganeso peroxidasa se evaluó con sulfato de manganeso, peróxido de hidrógeno y rojo de fenol como sustrato, la unidad de actividad enzimática (U), se definió como la cantidad de enzima requerida para decolorar 1 μ m del colorante. Adicionalmente, se realizaron medios de cultivo líquidos con medio MEA de *Coriolus versicolor* y *Fomes sclerodermeusse* para evaluar la capacidad de decolorar en medio líquido, el día 18 se recogió el micelio por filtración, se lavó dos veces y se re suspendió con un tampón, posteriormente añadió una alícuota de cada colorante a la matriz del cultivo completo, el micelio o el sobrenadante. Los resultados arrojaron que 10 de las 28 cepas que se cultivaron, fueron capaces de crecer y decolorar todos los tintes ensayados, específicamente, once de las veinte y ocho cepas que se evaluaron no decoloraron

Poly R-478, tampoco lo hicieron con azufre B. La producción de enzimas se evaluó con medios que contenían malta/glucosa y diferentes colorantes, se determinó que no hubo producción de LiP en ausencia de alcohol veratríciclo. En conclusión, se documentaron nueve especies de hongos capaces de decolorar diferentes tintes, en diferentes concentraciones, por ejemplo, *C. versicolor* se reportó como un microorganismo degradador de colorantes pues fue capaz de decolorar en una hora 28-100% de cinco colorantes diferentes agregados, los resultados concuerdan con otros hongos de pudrición blanca como *Trametes versicolor* y *P. chrysosporium* que son capaces de decolorar favorablemente Poly-R478 y bromuro de rubidio.

El proyecto de Veral et al³ se desarrolló para determinar el papel mediador del alcohol veratríciclo en la decoloración realizada por lignina peroxidasa para la degradación del colorante R Remazol azul brillante (RBBR). Para ello, se utilizó RBB y otros compuestos como clorhidrato de hidrazona y ácido 3-dimetilaminobenzoico, la enzima fue extraída de *Trametes versicolor*, el cual se cultivó en agar de malta a 5°C, posteriormente se cultivaron de cinco a siete matraces en varios puntos de tiempo y se realizó la extracción enzimática. Los resultados demostraron que a partir del octavo día de incubación, *Trametes versicolor* produjo varios picos de lignina peroxidasa, en cambio, los picos de manganeso peroxidasa se produjeron al día tres. Lo anterior, se relaciona directamente con la actividad decolorante que se detectó entre los días tres y cinco. La actividad decolorante aumentó con la actividad de lignina peroxidasa, pues tuvo la decoloración de RBBR aumentó varias veces en 8 y 13 días, también se determinó que la presencia de alcohol veratríciclo no era obligatorio para el funcionamiento de lignina peroxidasa, pero sí mejora su actividad pues en el octavo día con ácido veratríciclo se obtuvo una tasa de degradación de 46µM, diez unidades por encima de lo obtenido sin ácido veratríciclo. Se concluyó que en similitud con *P. chrysosporium*, la enzima lignina peroxidasa del hongo *Trametes versicolor*, posee la capacidad de decolorar RBBR y utilizarlo como sustrato, además, la mayor tasa de degradación se da en presencia de ácido veratríciclo, y su actividad es directamente proporcional.

El trabajo de Cheng et al⁵ se basó en el uso de *Schizophyllum sp* para la producción de manganeso peroxidasa (MnP) para la decoloración de colorantes azoicos y la validación de LiP mediante el hongo. Para ello, se aisló *Schizophyllum sp* del material en descomposición, se cultivó en el medio PDA durante 1 semana a 28°C, los micelios obtenidos fueron mezclados con agua estéril y se cultivaron en matraces a 28°C en un agitador durante 3 días. La medición de la enzima, se preparó mediante la oxidación de 2,6-dimetoxifenol (2,6-DMP) por el sistema de MnP y la mezcla se preparó mediante la adición de DMP, tartrato de sodio, peróxido de hidrógeno y 100 µl de la muestra. La actividad de la enzima se determinó espectrofotométricamente. Los resultados concluyeron que el hongo *Schizophyllum sp* es efectivo para la decoloración de diferentes colorantes como azo, antraquinona, heterocíclico y trifenilmetano. Durante el ensayo, el hongo mostró un alto nivel de MnP a parámetros de pH estables, pero la actividad de LiP fue poco detectable. La enzima MnP mostró una alta concentración, utilizando el DMP como sustrato, a un pH estable y a una temperatura media de 35°C

El trabajo de Páez et al⁸ tuvo como objetivo determinar la actividad enzimática de las lacasas y lignina peroxidasa procedentes de hongos para el tratamiento de aguas residuales. Para ello, se reactivaron los 5 hongos degradadores de colorantes que estaban identificados con un código, C20AL, C18BL, C7AL, C2BL y C1BA. Para la reactivación se procedió bajo condiciones estériles, a sembrar por punción en medio de agar extracto de malta (AEM) con 500 mg.L⁻¹ de cloranfenicol. Posteriormente, se evaluó la actividad enzimática en distintos medios con distintos componentes. Igualmente se identificaron las distintas enzimas. Se utilizó un análisis de varianza ANOVA para el análisis de los datos. En este trabajo se concluye que existen hongos del género *Fusarium*, que tienen actividad ligninolítica, lo que sugiere que hay diversos hongos que causan la podredumbre blanca que podrían ser utilizados para la biorremediación. Los hongos estudiados presentaron actividad celulolítica medida por el diámetro de halos de aclaramiento de hidrólisis de celulosa, el hongo C18BL presentó mayor actividad celulolítica, mientras que el hongo C1BA mostró la más baja. La expresión enzimática de las lacasas y de lignina peroxidases alcanzó su valor óptimo al día 16 de 40 días de ensayo enzimático. Estos datos aportan información sobre el

comportamiento de los hongos y de sus enzimas, esta información es de vital importancia para determinar el mejor momento y condiciones para añadir estos hongos a los sistemas contaminados para poder biorremediar.

La investigación realizada por Ballén-Segura et al¹¹, propone una alternativa para la descontaminación de aguas efluentes industriales procedentes de curtiembres basado en el uso de microalgas. Para ello, se recolectaron muestras de aguas residuales de una tenería en Bogotá y se dividieron para análisis de metales pesados, para la determinación de demanda bioquímica de oxígeno (DBO), caracterización fisicoquímica y experimentación para el crecimiento de microalgas. Los parámetros fisicoquímicos evaluados fueron: pH, conductividad, oxígeno disuelto, NH₄ y NH₃, sulfuros, fosfatos y cromo hexavalente. El crecimiento en cultivo se dio en tres concentraciones de las aguas residuales: 100%, 50% y 20% y debidamente diluidas con agua destilada, posteriormente, se realizaron cultivos celulares y se obtuvo la dilución óptica y el peso seco de cada cultivo. Los resultados de la investigación concluyeron que el crecimiento de las algas fue directamente proporcional a la dilución realizada, es decir, se obtuvieron mejores resultados de biomasa en el crecimiento celular sin diluir. Incluso las bacterias existentes en el agua pueden degradar la materia orgánica, generando más nutrientes, lo que puede aumentar la fase exponencial de *Scenedesmus sp*, también se concluyó que entre más cantidad de metales pesados, menor crecimiento de *Scenedesmus sp*. Incluso las microalgas pueden aprovechar la presencia de nitratos y fosfatos, lo que hace que la reducción de costos biotecnológicos se reduzca.

La investigación de Rincón et al¹² tuvo como objetivo la producción enzimática lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa por fermentación sólida en mesocarpio de coco usando el hongo Basidiomiceto *Trametes polyzona*. Para el desarrollo de este trabajo se usaron materiales y métodos tales como: Residuos de coco que fueron recolectados en un punto de venta del Estado de México, donde el coco proviene del estado de Nayarit, este coco actuará como sustrato. Se utilizó una cepa del hongo *Trametes polyzona* que fue cultivado en cajas Petri con PDA y se incubaron 5 días a 28°C e igualmente se preparó el inóculo. Se realizó una fermentación sólida y el extracto

enzimático se obtuvo agregando 10 mL de agua destilada a cada tubo, se agitaron en un vórtex durante 3 minutos y se centrifugaron a 10000 rpm durante 5 minutos. Los sobrenadantes se separaron y como indicativo de producción se determinaron las proteínas totales y la actividad de las diferentes enzimas. La determinación de proteínas totales se realizó con la técnica de Bradford usando albúmina de suero de bovino como estándar. La actividad enzimática se midió mediante espectrofotometría. En cuanto a la producción de manganeso peroxidasa, se observa que durante el paso de los días su producción se incrementa gradualmente, en donde en el 9° día se observa una actividad máxima de 2,026 U/g muestra seca, y posterior a este se observa un descenso en la actividad. A manera de conclusión, este trabajo deja ver la capacidad de utilizar al hongo *Trametes polyzona* para la producción de enzimas lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa a partir de un sustrato en este caso del coco, lo que conlleva a pensar en la gran variedad de sustratos disponibles para utilizar y así producir en masa estas enzimas y utilizarlas en diferentes ámbitos de la biorremediación.

Lazim et al¹³, realizó la biorremediación del fluoreno el cual es un hidrocarburo aromático policíclico y se crean cuando productos como el carbón, petróleo, gas, y la basura son quemados, pero el proceso de combustión no es completo. Para llevar a cabo el estudio se utilizaron diferentes métodos como la cuantificación de enzimas, pero para ello, se tuvo que cultivar el hongo utilizado que en el estudio se aisló de Matsuyama, Japón, *Polyporus sp*, el cual se cultivó S133 en un matraz Erlenmeyer de 100 ml que contenía medio de sal mineral (MSM) y luego para la estimación de la actividad enzimática, el cultivo se complementa con la cantidad deseada de fluoreno y se incubó durante intervalos de tiempo específicos y como último para determinar para identificar y caracterizar los metabolitos presentes se utilizó trimetilclorosilano en el procedimiento de sililación empleado para detectar muestras que contienen grupos hidroxilo y carboxilo, los espectros de masas de las muestras se compararon con compuestos estándar auténticos. En este artículo se concluye que el fluoreno fue totalmente degradado por el hongo *Polyporus sp*. Se descubrió que dos enzimas ligninolíticas importantes, lacasa y MnP, desempeñan un papel importante en el

complejo proceso de transformación del fluoreno por *Polyporus sp*, esto es un argumento contundente para nuestra investigación, ya que muestra la capacidad enzimática que pueden tener los hongos ligninolíticos en la biodegradación de diferentes compuestos.

Holguín et al¹⁶, planteó que el hongo *B. adusta* es capaz de degradar sustratos complejos a través de un sistema enzimático específico para cada familia de colorantes. Para demostrar esto, se realizó la selección del medio de cultivo que más promoviera el proceso de degradación de los colorantes reactivos; los medios evaluados fueron el Kirk, Zouari-Mechichi y el Park-Robinson. Se evaluó la remoción de colorantes en aguas residuales sintéticas. Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron los colorantes reactivos Bezaktiv azul V-2B 133 ($\lambda = 600$ nm), Bezaktiv amarillo V-5 GL ($\lambda = 410$ nm), Bezaktiv rojo V-5B ($\lambda = 510$ nm), pertenecientes a la familia de colorantes vinilsulfónicos, una vez seleccionado el medio de cultivo, se determinó la cinética de degradación de los tres colorantes por el hongo *B. adusta* en medio líquido. La evaluación de la degradación se observó por el medio líquido sintético Sistema Batch, en donde se pudo evidenciar la capacidad de adaptación y de degradación que tendría el microorganismo frente al colorante presente en los efluentes. Como resultado de esta evaluación se encontró que el microorganismo fue capaz de crecer y degradar el colorante a concentraciones de 125 ppm. Para concluir este artículo, se demuestra que el hongo *Bjerkandera adusta*, tiene la capacidad de decolorar efluentes de la industria textil, en este caso particular, colorantes reactivos de tipo vinil sulfónicos, esta investigación es de vital importancia para el equipo de trabajo puesto que el hongo *Bjerkandera adusta* tiene este gran mecanismo degradativo para diferentes colorantes, es por ello que se quiere demostrar que efluentes más podría degradar.

El trabajo de Osorio et al¹⁷, es fundamental debido a que se investigó sobre la decoloración del colorante industrial turquesa erionyl mediante el hongo de la pudrición blanca de la madera *Bjerkandera sp. R1*. Para ello, se seleccionó el microorganismo

Bjerkandera sp., con el cual, para llevar un posterior cultivo el cual se mantuvo 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. La capacidad de decoloración se evaluó en medio líquido a concentraciones iniciales de 100, 200, 300 y 400 mg/L, en cuanto a la actividad enzimática de la lignina peroxidasa (LiP) , manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa, se valoró a un pH de 3,0, 4,5 y 3,5, respectivamente y una temperatura de 30°C a partir del filtrado obtenido de cada muestra de cultivo. 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 (EC50) se alcanza con una concentración del colorante del 8,8%, mientras que la EC50 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. Se concluye, por lo tanto, que el hongo *Bjerkandera sp.*, además de tolerar altas concentraciones de colorantes en medio líquido (400 mg/L), tiene la capacidad de reducir estas concentraciones, la notable importancia académica para el estudio se ve reflejado en la presencia de diferentes compuestos de degradación, que permitieron proponer una posible ruta de degradación por acción de las enzimas ligninolíticas.

El trabajo de investigación de Ortiz-Monsalve et al¹⁸, se centró en la biodecoloración y biodegradación de tintes provenientes de curtiembres por *Trametes villosa* mediante enzimas lignocelulolíticas. Para lograr ello, se tomaron tres colorantes: Ácido rojo 357, ácido negro 210 y ácido azul 161, compuestos altamente tóxicos para el medio ambiente y 40 basidiomicetos de podredumbre blanca provenientes de madera en descomposición identificadas con SCS y enumeradas SCS-01 a la SCS-40. Para la siembra del microorganismo, se tomaron micelios y se cultivaron en cajas de Petri de agar de extracto de malta (MEA) y caldo de extracto de malta (MEB) con antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano. Para las preparaciones del inóculo, se tomaron 20 ml del agar MEA previamente sembrados y complementados individualmente con 100 mg/L de los tintes previamente descritos, se incubaron a 30°C durante 7 días. Los

cultivos líquidos se prepararon con 100 ml de MEB y 100 mg/L de cada colorante. Por otra parte, la actividad enzimática se evaluó mediante la evidencia de zonas coloreadas en los medios de cultivo alrededor del hongo, la presencia de oxidasas se consideró positiva cuando se evidenció una reacción con sustratos como SYB, ABTS y GUA ya que estos son sustratos utilizados por enzimas extracelulares. Los resultados demostraron que 11 cepas tienen la capacidad de degradar colorantes y de producir enzimas ligninolíticas. Las cepas SCS-02, SCS, 10 y SCS-11 demostraron degradación de tintes mediante enzimas porque crecieron y degradaron en medios GUA-MEB y ABTS-MEB. Las cepas SCS-02 y SCS-10 mostraron crecimiento en el medio SYR-MEB en ausencia de peróxido de hidrógeno, sugiriendo la actividad de lacasa pues lignina y manganeso peroxidasa necesitan de peróxido de hidrógeno para actuar. Las cepas SCS-10 y SCS-11 mostraron la actividad de manganeso peroxidasa mediante la formación de halos de color marrón en presencia de H₂O₂. En conclusión, se demostró que *Trametes villosa* pudo crecer y decolorar más del 80% de los tintes a 1000 mg/L, se probó que las condiciones neutras y alcalinas también permitieron altas eficiencias en la decoloración. Se confirmó que *Trametes villosa* es un candidato ideal para el tratamiento biológico de aguas residuales contaminadas con colorantes de la industria del cuero debido a sus porcentajes de decoloración y, por supuesto, la maquinaria enzimática que permite la degradación.

Holguín et al¹⁹, se centró en evaluar el potencial del hongo *Phanerochaete chrysosporium* como alternativa para degradar los compuestos complejos de los colorantes directos, debido a que es capaz de metabolizar estos compuestos mediante reacciones bioquímicas como la óxido-reducción, hidroxilación, hidrólisis, deshalogenación y desalquilación, dichas reacciones se deben a la producción por parte del hongo de enzimas ligninolíticas extracelulares, tales como la lacasa, manganeso peroxidasa y peroxidasa. Es importante resaltar que también se evaluaron medios de cultivo que ayuden a promover la degradación de los colorantes. Los medios evaluados fueron Kirk, Zouari-Mechichi y el Park-Robinson. De los tres, el que tuvo mejores resultados fue el medio Park Robinson. También se evaluó la presencia de aserrín como medio elicitor, ya que éste estimula de forma natural la producción de

enzimas, para desarrollar esta investigación los colorantes puestos a prueba fueron tubantín amarillo GR, Rosa 2B y azul 2RL. Como resultado de esta evaluación se encontró que el microorganismo fue capaz de crecer y degradar el colorante a concentraciones de 125 ppm. Se concluye que el microorganismo es capaz de degradar los colorantes entre un 60% y 90%, pero ya que el microorganismo presenta una capacidad de crecimiento y de degradación por debajo de la concentración de un efluente textil real, es recomendable utilizar un tratamiento físico químico que reduzca la concentración a una estimada de 150 ppm para que se pueda implementar de manera eficaz este proceso biotecnológico.

En la investigación realizada por Ortiz-Monsalve et al²¹, se estudió acerca de la micro bioremediación realizada con hongos para el tratamiento de las aguas residuales utilizadas en el proceso de teñido de las curtimbres, esto con el objetivo de disminuir variables como DBO (demanda biológica de oxígeno), DBQ (demanda química de oxígeno), TOC (Concentraciones de carbono total). Para ello, se utilizó el hongo *Trametes villosa*, se cultivó en agar extracto de malta durante 7 días a 30°C, después de obtener crecimiento en las placas de agar, se utilizó el crecimiento para inocular los matraces y estos se incubaron durante 5 días a 150 rpm, se detuvieron al 5 día porque era el día que más reportaba actividad de lacasa, para inocular las aguas residuales (muestra), se filtraron los matraces y se inocularon los gránulos en los matraces donde se encontraban las aguas residuales. Después, se extrajeron diariamente y se utilizó el sobrenadante para medir la decoloración y la actividad de la enzima lacasa, para determinar las variables, se compararon los resultados pre y post tratamiento con hongos. La investigación arrojó que *Trametes villosa* mostró resistencia y eficiencia en la biodegradación de colorantes a partir de las aguas residuales pues logró una reducción del colorante entre 85% y 95% en tiempo de incubación 24 horas. También se demostró que la actividad de decoloración era directamente proporcional a la actividad de la lacasa. En el tiempo en el cual se registró una mayor actividad de la enzima, también se reconoció una mejor actividad de la remoción de tintes y una mejor tasa de biodecoloración. La cepa también logró reducir la ecotoxicidad en un 50-70% y, en general el hongo *Trametes villosa* se considera un muy buen agente para la

biorremediación debido a la versatilidad y resistencia a los tratamientos, también se destacó el buen efecto de la biodecoloración en aguas residuales contaminadas con curtiembres.

El artículo de Yanto et al²², se basó en investigar la capacidad de biodegradación de los hongos ligninolíticos *Cymatoderma dendriticum* WM01, *Ceriporia* sp. BIOM3 y *Pestalotiopsis* sp. NG007 y las bacterias ligninolíticas *Serratia marcescens* BLSP4, *Bacillus subtilis* BLSP4 y *Pseudomonas aeruginosa* BLSP4 aplicados a los desechos de espuma de poliestireno considerada como un agente recalcitrante resistente a la biodegradación. “La estructura del poliestireno es similar a la de la lignina que, junto con otros hidrocarburos aromáticos policíclicos como fenantreno, y criseno, son degradables por enzimas ligninolíticas. La actividad de las enzimas ligninolíticas mejora cuando se agrega polvo de Albizia al medio, ya que el polvo de Albizia contiene 49% de celulosa, 26,8% lignina, 15,6% de pentosa, 0,6% de ceniza y 0,2% de sílice”. Para realizar la prueba de aislamiento se tomaron dos medios de cultivo sólido (Agar MEA para regeneración de hongos y agar Na para regeneración de bacterias) y para la prueba de degradación, se tomaron dos líquidos (MEB y NB) con un volumen de cada medio de 20 ml. A cada medio se le añadió un mililitro de solución de espuma de poliestireno con una concentración de 20.000 ppm de disolvente dimetilformalmida y micelio de cultivo fúngico. Se comprobó que *Pestalotiopsis* sp. NG007 y *P. aeruginosa* fueron capaces de ejercer acción biodegradante sobre la espuma de poliestireno, en el caso del hongo, se determinó su acción tanto en presencia de albizia en polvo como en su ausencia.

En el estudio realizado por Gowri et al²⁴, se evaluó la eliminación de los tintes en aguas residuales de compañías textiles mediante la realización de un consorcio bacteriano. Las industrias textiles utilizan dos tipos de colorantes: los cromóforos y los auxocromos, los colorantes forman un enlace covalente para formar otros compuestos como los azocolorantes, antraquinona, triarilmetano, ftalocianina, formazán y oxazina. Para ello, primero se evaluaron las características fisicoquímicas del agua efluente: color, olor, pH, sólidos totales (TS), sólidos disueltos totales (TDS), sólidos suspendidos

totales (TSS), cloruro y demanda química de oxígeno (DQO). En segundo lugar, para evaluar la capacidad bacteriana de eliminar colorantes, se depositaron 100 ml del agua muestral en 6 matraces estériles, posteriormente se le añadió 1 ml de agar previamente cultivado en consorcio y se incubaron en tiempos diferentes para evaluar la capacidad de degradación: 24, 48, 72, 96 y 120 h. Posteriormente, de la amplificación de material genético, se obtuvieron cuatro cepas bacterianas diferentes, identificadas mediante herramientas de biología molecular como: *Bacillus velezensis*, *Chryseomicrobium imtechense*, *Planococcus maritimus* y *Sphingobacterium daejeonense*. En cuanto al tratamiento de biorremediación, no se obtuvo una diferenciación de los parámetros a las 24 horas, por el contrario, a las 72 horas hubo un cambio en los parámetros iniciales: reducción del 96% en DQO, 82% del DBO, una reducción del color en 98% y reducción en la concentración del cloruro en 65%. En comparación, los consorcios bacterianos tuvieron un mejor desempeño que los monocultivos, pues *B. velezensis* mejoró el color en un 80%, TDS en 64% y cloruro en 67.5% mejoraron potencialmente la calidad del agua logró mejorar potencialmente la calidad del efluente. En conclusión, el uso de monocultivos y consorcios bacterianos para la biorremediación fueron eficaces para la eliminación del color, TDS, DQO y cloruro, lo que sugiere una nueva herramienta para la biorremediación de efluentes contaminados que se enfoca en la eliminación de métodos químicos e invasivos.

En la investigación realizada por Hansen et al²⁵, se estudiaron los productos químicos y físicos utilizados en el post-curtido y así mismo, evaluar el impacto medioambiental en las fuentes de agua. El proceso de post-curtido incluyó: desacidulación (neutralización), recurtición y tintura, en el cual se incluyen muchos productos químicos como recurtientes sintéticos y naturales, aceites naturales y sintéticos, colorantes y auxiliares químicos y ácidos, al no ser absorbidos totalmente por el material, son desechados en las aguas residuales, adicionalmente, esta etapa es la que más requiere agua y genera más contaminación. Para ello, se tomó el caso específico de una curtiduría en Brasil, en el cual se utilizan alrededor de 19 químicos naturales y sintéticos solo para una etapa en el proceso de transformación de pieles. Posteriormente, se tomaron los químicos y se caracterizaron según el criterio de: pH, conductividad, turbidez, DQO,

DBO, cloruros y sulfatos, además se evaluó la cantidad de cromo para cuantificar la cantidad de materia prima. En conclusión, los agentes recurtientes son responsables de la mayor contaminación de cloruros, sulfatos y amoníaco, incluso los químicos sintéticos son más citotóxicos que los naturales. De igual forma, los agentes engrasantes tienen mayor relación con DBO pero tienen mayor toxicidad que los agentes recurtientes. Estos químicos también tienen alto contenido de TKN, es decir, de nitrógeno y ello termina en las aguas residuales, las industrias deben tener en cuenta la naturaleza de los químicos para así reducir la cantidad de estos usados para reducir la carga de contaminación que deben tratar las plantas de tratamiento.

En la investigación realizada por Pérez et al²⁶, se utilizó la cepa *Trametes polyzona* para la degradación del colorante amaranto, el cual es un colorante clasificado como azoico. Para ello, el hongo se cultivó en el medio de cultivo PDA durante 7 días a 37°C y para las pruebas de decoloración se mantuvo la inoculación en un reactor Airlift a 37°C durante 30 días, se mantuvo constante la coloración del colorante y la concentración de inóculo, se recolectaron 3 ml para la determinación de decoloración, actividades enzimáticas de Lip, MnP y Lac. Los resultados obtenidos demostraron que *T. polyzona* es capaz de oxidar los enlaces presentes en los colorantes mediante la producción de enzimas lignocelulolíticas, esto debido a que los hongos como *T. polyzona* cambian el metabolismo dependiendo de la fuente de carbono, nitrógeno, pH y otras sales. Además, se demostró que con las condiciones adecuadas, el hongo puede producir un gran porcentaje de enzimas y favorecer el rompimiento de moléculas. La presencia de oxígeno y agitación también mejora el proceso de decoloración, además, también se afirmó que las enzimas funcionaban favorablemente cuando actuaban individualmente y que aquellos hongos que tenían estructura enzimática se degradan con mayor facilidad.

En la investigación realizada por Elham et al²⁸, se estudió sobre la actividad y rendimiento de la decoloración de *Phanerochaete chrysosporium* dada por manganeso peroxidasa. Los investigadores sostienen que el hongo *P. chrysosporium* produce enzimas extracelulares como lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasas

durante la limitación de recursos como carbono, nitrógeno y azufre. Para desarrollar la investigación, se aislaron cepas de hongos de podredumbre blanca de colección de cultivos, los colorantes usados fueron naranja ácido 7 y cristal violeta. Para la inoculación del microorganismo, se realizó en un agar de extracto de malta al 2,5% durante 7 días a una temperatura de 35°C, las esporas fúngicas se mantuvieron a 4°C en condiciones de oscuridad, también se prepararon una serie de subcultivos de conidios en matraces que contenían 100 mL del medio de cultivo y una concentración del 10%. Para lograr la producción de manganeso peroxidasa, se prepararon medios de cultivo con limitaciones de nitrógeno cambiando tartrato de amonio con cloruro de amonio, de igual forma, la medición de la actividad enzimática se basó en la oxidación de óxido de manganeso (1M) en medios de cultivo con presencia de peróxido de hidrógeno, también se evaluó la producción de LiP mediante la oxidación de ácido veraticlico a veratril aldehído mediante la reacción de tartrato y muestra diluida. El proceso de decoloración mediante los subcultivos de *P. chrysosporium*, los cuales se prepararon en 20 ml de solución enzimática y los colorantes mencionados. Los resultados concluyen que, en condiciones de escasez, el microorganismo utiliza su metabolismo secundario al producir diferentes enzimas, se demostró que la actividad de MnP va influenciada por la carencia o no de nutrientes pues, los cultivos con déficit de nitrógeno, mostraron una actividad limitada de MnP y retrasa la producción enzimática. Los investigadores también concluyeron que aunque el peróxido de hidrógeno es un activador enzimático, grandes cantidades del compuesto, pueden desactivar la enzima MnP mientras que aumenta su velocidad de reacción, del mismo modo, también informaron sobre su gran capacidad de degradar compuestos orgánicos pero la rápida desactivación de la enzima es un problema para su aplicación en los efluentes de agua, pero la utilización de sustratos o agentes estabilizadores puede facilitar la aplicación de MnP y mejorar su tasa de longevidad, producción y estabilidad.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1. Biorremediación

El proceso de biorremediación es aquel que involucra el uso de microorganismos (bacterias, hongos y arqueas) y plantas para absorber, transformar y degradar contaminantes. El uso de microorganismos está fundamentado en que estos modifican la estructura química de los contaminantes presentes en el suelo o en los efluentes. Los microorganismos han despertado gran interés por mostrar un alto porcentaje de degradación, funcionar bien en bajas concentraciones, y además, ser favorables para el medio ambiente pues no utiliza más químicos que puedan ser tóxicos para el medio ambiente ²⁷.

La biorremediación puede darse en condiciones aerobias o anaerobias y, además, los microorganismos pueden ser autóctonos del ambiente o pueden ser introducidos para acelerar la degradación de compuestos tóxicos.⁹

El proceso de biorremediación se puede clasificar en tres tipos: bioadsorción, bioacumulación y biodegradación.

1. **Bioadsorción:** es un proceso que emplea microorganismos (bacterias, hongos y algas) y que permite la eliminación de metales o solutos tóxicos en soluciones. Los microorganismos con la capacidad de absorber contienen biopolímeros con grupos funcionales que unen los iones metálicos al microorganismo, mediante diferentes técnicas como adsorción física y reacciones redox⁹.

Por ejemplo, las algas contienen grupos funcionales como carboxilo, fosforilo que permiten la atracción de contaminantes que resultan hidrófobos y compatibles con la estructura química de los microorganismos, de esta manera,

las algas han utilizado la bioadsorción y secreción de sustancias para la eliminación de contaminantes emergentes ⁴⁰.

2. **Bioacumulación:** es el fenómeno en el cual se aumenta la concentración del contaminante en un entorno u organismo. Dicho esto, la bioacumulación implica el transporte de sustancias desde el exterior hacia el interior de la célula pasando por la pared celular. Por ello, se conocen tres métodos generales para introducir una sustancia: difusión pasiva, en el cual los contaminantes van de mayor concentración a menor concentración. Y difusión pasiva facilitada, que implica la ayuda de proteínas transportadoras que van a incluir el contaminante en su estructura ⁴⁰.
3. **Biodegradación:** el proceso es el cual se transforman los contaminantes en moléculas más simples, la biodegradación puede darse porque los microorganismos utilizan los contaminantes como fuente de carbono o aceptor de algas o porque los microorganismos producen enzimas que degradan los contaminantes ⁴⁰.

4.2. Colorantes usados en la industria del cuero.

La industria del cuero se considera una de las producciones más contaminantes del mundo, el 90% de los desechos de la industria se desechan en el medio ambiente, normalmente en las corrientes de agua. Durante las últimas etapas del proceso de curtido, el teñido, se utilizan numerosos tintes para otorgar el color y permanencia en la piel animal²⁰. De hecho, los colorantes no se fijan con totalidad a la piel, se pierden alrededor del 20 al 50% del tinte y, como consecuencia, se desechan en los cuerpos de agua residuales.

Cuando los colorantes son introducidos en el medio ambiente, se acumulan en los cuerpos de agua y afectan directamente parámetros importantes para la vida acuática y estabilidad del efluente ¹⁴.

Según Selvaraj ³⁵ los parámetros de los efluentes se afectan de la siguiente manera:

- Demanda química de oxígeno (DQO): es una medida que indica la capacidad del efluente para consumir oxígeno durante el proceso de oxidación de moléculas orgánicas. Los colorantes ocasionan que aumente, esto hace que la oxidación de sustancias inorgánicas aumente por presencia del contaminante en el efluente ³⁵.
- Demanda bioquímica de oxígeno (DBO): es la cantidad de oxígeno disuelto que necesitan los organismos biológicos para descomponer el material orgánico. Los colorantes ocasionan un aumento de ello, por lo tanto, los organismos que se encuentran en el efluente necesitarán más oxígeno (que no se encuentra ampliamente disponible) para obtener energía del material orgánico ³⁵.
- pH (concentración de iones de hidrógeno): normalmente, los colorantes tienen un rango de pH de 2-10, ocasionando una desestabilización del pH al tener un rango muy amplio en la escala.
- Oxígeno disuelto (OD): es la cantidad de oxígeno que puede tener el agua o efluente a una temperatura determinada. Los colorantes disminuyen el porcentaje de oxígeno, ocasionando una pérdida de organismos acuáticos e incluso, una disminución de la cantidad de microorganismos presentes. En consecuencia, la pérdida de oxígeno traerá una modificación de los demás parámetros.

Debido a la complejidad de las moléculas hace que los tintes sean solubles en agua, no estén afectados por la temperatura, luz y jabón, y por el contrario, difícilmente de eliminar en efluentes de agua o mediante microorganismos. De la misma manera, en el artículo de Pérez et al²⁶ se menciona que durante el proceso de descomposición del tinte, puede liberar moléculas de nitrógeno o ácido que se encontraban en la estructura

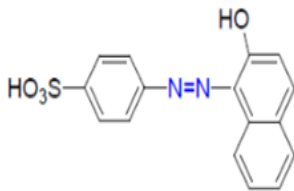
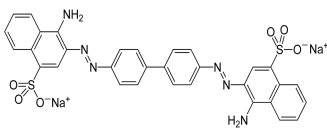
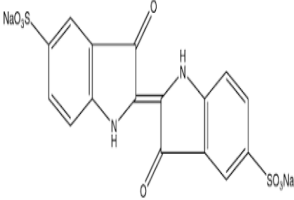
del colorante, y por el contrario, contaminar más las fuentes de agua. Los colorantes son compuestos orgánicos aromáticos sintéticos que se utilizan para diversas industrias textiles. Principalmente, los colorantes están compuestos por dos grupos:

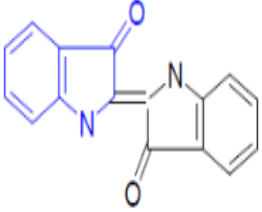
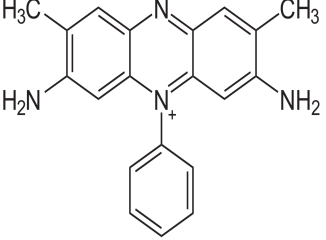
- Cromóforo: son moléculas definidas como el sitio principal del colorante. Son partículas con capacidad de absorción de longitudes de onda visibles, al hacerlo, producen el color. La capacidad de producir color se da debido a que tiene electrones capaces de excitarse y producir energía, esto quiere decir que a menor capacidad de absorber energía, menos color puede producir la molécula y algunos de los tintes permanecerán incoloros. Al mismo tiempo, los cromóforos están compuestos por dobles o triples enlaces tales como el carbono-carbono (-C=C-) o grupo azo (-N=N-).
- Auxocromo: son grupos responsables de la fijación de la molécula a teñir. Debido a que son moléculas donadoras de electrones, pueden ayudar a aumentar la acción del cromóforo ⁵.

4.3. Clasificación de los colorantes.

Según la estructura química.

Figura 1: Clasificación de los colorantes según su estructura.

Clasificación según cromóforo	Estructura	Ejemplo del colorante	Nombre del colorante
AZO	El grupo azo está compuesto por enlaces doble con nitrógeno-nitrógeno con moléculas aromáticas o de grupos benceno.		Naranja A-1
	Los colorantes azoicos pueden clasificarse en monoazo, diazo y triazo.		Rojo congo
Antraquinona	Son compuestos aromáticos que están constituidos por dobles enlaces de (-C=C-) Representan alrededor del 25% del total de los colorantes usados.		Carmín

Indigoides	Grupos amino y carboxilo		Índigo
Quinoidina	El grupo cromóforo está compuesto por 6 moléculas de enlaces de (-N=N-)		Safranina O

- Los tintes azoicos o azo son colorantes que están estructurados por(-N=N-), es decir, están conformados por doble enlaces de nitrógeno, el grupo radical o libre va unido a compuestos aromáticos y bencenos.
- Los colorantes antraquinónicos están compuestos por enlaces (-C=C-) y son obtenidos a partir de la antraquinona, compuesto que se encuentra de forma natural en las plantas, hongos e insectos y que sirve para otorgar sus pigmentos. Son resistentes a la luz y se encuentran en la mayoría de los textiles, debido a que pueden producir numerosos tonos
- Los colorantes indigoides son aquellos que tienen un grupo amino y carboxilo, con presencia de compuestos como bromo y cloro, esto ofrece que el colorante dé lugar a pigmentos más brillantes.

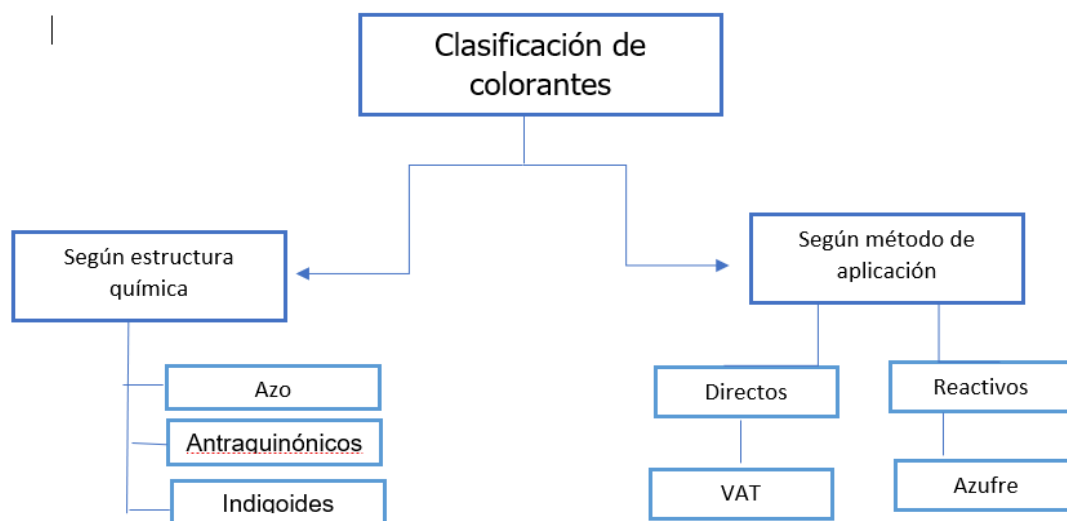


Figura 2: clasificación general de los colorantes usados en la industria de curtiembres.

Según el método de aplicación

- **Colorantes directos:** son aquellos que se aplican directamente a las fibras textiles, son solubles en agua, conformado por uno o más grupos azo y una sal de sodio del ácido sulfónico ³⁸. Se adhieren a las pieles por reacciones de electrones o formación de sales. Además, tienen alta afinidad por las fibras celulósicas.
- **Colorantes reactivos:** tienen alta resistencia a la humedad y presentan gran cantidad de tonos, aunque requiere una alta temperatura para fijarse a la piel, tienen átomos de cloro que permite que penetren la fibra de la piel ³⁶.
- **Colorantes VAT:** al contrario de los colorantes directos, no tienen afinidad por las fibras textiles. Estos colorantes provocan la reducción de una sal y por lo

tanto, requieren una serie de pasos porque los textiles deben teñirse, exponerse al aire para provocar la fijación del colorante. También tienen alta resistencia a la humedad ³⁶.

- **Colorantes de azufre:** deben solubilizarse y reducirse antes de teñir ya que son insolubles en agua y no se encuentran disponibles, también requiere de una exposición al aire para una reducción salina y que se fije con totalidad a la piel. El grupo cromóforo es un enlace de azufre ³⁶.

4.4. Degradación de colorantes.

Los métodos para la eliminación de los colorantes de los efluentes de agua surgen de la necesidad de degradarlos por completo o parcialmente debido a los daños que estos provocan en los cuerpos de agua. Lo anterior se refiere a que la presencia de colorantes en las soluciones ocasiona una serie de variaciones en parámetros como DBQ, DBO, pH, temperatura y demás anteriormente mencionados ³⁵.

Los colorantes se han degradado mediante varios métodos fisicoquímicos y biológicos que permiten la decoloración (retire del tinte) del efluente de manera eficiente, pero tienen metabolitos resultantes que surgen como consecuencia de los métodos. Se han encontrado estudios que resaltan la degradación de tintes azoicos (que representan la mayoría de los colorantes industriales usados), los investigadores han subdividido las técnicas.

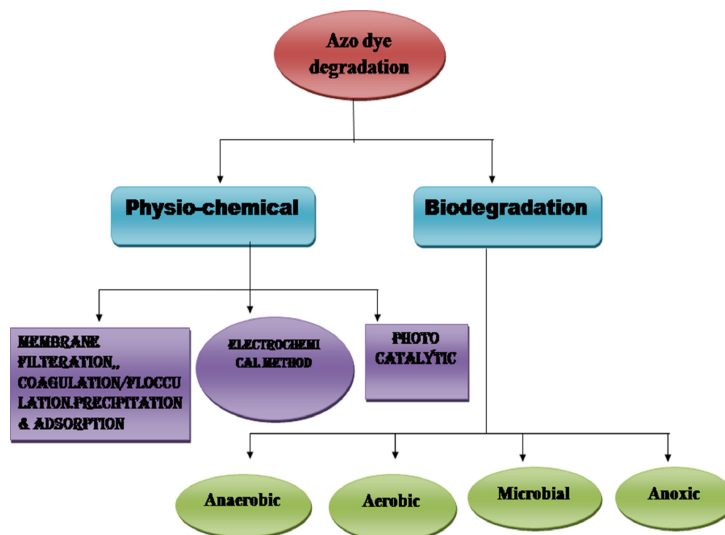


Figura 3: Algunas técnicas utilizadas en la degradación de colorantes azoicos³⁵.

La biodegradación de colorantes se puede dar mediante bacterias por condiciones anaeróbicas (sin oxígeno) o condiciones aeróbicas, en el caso de los colorantes azoicos se necesitará de azoreductasa y durante el proceso de reducción, se formarán cofactores e intermedios como FAD y NADH necesarios para la degradación de colorantes. De esta manera, estas coenzimas intermedias recibirán electrones de la azoreductasa y transferirán los mismos hacia los colorantes. El resultado de este proceso es la división de los enlaces azoicos y la eliminación de color del efluente. La degradación de colorantes en condiciones anóxicas se refiere al uso de consorcios de microorganismos aerobios y facultativos, el cultivo se origina a partir de fuentes como extracto de peptona ³⁵.

Los métodos fisicoquímicos incluyen la filtración por membrana, que consiste en la utilización de membranas para evitar el paso de moléculas de tinte. Con esta técnica los tintes pueden separarse y reutilizarse, pero no se utiliza para el tratamiento de los efluentes debido al alto peso de las moléculas colorantes, lo que hace que sea más

efectivo como tratamiento o “filtro” para utilizar otra técnica. La coagulación/floculación se utiliza para eliminar el color de las aguas residuales sin tratar para realizar otro método físico o biológico. El principio de este método se basa en la adición del coagulante como magnesio o hierro, esto hará que se forme una unión colorante-coagulante y así, se formarán precipitados que posteriormente, pueden ser eliminados por filtración. El problema de esta técnica es que se forman compuestos tóxicos que deben ser eliminados, no elimina compuestos altamente solubles y muchos de los compuestos utilizados en esta técnica, son mucho más contaminantes que los colorantes incluso en bajas concentraciones ³⁵.

4.5. Lignina peroxidasa (LiP)

La lignina peroxidasa (LiP) se encuentra en el grupo de las enzimas ligninolíticas tales como: peroxidasa, manganeso peroxidasa, lacasas y otras oxidasas, es una enzima oxidoreductasa que es ampliamente reconocida por la despolimerización de la lignina, constituyente capaz de formar compuestos aromáticos y fundamental en la pared de las plantas, es una enzima capaz de degradar lignina, compuestos fenólicos y no fenólicos por su alto potencial de óxido reducción, el pH bajo (3 a 4.5 ácido)³⁰.

Al ser enzimas que utilizan el peróxido de hidrógeno para catalizar reacciones, se han clasificado como peroxidasas vegetales y dentro de este subgrupo se encuentran tres tipos: peroxidasas intracelulares y peroxidasas bacterianas con duplicación de genes(I), peroxidasas fúngicas extracelulares (II) y peroxidasas vegetales extracelulares (III) . Las enzimas lignina y manganeso peroxidasa pertenecen al segundo subgrupo debido a su origen y estructura, y en cambio, la lacasa pertenece al primer grupo. En su contenido se puede encontrar el grupo hemo (Ion de hierro: Fe y protoporfirina IX), además de que el 87% de las hemoperoxidasas se encuentran en plantas, hongos y bacterias ³⁰.

4.5.1 Mecanismo de acción.

Las enzimas peroxidasas oxidan compuestos y/o sustratos orgánicos o inorgánicos en presencia de peróxido de hidrógeno mediante reacciones de catalización. LiP participa activamente en la oxidación de varios compuestos fenólicos, no fenólicos, compuestos aromáticos. Esto lo hacen mediante interacción enzimática que pueden llevar a la ruptura de enlaces, decoloraciones oxidativas y apertura de anillos para originar la oxidación.

Así pues, el mecanismo de lignina peroxidasa se basa en reacciones de oxidación y reducción que empieza con la acción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) sobre LiP-Fe (III); el peróxido oxida a LiP-Fe, de tal manera que pierde electrones y forma el compuesto I denominado oxo-ferrilo intermedio $[Fe(IV)]^{37}$

El compuesto I se reduce (gana electrones) mediante un sustrato para formar el compuesto II. Y la reacción termina cuando el compuesto II vuelve a su estado inicial ganando electrones, con moléculas de sustratos y dependientes de H_2O_2 , lo que convierte a la enzima en partículas oxidantes. Sin embargo, el potencial de acción del peróxido de hidrógeno ha sido cuestionado, pues al ser un factor importante en las reacciones catalíticas de las enzimas, el manejo inadecuado del compuesto puede originar fallas propias de la enzima, los fallos enzimáticos también pueden darse por el aumento de H_2O_2 en el medio de reacción que origina la desestabilización de la actividad catalítica ³⁷. Como se mencionó anteriormente, las enzimas lignina peroxidasas necesitan de un mediador, mayormente peróxido de hidrógeno, pero también se ha visto que el alcohol veratrílico (VA) funciona como un afile mediador porque mejora la acción de LiP en muchos sustratos (lignina, colorantes, compuestos químicos) y además, protege la enzima de la inactivación que puede ocasionarse en el medio ³

El uso de lignina peroxidasa en la industria para la bioremediación se basa en la oxidación, reducción y precipitación de compuestos altamente contaminantes, después puede darse la biodegradación y conversión a otros compuestos que pueden ser fácilmente aprovechables. Esto puede darse mediante la extracción de lignina peroxidasa de microorganismos (hongos, bacterias y levaduras) que producen de manera natural la enzima para degradar compuestos en el medio requerido.

4.6. Microorganismos productores de enzimas lignocelulolíticas.

Los microorganismos tienen gran potencial de producción de enzimas capaces de modificar anillos aromáticos, fenólicos, no fenólicos mediante la selección de hongos y bacterias con gran producción de enzimas extracelulares como manganeso peroxidasa y lignina peroxidasa. En relación con esto, se han estudiado diversos microorganismos capaces de sintetizar lignina peroxidasa para la degradación de lignina, un polímero capaz de proporcionarle resistencia a la planta, degradación de cromo y colorantes, entre otros contaminantes provenientes de las principales industrias del mundo.

Así pues, los hongos de podredumbre blanca (HBP) son los hongos más estudiados debido a la capacidad de degradar compuestos contaminantes que tienen estructuras a la lignina, los HBP han desarrollado un sistema enzimático extracelular único y no específico, que permite la degradación total de los componentes químicos y estructurales de la madera. Tienen la capacidad de sintetizar enzimas como lacasa, manganeso peroxidasa y lignina peroxidasa (LiP). Otras enzimas implicadas en este proceso son las del tipo oxidasas, como la aril alcohol oxidasa y la glioxal oxidasa, que generan peróxido de hidrógeno.

Estos hongos han sido efectivos en la degradación de contaminantes ambientales peligrosos gracias a la secreción de enzimas extracelulares ³³. Esta característica ha potencializado indudablemente su implementación en diversas aplicaciones industriales entre las que se destaca la deslignificación de la pulpa en el procesamiento del papel,

el aprovechamiento de residuos agroindustriales para la generación de biocombustibles o enmiendas orgánicas y el tratamiento de efluentes contaminantes con compuestos recalcitrantes, cuentan como los colorantes sintéticos, entre otros.

Los hongos de pudrición blanca como *Phanerochaete chrysosporium* tienen genes importantes para la codificación de LiP y MnP, actualmente, se ha utilizado este hongo para la producción de enzimas ligninolíticas y así, poder degradar lignina. También es importante mencionar que el hongo produce la enzima en forma de numerosas isoenzimas, lo que hace que sea fácilmente caracterizable. El hongo *P. chrysosporium* utiliza a LiP como una enzima secundaria en respuesta al agotamiento de nitrógeno y carbono, aunque también se ha reportado una desestabilización de la misma en presencia de altas cantidades de nitrógeno ³⁰

Por otra parte, los hongos de podredumbre blanca secretan una o más de las tres enzimas descritas acá para realizar procesos importantes y se ha comprobado que hay algunas cepas que, bajo condiciones adecuadas, no producen degradación de metabolitos, asimismo hay cepas que degradan más colorantes que otras y hay cepas que no decoloran algunos colorantes, por ejemplo, *Trametes versicolor* degrada en menos cantidad Poly R-478 que *P. chrysosporium*, lo que sugiere que la actividad fúngica se debe principalmente a manganeso peroxidasa y no a lignina peroxidasa ¹

El uso de los hongos en el laboratorio para la expresión de estas enzimas puede estar limitado, debido a que el cultivo de fúngicos presenta dificultades como son las condiciones de cultivo y el uso de sustratos particulares.

4.6.1. Bacterias productoras de enzimas lignocelulolíticas.

A pesar de que los hongos son los microorganismos más estudiados en cuanto a la degradación de lignina y otros procesos industriales, las bacterias también han demostrado ser buenos modelos de investigación. Esto es debido a que las enzimas

fúngicas son muy costosas de producir y no pueden soportar condiciones extremas ambientales.

Por otro lado, las bacterias pueden soportar cambios de pH y temperatura. Según el requerimiento de oxígeno, las bacterias pueden dividirse en dos: aeróbicas y anaeróbicas, la producción enzimática va ligado a ello, pues las bacterias aeróbicas generan enzimas libres, y las anaeróbicas utilizan un sistema lignocelulósico que va ligado a enzimas secundarias. Asimismo, las bacterias pueden utilizar enzimas lignocelulolíticas extracelulares (como lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa) en condiciones variables de temperatura y pH, algunos géneros de bacterias que son conocidos productores de enzimas extracelulares son *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Paenibacillus*, *Rhodococcus*, *Cellulomonas*, *Streptomyces* y *Citrobacter*.

Al mismo tiempo, las cepas bacterianas como *Streptomyces* y *Sphingomonas chlorophenolicus* son capaces de degradar colorantes azoicos mediante la producción de enzimas extracelulares. La producción enzimática de manganeso peroxidasa del grupo *Streptomyces* es similar a la producción enzimática fúngica, es decir, mostró una especificidad parecida a la producida por los hongos.

Las enzimas bacterianas también han sido tratadas y estudiadas, aunque a lo largo de la historia, se han estudiado más las enzimas fúngicas y el uso de hongos para tratamientos biológicos. Pero las enzimas fúngicas presentan algunos problemas y es que son poco estables a ambientes extremos y carentes, lo que hace que las bacterias se conviertan en buenos modelos debido a que pueden adaptarse mejor a los cambios ambientales y pueden resistir a las condiciones menos favorables.

Del mismo modo, los hongos sólo crecen a un rango específico de pH, las bacterias lo hacen a un amplio rango de pH, lo que hace que sean más específicas para el tratamiento puesto que si el contaminante se encuentra a un pH completamente ácido,

los hongos no crecerán, y puede que las bacterias crezcan con una mayor tasa de éxito¹¹.

Además, las bacterias pueden crecer con diferentes requerimientos de oxígeno (anaeróbico o aeróbico), los hongos que se utilizan para producir enzimas o degradar material, necesitan oxígeno. De hecho, se estudiaron las cepas *Citrobacter freundii* y *Citrobacter sp* para la decoloración de aguas, y demostraron que pueden degradar y funcionar correctamente en condiciones aeróbicas, *Bacillus* puede decolorar en condiciones microaerófilas ¹¹.

Del mismo modo, las bacterias *Raoultella ornithinolytica* y *Ensifer adhaerens*, han sido capaces de restaurar aguas residuales textiles con colorantes mediante la producción de LiP, *Acinetobacter calcoaceticus* y *Streptomyces viridosporus* sintetizan grandes cantidades de lignina peroxidasa y se ha documentado microorganismos como *Enterobacter hormaechei* y *Bacillus sp* ha sido capaz de actuar sobre el sustrato azure B y colorantes azoicos, utilizados en la industria de curtiembres. *Bacillus subtilis* también ha sido capaz de degradar sustratos como los azo colorantes, también utilizados en la industria del cuero ³⁰

4.7. Manganeso peroxidasa (MnP)

Manganeso peroxidasa es una enzima ligninolítica cuya principal función es la de oxidar Mn^{2+} a Mn^{3+} , usando como oxidante el peróxido de hidrógeno. Esta reacción requiere la presencia de un ácido orgánico quelante bidentado tales como, glicolato u oxalato, de modo que estabilice el Mn^{3+} y promueva la acción de la enzima ³¹

Pleurotus ostreatus es un hongo ligninolítico que invade el sustrato, provocando la contaminación de grandes extensiones de cultivo, lo que produce muchas pérdidas a la empresa productora. Esta especie corresponde a un deuteromiceto identificado como *Trichoderma pleuroti* (Park, 2004), que corresponde a una especie que produce una gran cantidad de enzimas hemicelulosas y celulosas. por lo que se aseguró que la

enzima MnP, se encuentra en gran concentración en varios estadíos, por lo que se realizó un análisis proteómico, para detectar los tipos de MnP esta producción enzimática, debe ser regulada con algún activador transcripcional. Se ha descubierto que otras especies productoras de hemicelulosas poseen el gen XlnR, que regula la secreción enzimática³². Encontrar el activador transcripcional XlnR, que se sabe está presente en el género *Trichoderma*, para conocer la ruta metabólica y así regular la producción de hemicelulosas, que permitiría degradar una mayor proporción de azúcares, beneficiando una posterior producción de biocombustibles ³²

La lacasa, particularmente la procedente de los conocidos hongos de podredumbre blanca (HPB), pertenece a este grupo de enzimas ligninolíticas y es de especial interés debido a que se produce en gran cantidad y de manera extracelular ³⁴

4.8. Producción de enzimas fúngicas.

Las enzimas pueden transformar los contaminantes para disminuir su toxicidad, aumentar la solubilidad en agua permitiendo su mayor degradación microbiana o promover la insolubilidad y su posterior eliminación de la corriente de desechos industriales. Seguramente la estabilidad y el costo de los biocatalizadores dificultan su uso industrial. Sin embargo, el costo de producción de enzimas microbianas a granel puede reducirse considerablemente con las herramientas de biología molecular actuales. Además, el uso de enzimas inmovilizadas puede extender la eficiencia y la vida útil y reducir los costos ⁵.

El interés por la biocatálisis ambiental y el estudio de nuevas enzimas ha crecido en las últimas dos décadas debido a la creciente tasa de introducción de xenobióticos al medio ambiente, cuya degradación a niveles estándar es un desafío para la mayoría de los procesos químicos o biológicos convencionales. Además, existe la necesidad de eliminar los contaminantes objetivo de las aguas residuales industriales en el rango de ppm o ppb debido al creciente crecimiento de las industrias y las áreas urbanas ⁵.

El cultivo e inmovilización de los hongos para el tratamiento de efluentes contaminados con colorantes permite utilizar las células fúngicas de forma continua. Para obtener las enzimas lignocelulolíticas, se han estudiado cómo los cultivos inmovilizados permiten una mayor producción de enzimas, aumentando la actividad enzimática, facilitando la catalización y separando más fácilmente las enzimas del resto de contenido.

El uso de enzimas libres debe ser evaluado porque estas tienden a degradarse con facilidad debido a condiciones como alta temperatura, reacciones de mezcla, adición de radicales libres o coadyuvantes que permitirán favorecer la actividad enzimática. Es por ello que los estudios se han enfocado en la utilización de enzimas inmovilizadas que permiten superar estos problemas e incluso mejorar la catalización y actividad de la enzima. Se han informado varias metodologías para la inmovilización enzimática como la auto inmovilización, la adsorción, reticulado, co-reticulado y la unión covalente ²⁹.

5. Diseño metodológico

5.1. Tipo de investigación

Este trabajo se sostiene en una metodología cualitativa que tiene como objetivo abordar las aplicaciones de los diferentes microorganismos biorremediadores de aguas contaminadas por industrias de curtiembres enfocándose principalmente en la producción de enzimas a partir de microorganismos que puedan ser utilizados con facilidad brindando una alternativa.

5.2. Nivel o enfoque investigativo

La investigación fue de tipo cualitativo, documental ya que se realizó una selección de información a partir de artículos, manuales técnicos y diferentes estudios que fundamenten la degradación con las enzimas anteriormente mencionadas en el presente trabajo.

5.3. Universo

Fuentes bibliográficas acerca de microorganismos con actividades enzimáticas en concretos hongos de podredumbre blanca en los que se haya evidenciado utilidad de degradación de contaminantes como los colorantes.

5.4. Población de estudio

Literatura científica relacionada con estudios e investigaciones encaminadas a la actividad de enzimas utilizadas en biorremediación para reparar aguas contaminadas con colorantes.

5.5. Muestra

Literatura científica, bases de datos, artículos e información obtenida de entidades nacionales e internacionales, sobre las enzimas lacasas, manganeso peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP).

5.6 Técnicas y procedimientos.

5.6.1 Revisión de la información existente.

Para el cumplimiento de los objetivos, se tuvo en cuenta la documentación existente, se revisaron 46 artículos científicos en total, en las bases de datos de ambientallex, Ebook Central, J-Gate, Mendeley, Nature International Journal of science, Sciencedirect, SpringerLink, sobre microorganismos en los que se sintetizan enzimas que tuvieran funciones de biorremediación para colorantes en curtiembres, descritos anteriormente. Por lo tanto, se tuvieron presentes publicaciones de investigaciones, artículos científicos, páginas web (Internet), libros, actas informativas y bases de datos, que proporcionen información sobre el tema.

5.6.2 Selección del material bibliográfico de acuerdo a la temática a tratar.

Se consideró principalmente documentación referente a enzimas producidas por microorganismos considerando ventajas y desventajas de la metodología planteada en esta redacción documental, características fundamentales de diferentes colorantes y cultivos para la obtención de las enzimas. Los criterios para esta búsqueda selectiva fueron publicaciones no anteriores al 2000, esto para precisar los nuevos avances y técnicas, también se tuvo en cuenta revistas con Q1 para fijar la relevancia e impacto del tema, objetividad y alcance demográficos para poder contar con una idea clara del alcance que se puede obtener en la sociedad.

5.6.3. Estructuración coherente del documento y análisis

El documento se organizó de forma cronológica, para formar la estructura que permitió dar una cobertura descriptiva durante el desarrollo del tema y así tener accesibilidad a aspectos desde el fundamento de la biorremediación, como características relevantes de las enzimas, su producción y extracción, de igual manera formas de crecimiento de los diferentes microorganismos y su vida útil en la biorremediación.

6. Resultados.

FASE 1. Búsqueda y revisión de la información.

Se realizó una búsqueda bibliográfica que posiciona una base concreta para futuras investigaciones experimentales y bibliográficas, así de esta manera permita dar a conocer las herramientas de biorremediación en diferentes campos, exponer diferentes posturas, relaciones de análisis, ideas cimentadas en documentación que permitan llevar a cabo diferentes ideas para dar soluciones de descontaminación para el beneficio de la comunidad. Por consiguiente, se quiere generar un cambio en cuanto a

la manera de generar desechos que perjudiquen la vida humana, el ecosistema y todo lo que hace parte de él.

Se revisaron artículos de los últimos años, documentos en la base de datos asociadas a FEDEGAN, ELSEVIER, ACSESS DL, SpringerLink y SciELO. Se consultó información en la web, en revistas disponibles en páginas de sociedades científicas, especialmente en revistas de ingeniería química relacionadas con la degradación de colorantes , adicionalmente en documentos que destacaban la acción de las enzimas en diferentes microorganismos, entidades y Universidades dedicadas a investigar en diferentes maneras de biorremediación, evaluando el impacto ambiental en relación a la cantidad de presupuestos que demandaban las diferentes técnicas en las que se pueden implementar dicha degradación. Como se muestra a continuación en la figura.

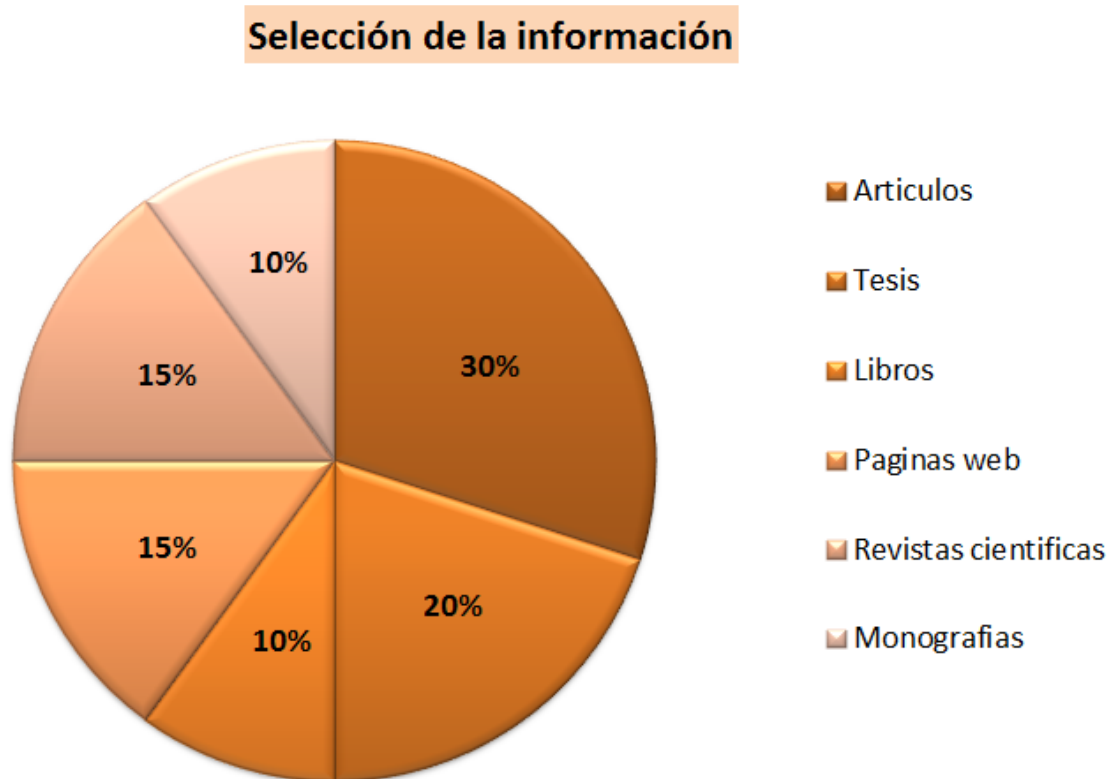


Figura 4. Selección de la información para el desarrollo del documento

FASE 2. Selección de material bibliográfico.

En esta fase se seleccionaron principalmente documentos sobre temas relacionados con enzimas tales como lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y su relevante función degradativa en colorantes utilizados en curtiembres y se consultaron otros temas como tipos de biorremediación y los diversos microorganismos productores de enzimas, sus características ambientales y adaptativas, también la manera de cultivo y extracción de las mismas.

Hallazgos de resultados:

En los temas revisados durante la recopilación de información, tuvo mayor relevancia la búsqueda de microorganismos productores de enzimas lignocelulolíticas (60,0%), colorantes utilizados en la curtiduría (25%) en donde se pueden distinguir por su estructura química y su forma de aplicación, de igual manera un tema que tuvo relevancia en esta recolección de información, es el mecanismo de acción de degradación de las enzimas sobre colorantes utilizados en curtiembres. (10 %). Por otra parte, el tema de menor información recolectada fue la producción de enzimas fúngicas (5%) en la documentación mencionada.

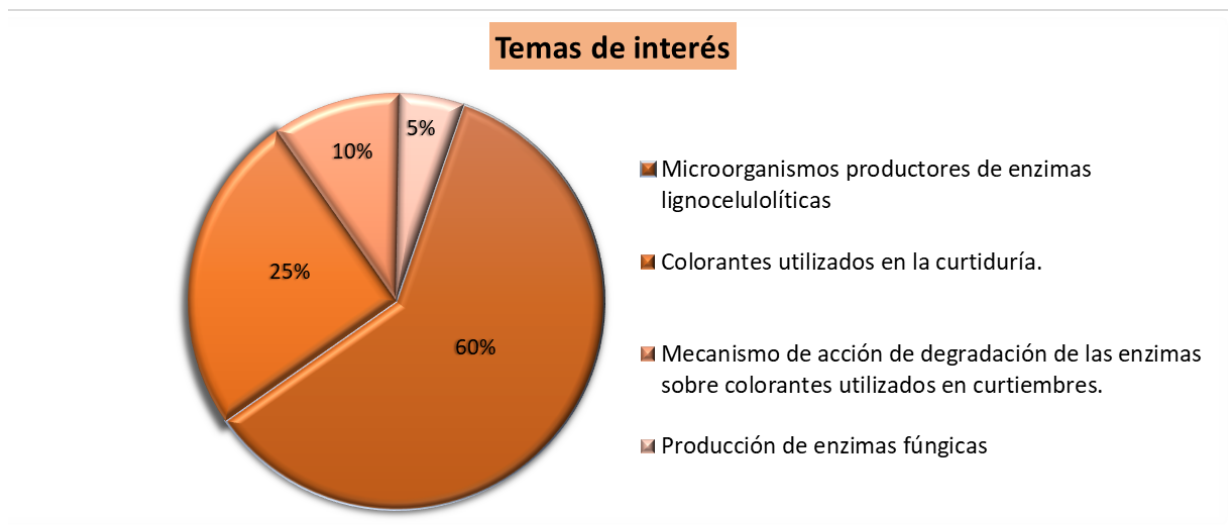


Figura 5. Principales temáticas para tratar en la revisión documental

FASE 3. Organización lógica del documento

En la siguiente tabla se presenta en orden cronológico y por tema de interés, los documentos seleccionados.

Tabla 2. Material de documento seleccionado.

TEMA: Microorganismos productores de enzimas lignocelulolíticas		
MICROORGANISMOS	AUTORES	AÑO
Capacidad decolorante de <i>Coriolus versicolor</i> .	Levin, L.	2004
Actividad enzimática de <i>Trametes versicolor</i> .	Gómez Dorado, C. Martínez Salgado, M.	2005
<i>Fusarium</i> (C20AL, C18BL, C7AL, C2BL y C1BA.)	Páez Llerena	2012
Biodegradación bacteriana	Joel Pawlak	2015
Hongos ligninolíticos de diferentes grupos taxonómicos alternativa biotecnológica para la degradación	Jersson Plácido	2015
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Adolfo Cruz Jesus Martin	2015
Hongo ligninolítico <i>Polyporus sp.</i> Degradación metabólica.	Zainab Mat Lazim Tony Hadibarata	2016
Utilizando <i>Scenedesmus sp.</i> para la biorremediación de Aguas Residuales de Curtiduría	Miguel Ballén Segura Luisa Hernández Rodríguez	2016
Efecto de <i>Rhizopus nigricans</i>	Jaime Marcial Mónica Montiel	2017
Producción de enzimas ligninolíticas por hongos de la podredumbre blanca.	Reyna L. Camacho José Luis Gerardo	2017

Dos hongos que causan la pudrición de la madera, producen enzimas ligninolíticas extracelulares.	Anastasia Zerva	2017
Remoción de colorantes reactivos empleando el hongo <i>Bjerkandera adusta</i> .	John Fredy Holguín Múnera	2017
Magnetosomas bacterianos recubiertos, eliminación de efluentes de curtiduría.	Jobin John Jacob R. Varalakshmi	2018
Biodegradación de residuos de poliestireno por bacterias y hongos ligninolíticos.	DHY Yanto NPRA Krishanti	2019
Hongos ligninolíticos autóctonos con potencial de biodegradación.	PA Gethanjali HG Gowtham	2020
Bacterianas autóctonas aisladas de efluentes de teñido de telas.	Ahila Karunakaran Gowri Margaret	2020
Biodegradación con <i>Aspergillus niger</i> del remojo de curtiduría del parque industrial de Río Seco..	Sharon Marsha	2021
<i>Trametes coccinea</i> IDEA, un hongo súper productor de lacasa aislada de un lago natural.	Beatriz Pernía	2021
Producción, purificación e inmovilización de lacasa obtenida de <i>Trametes pubescens</i> y <i>Phanaerochaete chrysosporium</i> .	Carolina Velásquez Quintero	2021
Efecto de la utilización de <i>Pleurotus ostreatus</i> y <i>Phanerochaete sp.</i>	Alejandra Parra Monroy	2021
Bacteria <i>Ralstonia pickettii</i> en la biodecoloración del colorante azul de metileno por el hongo de la podredumbre parda <i>Daedalea dickinsii</i> .	Adi Setyo Purnomo	2022
Aplicación de hongos ligninolíticos para la	Beatriz Paulina von Ziegler	2022

biorremediación de aguas contaminadas con colorantes.	Muñoz	
Producción de enzimas ligninolíticas con <i>Trametes polyzona</i> LMB TM5.	Paola Finetti Casanova.	2022
Degradación de Colorantes Industriales por <i>Pleurotus Djamor</i> .	Mario Javier Peñafiel García.	2022

TEMA: Colorantes utilizados en la curtiduría.

ESTADO QUÍMICO DEL COLORANTE	AUTORES	AÑO
Oxidación del colorante azul brillante.	Viral Christian Rohit Shrivastava Dharmendra Shukl	2005
Degradación del rojo congo, naranja G y naranja IV mediante la purificación enzimática de manganeso peroxidasa.	Cheng Xiaobin Jia Rong Li Pingsheng Tu Shiqian Zhu Qin Tang Wenzhong Li Xudong	2007
Degradación fotocatalítica de colorantes azoicos para la degradación industrial.	MA Rauf MA Meetani S. Hisaindee	2011
Estudio de la decoloración y degradación de tratamientos enzimáticos y electroquímicos de Derma Carbon, Derma Burdeau, Derma Pardo, Derma Blue, Sella Solid Yellow y Sella Solid Blue 4GL.	E. Rosales M. Pazos M. A. Sanromán	2011
Determinación enzimática de hongos degradadores para el tratamiento con colorantes de tipo catiónico.	Maritza Gardenia Páez Llenea.	2012
Decoloración fúngica y decoloración de colorantes azoicos.	Sudip Kumar Sen, Smita Raut, Partha Bandyopadhyay, Sangeeta Raut	2016
Remoción de los colorantes reactivos Bezaktiv amarillo, azul V-2B 133 y Bezaktiv rojo V-5B 74 %.	Holguín J, Escobar A, Monroy R, Muñoz G.I	2017

Decoloración del colorante Turquesa Erionyl mediante el microorganismo <i>Bjerkandera sp</i>	Osorio J, Quintero J.	2018
Biodegradación de los colorantes rojo ácido 357, rojo negro 210 y azul ácido 161 por <i>Trametes villosa</i> .	Santiago Ortiz-Monsalve, Juliana Dornelles, Eduardo Poll, Mauricio Ramirez-Castrillón, Patricia Valente, Mariliz Gutterres.	2017.
Degradación de colorantes Tubantin Azul 2RL 200 Tubantin amarillo GR 48% y Tubantin Rosa 2B 91% presentes en efluentes contaminados con la industria del cuero.	Holguín J, Escobar A, Muñoz G, Monroy R	2018
Biodegradación y desintoxicación de los colorantes naranja ácido y rojo ácido en efluentes de curtiembres.	Santiago Ortiz-Monsalve, Patricia Valente, Eduardo Poll, Victoria Jaramillo-García, João Antônio Pegas Henrique, Mariliz Gutterres	2019
Biorremediación de aguas residuales tienen rojo F3B amarillo F3R azul BB mediante consorcios bacterianos.	Ahila Karunakaran Gowri, Margaret Jenifer Karunakaran, Vasanthy Mbramani Ravindran, Phuong Nguyen-Tri dH. Hao Ngo, Xuan-Thanh Bui f gX. Hoan Nguyen hD. Duc Nguyen, iS. Woong Chang, Thamaraiselvi Chandran	2020
Decoloración biológica del colorante Amaranth mediante <i>Trametes polyzona</i> .	R. Pérez-Cadena Y. García-Esquivel a, Castañeda-Cisneros, Serna-Díaz, Ramírez-Vargas,	2020.

	C.R. Muro-Urista, A. Téllez-Jurado.	
Evaluación de la degradación de los colorantes Rojo ácido 97, negro ácido 210, amarillo ácido 42 y azul ácido 193 a través la enzima manganeso peroxidasa.	Elham Emami, Pezhman Zolfaghari, Mortaza Golizadeh, Afzal Karimi, Anthony Lau, Bahman Ghiasi, Zahra Ansari	2020
Degradación avanzada de colorantes azoicos para la industria.	V. Selvaraj, Swarna Karthika, Mansiya, M, Alagar	2021
Eliminación de colorantes Reactive Black 5, Methyl Orange, Acid Orange 7	Pedro Ant. Martínez Muñoz	2021
El uso de enzimas peroxidasa para la biorremediación de reactive Blue 4 y colorantes azoicos	Kheireddine Sellami, Annabelle Couvert, Noureddine Nasrallah, Rachida Maachi, Mahmoud Abouseoud, Abdeltif Amrane	2022
Sistemas bioeléctricos químicos para el tratamiento de colorantes azoicos.	Liping Sun, Yinghui Mo, Lu Zhang	2022
Medición de la adición de <i>Ralstonia pickettii</i> en la bio decoloración del colorante azul de metileno (MB) por el hongo <i>Daedalea dickinsii</i>	Badzlin Nabilah Adi Setyo Purnomo Hamdan Dwi Rizqi Herdayanto Sulisty Putro Refdinal Nawfa	2022
Estudio de patrones de expresión enzimáticos durante el proceso de crecimiento de <i>P. ostreatus</i> para la degradación de azul remazol y amarillo azo	Pérez Parada, Cristhian Johany	2022

Evaluar la capacidad de las enzimas lignocelulolíticas provenientes del hongo <i>Pleurotus djamor</i> para degradar Azul reactivo 19	Peñafiel García M, Romero Zambrano C, Moreira Mendoza C, Rosero Delgado E.	2022
--	---	------

TEMA: Mecanismo de acción de degradación enzimática sobre colorantes utilizados en curtiembres.

MECANISMO	AUTORES	AÑO
Aplicaciones industriales de las lipasas microbianas	Fariha Hasan Aamer Ali Shah Abdul Hameed	2006
Degradación fotocatalítica de colorantes azoicos.	MA Rauf MA Meetani S. Hisaindee	2011
Degradación de efluentes de los procesos de teñido con colorantes directos.	Holguín J, Escobar A.	2018
La lignina peroxidasa en el punto de mira para la eliminación catalítica de contaminantes.	Mohamed Bilal	2021
Eliminación de colorantes mediante tratamiento con ultrasonidos.	Miguel Hernández	2020

TEMA: Producción de enzimas

METODOLOGÍA	AUTORES	AÑO
Producción de enzimas hidrolíticas por fermentación sólida con <i>Trametes polyzona</i> .	Rincón Reyna J.F. Rincón Reyna	2016
Ligninólisis mediada por enzimas ligninolíticas	Mohamed Bilal	2019
Inmovilización una mirada a los métodos, soportes y desafíos.	Rosa I. Meneau Hernández	2020

7. Discusión.

El proceso de transformar pieles animales en cuero es una actividad que, en países en vía de desarrollo, es poco tecnificada y requiere de varias fases las cuales dejan como resultado residuos tanto químicos como orgánicos y biológicos que al verterse en el agua sin pretratamiento generan un impacto ambiental bastante agresivo. Esta problemática se ha venido discutiendo hace más de 20 años, sin embargo, regular estas industrias no es fácil, teniendo en cuenta que generalmente pertenecen a condiciones económicas desfavorables.

Considerando la preocupación ambiental y el daño irreversible que pueden causar los colorantes usados en estos procesos y el vertimiento de otros desechos que producen enfermedades en las poblaciones cercanas por los cuerpos de agua afectados, la problemática ambiental en el sector del curtido se ha reconocido como uno de los más contaminantes e influyentes en el cambio climático, aunque en los últimos años se ha tomado conciencia en la implementación de tecnologías limpias que han mitigado el impacto causado por estos procesos, hay una gran cantidad de curtiembres que no han tomado conciencia de esta problemática²³

Se han realizado estudios los cuales muestran que la población cercana a las empresas del curtido del cuero se ve afectada en relación a las condiciones de salud. Uno de los estudios se realizó a 735 personas las cuales tuvieron enfermedad diarreica aguda, enfermedad respiratoria aguda, mortalidad materna y en menor proporción enfermedades crónicas³⁴.

Los tintes utilizados en la industria de curtiembres son importantes contaminantes de origen industrial, debido a que anualmente se producen más de 700.000 toneladas de estos componentes como una respuesta a la demanda de la industria del cuero. El principal problema de estos compuestos, es que se desechan del 10-15% del colorante en los efluentes y es extremadamente peligroso para el ecosistema e incluso para la

vida humana. Así pues, han surgido numerosas técnicas físicas, químicas y biológicas para la degradación de los colorantes. Emmami et al²⁸ afirman que los métodos biológicos para la degradación de colorantes tienen un alto rendimiento comparado con otros métodos porque son asequibles, sostenibles y altamente efectivos. Por el contrario, Rosales et al afirman que el uso de microorganismos para la decoloración de efluentes no es una buena estrategia.

Osorio et al¹⁷ sostienen que los microorganismos empleados en la remoción de colorantes se pueden obtener de entornos donde existan colorantes, como los efluentes en las curtiembres. Usualmente no se trata de aislar las cepas que por adaptación natural son capaces de degradar colorantes, sino de aprovechar los beneficios de su presencia, por ejemplo, en una planta de tratamiento municipal. Se ha reportado la obtención de bacterias o consorcios microbianos capaces de degradar colorantes, debido a la adaptación de los organismos al estrés ambiental y a la presión evolutiva debido a las condiciones del efluente.

En cuanto a microorganismos, la mayoría de los estudios han sido realizados en hongos, seguido de bacterias y algas. Cheng et al⁵ asegura que los hongos tienen una maquinaria enzimática que incluye la producción de enzimas como lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa. Del mismo modo Cardona et, afirma que la degradación de colorantes por las cepas de hongos, permite identificar su capacidad ligninolítica y confirmar que los hongos del género *Phanerochaete* están entre los que muestran mayor expresión de las enzimas ligninolíticas y por su alta velocidad de crecimiento son bastante apreciados para su uso en procesos de biorremediación y producción de este tipo de enzimas.

No obstante, se encontró bibliografía que resaltaba la habilidad de los *Actinomicetos*, principalmente especies de *Streptomyces*, para decolorar y mineralizar colorantes que se han comprobado en diferentes estudios Páez et al⁸. Es importante mencionar que un gran número de bacterias reducen los enlaces azo de los colorantes, este proceso es el paso inicial en la degradación bacteriana de colorantes de tipo azo Sun et al³⁸. La

decoloración de colorantes azo puede llevarse a cabo de manera aeróbica o anaeróbica, dependiendo del tipo de bacteria que lo lleve a cabo. Hay otros reportes sobre el metabolismo aerobio de colorantes azo utilizando diferentes cepas de bacterias, por ejemplo *Aeromonas sp.*, *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas luteola* Sun et al³⁸. En el trabajo de Yu et al⁵ se aislaron cepas de un lodo activado de un sistema aerobio-anaerobio logrando la degradación de colorantes azo con diferentes estructuras químicas, mediante cepas de *Pseudomonas*, en condiciones anóxicas. La velocidad de degradación depende de numerosos factores, tales como: el pH, la temperatura, los nutrientes, así como de la especificidad de la enzima por el sustrato. Refutando el sistema degradativo de las bacterias, otros autores apoyan la idea de que los microorganismos más efectivos para la fermentación sólida son los hongos, principalmente los del género *Basidiomycetes* o conocidos como los de podredumbre blanca, ya que son únicos en su capacidad para degradar la mayoría de los componentes lignocelulósicos debido a su capacidad de sintetizar enzimas hidrolíticas extracelulares como son celulasas y xilanasas, además de enzimas oxidativas pertinentes como lo es la lacasa, lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa que despolimerizan la lignina. Osorio et al¹⁷, mencionan en su trabajo que el hongo *Bjerkandera adusta* tiene gran potencial para remover colorantes, reactivos, debido a que es capaz de degradar sustratos complejos a través de un sistema enzimático específico para cada familia de colorante, según lo reportan Holguín et al³⁸. En otro trabajo experimental mencionan nuevamente, al hongo anamorfo *Bjerkandera sp.*, que además de tolerar altas concentraciones de colorantes en medio líquido, tiene la capacidad de reducir estas concentraciones, obteniéndose niveles de decoloración de 73 a 83 % según, Osorio et al¹⁷, se puede decir que muchas especies de hongos como *Pleurotus ostreatus*, *Pichia sp.*, *Penicillium sp* y *Candida tropicalis*, realizan una adsorción de colorantes sobre su superficie, pero no una degradación química.

En cuanto a la biodegradación de colorantes, el uso de enzimas ha sido ampliamente controversial. Las enzimas peroxidases se presentan como una alternativa para la biodegradación de contaminantes en el medio ambiente, Sellami et al³⁷ afirman que el uso industrial de las enzimas extraídas por microorganismos facilitan la

descomposición rápida y efectiva de compuestos orgánicos, son específicas, seguras, tienen mejor capacidad para convertir estructuras químicas complejas y ecológicas, en cambio, Bilal et al refiere que las enzimas son poco estables y Somu et al⁴⁶ presentan algunas desventajas de la utilización enzimática industrial, afirma que la utilización de enzimas está limitada, pues no pueden reproducirse por sí solas y necesitan de un organismo para incrementar su concentración, además pierden su reactividad e incluso pueden volverse inactivas después de su interacción con el contaminante. Somu et al aclaran que estos inconvenientes pueden resolverse mediante la inmovilización de las enzimas a una membrana o soportes sólidos, esto resolvería la estabilidad y reutilización enzimática e incluso se documentaron investigaciones donde se mejoró la susceptibilidad a la temperatura, pH y cambios en el sustrato.

La enzima lignina peroxidasa es una glicoproteína globular extracelular que son producidas por microorganismos degradadores de lignina, con pH bajo óptimo de 3,0 a 4,5 con capacidad de degradación de numerosos compuestos fenólicos o no fenólicos. En los microorganismos, la producción de lignina se da en condiciones de escasez de nitrógeno/carbono y pueden presentar problemas en altas concentraciones de nitrógeno. Sin embargo, algunas investigaciones demostraron que el rango de concentración es estrecho y la concentración enzimática de lignina peroxidasa es igual o levemente inferior en condiciones de limitación de nitrógeno.

Al mismo tiempo, lignina peroxidasa se diferencia del grupo de peroxidases por su alto potencial de oxidorreducción, dado mediante peróxido de hidrógeno, el cual permite oxidar directamente compuestos aromáticos no fenólicos. Pero, al igual que manganeso peroxidasa y lacasa, se necesita de un cofactor, que a menudo es proporcionado en los cultivos para poder inducir la reacción. De hecho, al suministrar cofactores, permite que la enzima lignina peroxidasa oxide núcleos aromáticos hasta radicales catiónicos.

Por otro lado, Emmai et al²⁸ se enfocaron en la enzima manganeso peroxidasa la cual es una enzima extracelular, perteneciente a la familia de las peroxidases y también es

producida por los microorganismos en ausencia de nutrientes. La naturaleza no específica de manganeso peroxidasa ofrece la capacidad de degradar un grupo amplio de compuestos que pueden ser tóxicos. La degradación de manganeso peroxidasa también se maneja mediante reacciones de oxidación, porque es capaz de oxidar Mn^{+2} a Mn^{+3} en presencia de peróxido de hidrógeno. Sin embargo, Vos et al afirmó que la presencia de H_2O_2 en los medios de cultivo, puede provocar problemas debido a que en concentraciones altas de peróxido de hidrógeno consume este compuesto, y en menor porcentaje la degradación de colorantes o contaminantes.

8. CONCLUSIONES.

- La información recopilada arroja que existe una gran proporción de microorganismos que producen y utilizan las enzimas lignocelulolíticas. El tipo de microorganismos más citados en la literatura fueron los hongos, seguidos por las bacterias y, por último, las algas. La producción enzimática natural es aprovechada correctamente por las industrias curtiembres para la biodegradación de colorantes.
- La contaminación por colorantes en la industria del cuero es alarmante y altamente tóxica, sin embargo, no existe mucha información sobre la biorremediación en aguas, que las industrias puedan recopilar y aplicar.
- En la utilización de enzimas para aplicaciones industriales, se han identificado problemas graves que pueden detener la biodegradación de los efluentes contaminados con colorantes. El cultivo de microorganismos en las aguas, también presenta dificultades por la toxicidad de los contaminantes.
- Por último, la biorremediación surge como una respuesta de los microorganismos a situaciones de estrés y en consecuencia, pueden sentirse amenazados y cambiar su morfología, secretar proteínas y enzimas que los investigadores pueden aprovechar para reparar ambientes contaminados.
- En síntesis, se puede decir que las enzimas lignina peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP) juegan un papel importante en la biorremediación de aguas contaminadas por colorantes, siendo un gran soporte para futuras tecnologías y avances, que se pueden fundamentar en métodos más amigables con el medioambiente.

Referencias bibliográficas

1. Levin L, Papinutti L, Forchiassin F. Evaluation of Argentinean white rot fungi for their ability to produce lignin-modifying enzymes and decolorize industrial dyes. *Bioresource Technology*. 2004;94(2):169-176. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0960852403003675>
2. Gómez-Dorado, C., Martínez-Salgado, M., Nieto-Mosquera, D., Pedrosa-Rodríguez, A., Rodríguez-Vázquez, R., Rosas-Acosta, J., Estudio del efecto de dos inductores y un protector enzimático sobre la actividad de las enzimas Mn-peroxidasa y lacasa producidas por *Trametes versicolor* y su efecto en la decoloración de efluentes de la industria papelera. *Universitas Scientiarum* [Internet]. 2005;10(2):37-45. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49910204>
3. Viral Chistian, Shrivastava R, Shukla D, Modi H, Vyas B. Mediator role of veratryl alcohol in the lignin peroxidase-catalyzed oxidative decolorization of Remazol brilliant blue R. *Enzyme and Microbial Technology*. 2005;36(4):426-431. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0141022904002029>
4. Hasan F, Shah A, Hameed A. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*. 2006;39(2):235-251. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022905004606#:~:text=This%20review%20describes%20various%20industrial,bioremediation%20and%20cosmetics%20and%20perfumery.>
5. Cheng X, Jia R, Li P, Tu S, Zhu Q, Tang W et al. Purification of a new manganese peroxidase of the white-rot fungus *Schizophyllum sp.* F17, and decolorization of azo dyes by the enzyme. *Enzyme and Microbial Technology*. 2007;41(3):258-264.

Disponible en:
<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0141022907000518>

6. Rauf M, Meetani M, Hisaindee S. An overview on the photocatalytic degradation of azo dyes in the presence of TiO₂ doped with selective transition metals. *Desalination*. 2011;276(1-3):13-27. Disponible en:
<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S001191641100289X>

7. Rosales E, Pazos M, Sanromán M. Comparative efficiencies of the decolourisation of leather dyes by enzymatic and electrochemical treatments. *Desalination*. 2011;278(1-3):312-317. Disponible en:
<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0011916411004528>

8. Páez M. Determinación de la actividad enzimática de lacasas y lignina peroxidasas de hongos degradadores de colorantes seleccionados para el tratamiento de aguas residuales de industria textil. [Internet] [Citado el 11 de Abril del 2021] [previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología]. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la Vida. 2012, Disponible en:
<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5261/1/T-ESPE-033267.pdf>

9. Cruz, A, Delgado J, Torres A. Evaluación de bioadsorción de cobre de aguas utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. 2015;. Disponible en:
<https://repositorio.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/7617/Mart%C3%ADnDelgadoJes%C3%BAEfr%C3%A9n2015.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

10. Mathews S, Pawlak J, Grunden A. Bacterial biodegradation and bioconversion of industrial lignocellulosic streams. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015;99(7):2939-2954. Disponible en:
<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2425/article/10.1007/s00253-015-6471-y>

11. Ballen Segura M, Hernandez Rodriguez L, Parra Ospina D, Vega Bolaños A, Perez K. Using *Scenedesmus sp.* for the Phycoremediation of Tannery Wastewater. *Tecciencia*. 2016;11(21):69-75. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-36672016000200011
12. Rincón J, Rincón P, Mondragón A, Torres E, Ortíz A, Jimenez E, et al. Producción de enzimas hidrolíticas por fermentación sólida en mesocarpo de coco con *Trametes polyzona*. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* [Internet]. [Citado 11 abril 2021]; 2016. 1, 2, 176-181. Disponible en: <https://pdfslide.net/documents/produccion-de-enzimas-hidroliticas-por-un-proceso-microbiologico-que-ocurre-comunmente.html>
13. Lazim ZM, Hadibarata T, et al. Ligninolytic fungus *Polyporus sp.* S133 mediated metabolic degradation of fluorene. *Brazilian Journal of microbiology*, [Internet]. [Citado 11 abril 2021]; 2016.47. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4927659/>
14. Sen S, Raut S, Bandyopadhyay P, Raut S. Fungal decolouration and degradation of azo dyes: A review. *Fungal Biology Reviews*. 2016;30(3):112-133. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S1749461316300100#bib240>
15. Vos A, Jurak E, Pelkmans J, Herman K, Pels G, Baars J et al. H₂O₂ as a candidate bottleneck for MnP activity during cultivation of *Agaricus bisporus* in compost. *AMB Express*. 2017;7(1). Disponible en: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-017-0424-z#citeas>
16. Holguín J, Escobar A, Monroy R, Muñoz G. Remoción de colorantes reactivos empleando el hongo *Bjerkandera adusta*. *Informador técnico (Colombia)*, [Internet]. [Citado 11 abril 2021] 2017, 81. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/321961253_Remocion_de_colorantes_reactivos_empleando_el_hongo_Bjerkandera_adusta.

17. Osorio J, Quintero J. Decoloración del colorante industrial Turquesa Erionyl con el hongo de la pudrición blanca de la madera *Bjerkandera sp.* Revista técnica de la facultad de ingeniería universidad del Zulia. [Internet]. [Citado el 11 de abril de 2021] 2018, 41. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0254-07702018000100005

18. Ortiz-Monsalve S, Dornelles J, Poll E, Ramirez-Castrillón M, Valente P, Gutterres M. Biodecolourisation and biodegradation of leather dyes by a native isolate of *Trametes villosa*. Process Safety and Environmental Protection. 2017;109:437-451. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0957582017301453>

19. Holguín J, Escobar A, Muñoz G, Monroy R. Degradación de efluentes de los procesos de teñido con colorantes directos empleando métodos biotecnológicos. Innmodalab. [Internet]. [Citado 11 abril 2021] 2018, 3. Disponible en: <http://revistas.sena.edu.co/index.php/innlab/article/view/2110>

20. Jacob J, Varalakshmi R, Gargi S, Jayasri M, Suthindhiran K. Removal of Cr (III) and Ni (II) from tannery effluent using calcium carbonate coated bacterial magnetosomes. npj Clean Water. 2018;1(1). Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41545-018-0001-2>

21. Ortiz-Monsalve S, Valente P, Poll E, Jaramillo-García V, Pegas Henriques J, Gutterres M. Biodecolourization and biodetoxification of dye-containing wastewaters from leather dyeing by the native fungal strain *Trametes villosa* SCS-10. Biochemical Engineering Journal. 2019;141:19-28. Disponible en: <https://repository.usc.edu.co/handle/20.500.12421/2747>

22. Yanto D, Krishanti N, Ardiati A, Anita S, Nugraha I, Sari F, et al. Biodegradation of styrofoam waste by ligninolytic fungi and bacteria. *Earth and Environmental Science*. [Internet]. [Cited 11 april 2021] 2019. Disponible in: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/308/1/012001/meta>
23. Pachón, A. Gestión para mitigar los impactos ambientales generados por curtiembres de Bogotá con el fin de concientizar sobre el cambio climático. Universidad Militar Nueva Granada. 2019. Disponible en: <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/21130/GonzalezPachonLuzAngelica2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
24. Gowri A, Karunakaran M, Muthunarayanan V, Ravindran B, Nguyen-Tri P, Ngo H et al. Evaluation of bioremediation competence of indigenous bacterial strains isolated from fabric dyeing effluent. *Bioresource Technology Reports*. 2020;11:100536. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2589014X20301572#:~:text=The%20bioremediation%20capability%20of%20indigenous,and%20chloride%20from%20the%20effluent.>
25. Hansen É, Monteiro de Aquim P, Hansen A, Cardoso J, Ziulkoski A, Gutterres M. Impact of post-tanning chemicals on the pollution load of tannery wastewater. *Journal of Environmental Management*. 2020;269:110787. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0301479720307180>
26. Pérez-Cadena, R., García-Esquivel, Y., Castañeda-Cisneros, Y., Serna-Díaz, M., Ramírez-Vargas, M., Muro-Urista, C. and Téllez-Jurado, A., 2020. Biological decolorization of Amaranth dye with *Trametes polyzona* in an airlift reactor under three airflow regimes. *Heliyon*, 6(12), p.e05857. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844020326992>

27. Giovanella P, Vieira G, Ramos Otero I, Pais Pellizzer E, de Jesus Fontes B, Sette L. Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;382:121024. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0304389419309781>
28. Emami E, Zolfaghari P, Golizadeh M, Karimi A, Lau A, Ghiasi B et al. Effects of stabilizers on sustainability, activity and decolorization performance of Manganese Peroxidase enzyme produced by *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2020;8(6):104459. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S2213343720308083>
29. Meneau R, Borrego K, Livia M, Fariñas T. Inmovilización una mirada a los métodos, soportes y retos. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1812/181268228007/html/>
30. Singh A, Bilal M, Iqbal H, Raj A. Lignin peroxidase in focus for catalytic elimination of contaminants — A critical review on recent progress and perspectives. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;177:58-82. . [Internet]. [Citado el 11 de abril del 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813021003093>
31. Pernía, B., Urbina, H., González, M., Sena, L., Villasana, Y. and Naranjo-Briceño, L., 2021. *Trametes coccinea* IDEA, un hongo súper productor de lacasa aislado de un lago natural de asfalto: Tolerancia y biotransformación de hidrocarburos policíclicos aromáticos. *Bionatura*, 3(3), pp.1924-1934. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/353935707 Trametes coccinea IDEA un hongo súper productor de lacasa aislado de un lago natural de asfalto Tolerancia y biotransformacion de hidrocarburos policiclicos aromaticos](https://www.researchgate.net/publication/353935707)
32. Parra, A. (2021). Efecto de la utilización de hongos de podredumbre blanca *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete sp.* en la biotransformación de pitillos

oxodegradables pretratados con fotólisis. [Internet]. [Citado el 11 de abril del 2022]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/54284>

33. Medina Pinto, S. Biodegradación de aceites y grasas del remojo de curtiduría del parque industrial de Río Seco - Arequipa (PIRS), mediante cepas fúngicas lipolíticas [Internet]. [Citado el 11 de abril del 2022]. Disponible en : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754117300135>

34. Velasquez C. Producción, purificación e inmovilización de lacasa obtenida a partir de un proceso optimizado de fermentación en estado sólido. Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 2021 [Fecha consulta: 17 de Abril 2022]. Disponible en : <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/80747>

35. Selvaraj V, Swarna Karthika T, Mansiya C, Alagar M. An over review on recently developed techniques, mechanisms and intermediate involved in the advanced azo dye degradation for industrial applications. Journal of Molecular Structure. 2021;1224:129195. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0022286020315167>

36. Martínez P. Eliminación de colorantes mediante tratamiento con ultrasonidos. Universidad politécnica de Cartagena. 2021;. Disponible en: <https://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/9992/tfg-mar-eli.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

37. Sellami K, Couvert A, Nasrallah N, Maachi R, Abouseoud M, Amrane A. Peroxidase enzymes as green catalysts for bioremediation and biotechnological applications: A review. Science of The Total Environment. 2022;806:150500. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969721055777>

38. Sun, L., Mo, Y. and Zhang, L., 2022. A mini review on bio-electrochemical systems for the treatment of azo dye wastewater: State-of-the-art and future prospects.

Chemosphere, 294, p.133801. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653522002946>

39. Nabilah B, Purnomo A, Rizqi H, Putro H, Nawfa R. The effect of *Ralstonia pickettii* bacterium addition on methylene blue dye biodecolorization by brown-rot fungus *Daedalea dickinsii*. *Heliyon*. 2022;8(2):e08963. Disponible en:
<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S2405844022002511>

40. Jain M, Khan S, Sharma K, Jadhao P, Pant K, Ziora Z et al. Current perspective of innovative strategies for bioremediation of organic pollutants from wastewater. *Bioresource Technology*. 2022;344:126305. Disponible en:
<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0960852421016473#b0140>

41. Von Ziegler Muñoz BP, Espinosa Aguilar TC, Islas García A. Aplicación de hongos ligninolíticos para la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes. [Internet]. 30 de junio de 2022 [citado 20 de agosto de 2022];(124):15-3. Disponible en:
<https://contactos.izt.uam.mx/index.php/contactos/article/view/196>

42. Pérez Parada, Cristhian Johany. Expresión de genes de oxidasas de *Pleurotus ostreatus* en presencia de colorantes azul remazol y amarillo azo, 2022. Disponible en:
<https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/30132>

43. A Castro Viteri. Enfoques y Métodos para la Aplicación de Biorremediación en la Degradación de Contaminantes Ambientales, 2022. Disponible en:
<https://revista.uct.edu.pe/index.php/hightech/article/download/315/393>

44..Paola Finetti Casanova. Producción de enzimas ligninolíticas con *Trametes polyzona* LMB TM5 mediante la fermentación por adhesión a superficie utilizando residuos de Bolaina Blanca, 2022. Disponible en:
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/5313>

45. Peñafiel García M, Romero Zambrano C, Moreira Mendoza C, Rosero Delgado E. Efecto del pH y Sales Inorgánicas en la Degradación de Colorantes Industriales por Pleurotus Djamor. Revista Bases de la Ciencia e-ISSN 2588-0764. 2022;6(2):13. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/356924836_Efecto_del_pH_y_Sales_Inorgánicas en la Degradacion de Colorantes Industriales por Pleurotus Djamor](https://www.researchgate.net/publication/356924836_Efecto_del_pH_y_Sales_Inorgánicas_en_la_Degradacion_de_Colorantes_Industriales_por_Pleurotus_Djamor)

46 Somu P, Narayanasamy S, Gomez L, Rajendran S, Lee Y, Balakrishnan D. Immobilization of enzymes for bioremediation: A future remedial and mitigating strategy. Environmental Research. 2022;212:113411. Disponible en: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0013935122007381>