



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**

FACULTAD DE CIENCIAS MATEMÁTICAS, FÍSICAS Y QUÍMICAS

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

PROYECTO DE TITULACIÓN

MODALIDAD:

INVESTIGACIÓN DIAGNÓSTICA PROPOSITIVA

PREVIO AL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

**TEMA:**

“EVALUACIÓN DEL USO DE ENZIMAS LIGNOLÍTICAS PARA LA  
DEGRADACIÓN DE COLORANTES INDUSTRIALES.”

**AUTOR:**

MACÍAS HOLGUÍN WILLY GABRIEL

**TUTOR:**

ING. ERNESTO ROSERO DELGADO

PORTOVIEJO-ECUADOR

2017

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo de titulación principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, enseñándome a seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban.

A mis padres, José Macías y Amparito Holguín quienes fueron pilares importantes para hoy lograr este objetivo en mi vida, por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para seguir adelante.

A mi hermana Sammy Macías, quien a pesar de su discapacidad siempre estuvo pendiente de mí, dándome cariño y amor incondicional, mostrándome que la vida no tiene obstáculos para la felicidad, siendo ella mi inspiración y motivación de todos mis días.

A mi familia en general por siempre estar presentes y pendientes de mí vida estudiantil, en especial a mi tío Carlos Holguín que en mi vida es como mi hermano, quien me ha ayudado cuando lo necesité y que siempre he admirado y seguido sus pasos.

A mis amigos del alma que jamás abandonan y que han sido parte de esta meta Hernán Loor, Karen García, Vicky Mendoza, Jorge Chávez, Gema Briones, Patricio Valdiviezo, Ma. José Vera, María Arteaga, Soffia Tuárez, Ernesto Rosero, Joan Rodríguez. A mis amigos del fútbol “Los Tigrillos” e “IQ-Leones”. A mi amigo Luis Zambrano con quien se investigó paralelamente nuestros trabajos de titulación.

**Macías Holguín Willy**

## **Agradecimiento**

El presente trabajo de titulación me gustaría agradecerle a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hizo realidad este sueño anhelado.

A mis familiares, pilares fundamentales durante mi periodo de formación profesional, a mis compañeros de aula que con amistad supimos sobre llevar todo este tiempo, siendo así un aporte fundamental.

A mi tutor de Trabajo de Titulación, Ingeniero Ernesto Rosero Delgado por haberme brindado su amistad y su confianza para recurrir a su capacidad y conocimiento científico, por su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, por su rectitud en su profesión como docente, por sus consejos, que ayudan a formarme como persona e investigador, sin su ayuda esta investigación no hubiera sido posible.

A mi revisor de Trabajo de Titulación, Dr. Joan Rodríguez Díaz por su ayuda indispensable para la realización de este trabajo.

A la Universidad Técnica de Manabí por recibimos en sus aulas durante mi periodo de formación, dándonos la oportunidad de utilizar su infraestructura, materiales y equipos de laboratorio, de tal manera agradecerle al Lic. Oswaldo García por haber tenido paciencia y facilitarnos el trabajo con su ayuda. También agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado con un granito de arena para mi formación.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida, quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que han brindado y por todas sus bendiciones.

**Macías Holguín Willy**

## Resumen

Los hongos basidiomicetos o de podredumbre blanca tienen la capacidad de producir un complejo enzimático con actividad oxidativa contra una amplia variedad de sustancias tóxicas como plaguicidas, colorantes, hidrocarburos poliaromáticos, etc., que contaminan cuerpos de agua y suelos. Este trabajo muestra la capacidad para producir un extracto enzimático en un medio fermentativo con el hongo *Auricularia auricula* sobre dos residuos lignocelulósicos: bagazo de caña y cascarilla de arroz, y dos colorantes: Rojo Reactivo 195 y Azul Reactivo 19. Se realizaron 4 experimentos, el primero consistió en evaluar el extracto enzimático obtenido de la fermentación del bagazo de caña y cascarilla de arroz producido por *Auricularia auricula* sobre los colorantes, el extracto enzimático del residuo de bagazo de caña presentó una mayor oxidación, reportando una disminución de concentración de 100 ppm a 87,37 ppm en el caso del colorante Azul 19, y desde 100 ppm hasta 92,85 ppm el colorante Rojo 195. El segundo experimento se determinó un rango de tiempo en el cual el extracto enzimático reaccionaba con los colorantes, hasta que la concentración del colorante se tornaba constante, esto ocurrió desde 0 a 12 minutos después de haber puesto en contacto el extracto enzimático con los colorantes. Para el tercer experimento se evaluó el crecimiento del microorganismo en presencia de los colorantes, obteniendo un mayor crecimiento de biomasa en la fermentación de *Auricularia auricula* sobre el bagazo de caña, el cual reportó una cantidad de 0,797 gramos, a diferencia del crecimiento en cascarilla de arroz que presentó 0,222 gramos de biomasa. El último experimento se determinó la dinámica de oxidación del colorante Azul 19, durante el crecimiento de *Auricularia auricula* con bagazo de caña. Las concentraciones de colorante que se utilizaron fueron de 100, 200 y 300 ppm, con dosis de sustratos de 5,10 y 15 gramos de bagazo de caña en tiempos de 24 hasta 120 horas. De las tres dosis de sustratos evaluadas para la fermentación de *Auricularia auricula*, se consiguió una mayor decoloración (34,44%) con 5 gramos de bagazo de caña hasta un tiempo de 120 horas. Todos los experimentos fueron monitoreados mediante el Espectrofotómetro UV visible-60S.

**Palabras claves:** extracto enzimático, residuos lignocelulósicos, *Auricularia auricula*.

## Abstract

Basidiomycetes or white rot fungi have the ability to produce an enzymatic complex with oxidative activity against a wide variety of toxic substances such as pesticides, dyes, polyaromatic hydrocarbons, etc., which contaminate bodies of water and soils. This work shows the capacity to produce an enzymatic extract in a fermentative medium with the fungus *Auricularia auricula* on two lignocellulosic residues: cane bagasse and rice husk, and two dyes: Red Reactive 195 and Blue Reactive 19. Four experiments were carried out. The first one was to evaluate the enzymatic extract obtained from the fermentation of the cane bagasse and rice husk produced by *Auricularia auricula* on the dyes, the enzymatic extract of the sugarcane bagasse residue presented a higher oxidation, reporting a concentration decrease from 100 ppm to 87.37 ppm in the case of Blue 19 dye and from 100 ppm to 92.85 ppm in the Red 195 dye. The second experiment determined a time range in which the enzyme extract reacted with the dyes until the dye concentration became constant, this occurred from 0 to 12 minutes after the enzyme extract had contacted the dyes. For the third experiment the growth of the microorganism in the presence of the dyes was evaluated, obtaining a greater growth of biomass in the fermentation of *Auricularia auricula* on the bagasse of cane, which reported an amount of 0.797 grams, unlike the growth in husk of Rice that presented 0.222 grams of biomass. The last experiment determined the oxidation dynamics of the Blue 19 dye, during the growth of *Auricularia auricula* with cane bagasse. The dye concentrations that were used were 100, 200 and 300 ppm, with doses of substrates of 5, 10 and 15 grams of cane bagasse in times of 24 to 120 hours. Of the three doses of substrates evaluated for the fermentation of *auricularia auricula*, a greater discoloration (34.44%) was obtained with 5 grams of cane bagasse up to a time of 120 hours. All experiments were monitored using the Visible UV Spectrophotometer - 60S.

**Key words:** enzymatic extract, lignocellulosic residues, *Auricularia auricula*.

## Índice de Contenido

Dedicatoria .....	2
Agradecimiento .....	3
Resumen .....	4
Abstract .....	5
Introducción .....	12
1. Tema.....	14
2. Planteamiento del Problema.....	15
2.1 Delimitación del problema.....	15
2.1.1 Delimitación espacial .....	15
2.1.2. Delimitación temporal.....	16
2.1.1 Formulación del problema.....	16
3. Desarrollo de la Literatura y Marco Teórico.....	17
3.1. Antecedentes .....	17
3.2 Justificación .....	18
3.3 Marco Teórico.....	21
3.3.1 Hongos Lignolíticos .....	21
3.3.2 Enzimas Lignolíticas .....	23
3.3.3 Industria Textil .....	33
3.3.4 Aguas Residuales de la Industria Textil .....	38
3.3.5 Fermentación .....	44
3.3.6 Hongo basidiomiceto Auricularia auricula.....	47
4. Visualización del Alcance del Estudio.....	51
5. Elaboración de Hipótesis y Definición de Variables .....	52
5.1. Hipótesis .....	52
5.2 Variables .....	52

5.2.1	Variable Independiente.....	52
5.2.2	Variable Dependiente .....	52
5.3	Operacionalización de las variables.....	52
6	Desarrollo del Diseño de Investigación .....	53
6.1	Objetivo General.....	53
6.2	Objetivos Específicos.....	53
6.2.1	Campo de Acción .....	53
6.3	Diseño Metodológico.....	54
6.3.1	Tipo de Investigación .....	54
6.3.2	Métodos de Investigación.....	54
6.3.3	Técnicas.....	54
6.3.4	Recursos.....	60
6.4	Procedimiento experimental .....	60
6.4.1	Evaluación 1 y 2 .....	60
6.4.2	Evaluación 3 .....	61
6.4.3	Evaluación 4 .....	61
7	Definición y Selección de la Muestra .....	62
7.1	Sustratos.....	62
7.1.1	Cascarilla de arroz .....	62
7.1.2	Bagazo de Caña .....	62
7.2	Colorantes .....	62
7.2.1	Colorante Reactivo Rojo 195 .....	62
7.2.2	Colorante Reactivo Azul 19 .....	62
8	Recolección de los Datos .....	64
8.1	Identificación del microorganismo .....	64

8.1.1	Extracto enzimático .....	64
8.1.2	Descripción de los colorantes .....	64
8.1.3	Experimento 1.....	65
8.2	Experimento 2:.....	65
8.3	Experimento 3.....	66
8.4	Experimento 4.....	66
8.4.1	Dinámica de oxidación del colorante durante el crecimiento de <i>Auricularia auricula</i> .....	66
9	Análisis y Discusión de los Datos .....	68
9.1	Balance de materiales para el proceso de fermentación líquida .....	68
9.2	Balance de materiales en fermentación líquida del microorganismo con cascarilla de arroz .....	69
9.3	Experimento 1: Evaluación preliminar de la acción de las enzimas producidas por <i>Auricularia auricula</i> , sobre los colorantes. ....	71
9.4	Experimento 2: Evaluación del rango de tiempo de reacción del extracto enzimático, sobre los colorantes. ....	73
9.5	Experimento 3: Evaluación del crecimiento del microorganismo en presencia del colorante. ....	75
9.6	Experimento 4: Dinámica de oxidación del colorante Azul Reactivo 19, durante el crecimiento de <i>Auricularia auricula</i> con bagazo de caña. ....	77
10	Conclusiones.....	81
11	Recomendaciones .....	82
12	Presupuesto.....	83
13	Cronograma .....	84
14	Bibliografía.....	85



## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Resumen de la aplicación industrial de las enzimas .....	26
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de las enzimas según su tipo de reacción .....	27
<b>Tabla 3.</b> Organismos Productores de Enzimas Lignolíticas .....	28
<b>Tabla 4.</b> Enzimas y cofactores implicados en la degradación de la lignina .....	29
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de colorante no fijado para diversos tipos y sus aplicaciones .....	37
<b>Tabla 6.</b> Composición típica de aguas residuales de una industria textil .....	39
<b>Tabla 7.</b> Aplicaciones en la industria de Auricularia Auricula.....	50
<b>Tabla 8.</b> Composición de nutrientes para el crecimiento de Auricularia auricula.....	55
<b>Tabla 9.</b> Composición de las unidades experimentales (U.E) .....	58
<b>Tabla 10.</b> Atributos de diseño .....	59
<b>Tabla 11.</b> Matriz de experimentos .....	59
<b>Tabla 12.</b> Equipos utilizados en la investigación.....	60
<b>Tabla 13.</b> Materiales utilizados en la investigación.....	60
<b>Tabla 14.</b> Límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales.....	63
<b>Tabla 15.</b> Taxonomía del microorganismo.....	64
<b>Tabla 16.</b> Extracto enzimático en distintos tiempos de fermentación. ....	64
<b>Tabla 17.</b> Característica de los colorantes utilizados en la experimentación. ....	64
<b>Tabla 18.</b> Resultados del efecto del extracto enzimático (bagazo de caña) sobre los colorantes.....	65
<b>Tabla 19.</b> Resultados del efecto del extracto enzimático (cascarilla de arroz) sobre los colorantes.....	65
<b>Tabla 20.</b> Dinámica del efecto del extracto enzimático sobre los colorantes .....	65
<b>Tabla 21.</b> Resultados del incremento de la biomasa en presencia del colorante .....	66
<b>Tabla 22.</b> Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 24 horas de crecimiento de Auricularia auricula sobre bagazo de caña.....	66
<b>Tabla 23.</b> Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 48 horas de crecimiento de Auricularia auricula sobre bagazo de caña.....	66
<b>Tabla 24.</b> Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 72 horas de crecimiento de Auricularia auricula sobre bagazo de caña.....	67

<b>Tabla 25.</b> Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 96 horas de crecimiento de Auricularia auricula sobre bagazo de caña. ....	67
<b>Tabla 26.</b> Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 120 horas de crecimiento de Auricularia auricula sobre bagazo de caña.....	67
<b>Tabla 27.</b> Pruebas de Múltiple Rangos para concentración por sustrato.....	77

### Índice de Ilustración

<b>Ilustración 1.</b> Ciclo Catalítico de las Peroxidasas.....	31
<b>Ilustración 2.</b> Fotografía del Hongo Auricularia auricula.....	48
<b>Ilustración 3.</b> Crecimiento de biomasa con bagazo de caña en presencia de colorante.....	76
<b>Ilustración 4.</b> Crecimiento de biomasa con cascarilla de arroz en presencia de colorante.....	76

### Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Industria Textil a nivel mundial.....	34
<b>Gráfico 2.</b> Cambio de absorbancia inicial del colorante por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos (caña y arroz).....	71
<b>Gráfico 3.</b> Cambio de absorbancia inicial del colorante por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos (caña y arroz).....	71
<b>Gráfico 4.</b> Comportamiento dinámico de la concentración inicial del colorante ROJO REACTIVO 195 por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos.....	73
<b>Gráfico 5.</b> Comportamiento dinámico de la concentración inicial del colorante AZUL REACTIVO 19 por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos.....	73
<b>Gráfico 6.</b> Incremento de la biomasa en presencia del colorante.....	75
<b>Gráfico 7.</b> Gráfico de efectos principales para concentración.....	77
<b>Gráfico 8.</b> Porcentaje de decoloración del colorante con una concentración inicial de con 5 gramos de sustrato lignocelulósico.....	78

<b>Gráfico 9.</b> Porcentaje de decoloración del colorante con una concentración inicial de con 10 gramos de sustrato lignocelulósico.....	78
<b>Gráfico 10.</b> Porcentaje de decoloración del colorante con una concentración inicial de con 15 gramos de sustrato lignocelulósico.....	79

## Introducción

El desarrollo tecnológico, el crecimiento de la población y la satisfacción de las necesidades del ser humano, ha permitido el incremento de la contaminación ambiental a nivel mundial, y uno de los elementos principales de la naturaleza que se encuentra afectada es el agua.<sup>1</sup>

El 80% de las industrias textiles ecuatorianas, no emplean un tratamiento de sus aguas residuales y en la mayoría de los casos son vertidas en principales fuentes hídricas, es así que la presencia de color en el agua lleva a dos problemas ambientales graves: (i) la interrupción del grado de iluminación en el medio acuático y (ii) los subproductos generados a partir de su ruptura molecular de colorantes, algunos de ellos tóxicos o mutagénicos, de esta manera se producen alteraciones en sus componentes físico y biológico del ecosistema intervenido,<sup>1</sup> el teñido textil se emplea cada vez con mayor frecuencia en el país, tanto a nivel artesanal como industrial, lamentablemente sin considerar las medidas de seguridad tanto personales como ambientales.<sup>2</sup>

Los tratamientos utilizados para la remoción de efluentes con colorantes provenientes de la industria textil son del tipo físico, químico y biológico,<sup>3</sup> estos últimos se trabajan en sistemas aerobios, anaerobios o mixtos y utilizan diferentes tipos de microorganismos como bacterias algas, levaduras, hongos; los cuales son considerados efectivos para la remoción de sustancias tóxicas y del exceso de materia orgánica.<sup>2</sup>

Los hongos ligninolíticos u hongos de podredumbre blanca forman parte de los microorganismos más utilizados para la biorremediación de efluentes contaminados por la industria textil, ello, considerando su capacidad para degradar la lignina, que es un polímero con alta concentración de anillos aromáticos y un profundo grado de polimerización.<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> Coronel, V. (Junio de 2013). *Estudio de factibilidad de un proceso de biorremediación del colorante índigo presente en aguas residuales de la industria textil en la ciudad de Cuenca, a través de hongos ligninolíticos*. Obtenido de Tesis de Grado.

<sup>2</sup> Koch, A. (2011). *Determinación de la actividad enzimática de lacasas y lignina peroxidasas de hongos degradadores de colorantes seleccionados para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil*. Obtenido de Departamento de ciencias de la vida.

<sup>3</sup> Castillo, D. (7 de Diciembre de 2004). *Aislamientos de hongos degradadores de colorantes empleados en la industria textil*. Obtenido de Centro de investigación en biotecnología aplicada: [http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/1109/1/407\\_2004\\_CIBA\\_MAESTRIA\\_castillo\\_hernandez\\_dalia.pdf](http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/1109/1/407_2004_CIBA_MAESTRIA_castillo_hernandez_dalia.pdf)

La mayor parte de los hongos ligninolíticos pertenecen al grupo basidiomicetos y su mecanismo enzimático producido por los hongos ligninolíticos viene dado por la acción de oxidasas y peroxidasas, estas enzimas no presentan una especificidad alta, por lo tanto pueden tener actividad sobre diferentes compuestos tipo fenólicos y azo.<sup>4</sup>

Se conoce que la degradación de la lignina es catalizada por un complejo extracelular que producen los hongos, cuando han sido expuestos a condiciones de limitación de nutrientes en el medio de cultivo. Este complejo está compuesto por tres enzimas ligninolíticas involucradas en la degradación de la lignina, la manganeso peroxidasa (MnP), la lignino peroxidasa (LiP) y las lacasas (L).<sup>5</sup>

---

<sup>4</sup> Dávila, G. (2006). *Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales*. Obtenido de Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biotecnología: [http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/MensajeBioquimico/Mensaje\\_Bioq06v30p29\\_55\\_Rafael\\_Vazquez.pdf](http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/MensajeBioquimico/Mensaje_Bioq06v30p29_55_Rafael_Vazquez.pdf)

<sup>5</sup> Córdova, K. (2009). *Resistencia natural de *guadua angustifolia kunth*. Al ataque de hongos ligninolíticos como alternativa hacia nuevas posibilidades de uso*. Obtenido de Pontificia Universidad Javeriana: <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/653/1/cien13.pdf>

## **1. Tema**

Evaluación del uso de enzimas lignolíticas para la degradación de colorantes industriales.

## 2. Planteamiento del Problema

Ecuador es uno de los países más biodiversos del mundo, con una gran diversidad biológica como flora, fauna y microbiota. Un claro ejemplo son los bosques montañosos tropicales como el “Parque Nacional Podocarpus” (Zamora Chinchipe; Zona 7) en el sur de Ecuador, representantes de esta diversidad donde se podría estimar 24000 especies de hongos para esta zona protegida, con un alto porcentaje de especies potenciales por descubrirse.<sup>6</sup>

A pesar de los grandes avances que ha mostrado el Ecuador en cuanto a materia ambiental, aún existen varios problemas con los que se enfrenta, como los altos índices de contaminación a causa de las descargas de efluentes industriales y domésticos, es así que hasta el 2013, se conocía que el 70% de los ríos han sido contaminados por diversas fuentes de carácter industrial, siendo una de las principales la industria textil<sup>7</sup>. Por otra parte existe una alta tasa de deforestación y por ende una disminución de caudales superficiales, y debido a la presencia de desechos sólidos y al continuo uso de plaguicidas, fertilizantes, pesticidas y colorantes, el agua presenta una alta carga contaminante.

Por otra parte la actividad científica y tecnológica ha llegado a constituir la principal fuente de saber teórico y práctico, más aún su importancia tiende a acrecentarse al punto de constituir un recurso y factor fundamental ineludible del desarrollo.<sup>8</sup>

### 2.1 Delimitación del problema

#### 2.1.1 Delimitación espacial

La caracterización de las enzimas será realizada en el laboratorio de Biología Molecular de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.

La evaluación de la degradación de colorantes será realizada en el laboratorio de investigación de la Universidad Técnica de Manabí.

---

<sup>6</sup> MAE. (02 de Enero de 2014). *Ministerio del Ambiente*. Obtenido de <http://www.ambiente.gob.ec/parque-nacional-podocarpus/>

<sup>7</sup> Rosero, E. (Junio de 2016). *Impacto de la producción de biomasa de Auricularia auricula, utilizando residuos agroindustriales contaminantes en el Ecuador*. Obtenido de Trabajo Investigativo Presentado Como Mínimo de Ciencia Tecnología y Sociedad

<sup>8</sup> Rosero, E. (Junio de 2016). *Impacto de la producción de biomasa de Auricularia auricula, utilizando residuos agroindustriales contaminantes en el Ecuador*. Obtenido de Trabajo Investigativo Presentado Como Mínimo de Ciencia Tecnología y Sociedad

### **2.1.2. Delimitación temporal**

El tiempo que se desarrolló y análisis para la presente investigación fue en el primer semestre del 2016.

### **2.1.1 Formulación del problema**

¿Las enzimas producidas por un hongo basidiomiceto son capaces de degradar colorantes presentes en efluentes industriales?



### 3. Desarrollo de la Literatura y Marco Teórico

#### 3.1. Antecedentes

Los colorantes textiles tiene gran persistencia en el ambiente, y los métodos de eliminación clásicos no son útiles debido a que, oxidaciones o reducciones parciales pueden generar productos secundarios altamente tóxicos, los métodos actualmente utilizados incluyen procesos físicos, químicos y biológicos.

Para tratamiento de aguas residuales con colorantes, se ha utilizado varias metodologías tales como adsorción, neutralización, coagulación, degradación química y fotocatalítica, ozonación, filtración por membranas e intercambio iónico. A pesar que estos procesos físicos y químicos producen efluentes de buena calidad, en la mayoría de las ocasiones generan un alto costo, y pueden generar subproductos aún de mayor toxicidad, razones por las cuales se han estudiado con mayor interés los proceso biológicos, los que se consideran muy efectivos por ser tratamientos amigables con el medio ambiente, de baja producción de lodos y competitivo en cuanto a los costos requeridos.<sup>9</sup>

Los hongos ligninolíticos u hongos de podredumbre blanca forman parte de los microorganismos más utilizados para la biorremediación de efluentes contaminados por la industria textil, ya que cuentan con una batería de enzimas muy versátil, la cual utiliza para degradar la lignina, polímero con una alta concentración de anillos aromáticos y un profundo grado de polimerización.<sup>10</sup>

Las principales enzimas que degradan la lignina son: lacasas, lignina peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP). La lacasa es una proteína multicobre perteneciente a la familia de las enzimas oxidasa azul, se clasifica como una fenoloxidasa y cataliza la oxidación de diversos compuestos aromáticos e inorgánicos (fenoles en particular), al mismo tiempo reduce el oxígeno a agua. Los colorantes fenólicos, fenoles, clorofenoles, algunos difenilmetanos y benzopirenos son sustratos oxidados por esta enzima; la enzima

---

<sup>9</sup> Garzón, R. (2009). Cinética de degradación de colorantes textiles de diferentes clases químicas por hongos y bacterias inmovilizados sobre fibras de Agave tequilana. Obtenido de Pontificia Universidad Javeriana: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis217.pdf>

<sup>10</sup> Castillo, D. (7 de Diciembre de 2004). *Aislamientos de hongos degradadores de colorantes empleados en la industria textil*. Obtenido de Centro de investigación en biotecnología aplicada: [http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/1109/1/407\\_2004\\_CIBA\\_MAESTRIA\\_castillo\\_hernandez\\_dalia.pdf](http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/1109/1/407_2004_CIBA_MAESTRIA_castillo_hernandez_dalia.pdf)

lacasa puede degradar la lignina incluso en ausencia de otras ligninasas, tales como MnP y LiP.

La lignina peroxidasa es una glicoproteína que tiene un grupo prostético con actividad catalítica dependiente del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, es una enzima capaz de oxidar diversos compuestos aromáticos no fenólicos, tales como alcohol bencílico, causando la escisión de las cadenas laterales de estos compuestos, catalizando reacciones de apertura del anillo aromático, demetoxilación y decloración oxidativa. La manganeso peroxidasa es una enzima extracelular glicosilada que tiene un grupo prostético hemo, el mecanismo de reacción de la MnP es similar a la LiP, pero con una sustitución diferente.<sup>11</sup>

Por la necesidad de disponer de tratamientos biológicos que erradiquen los problemas de contaminación provenientes de las industrias textiles, se han realizado y reportado varias investigaciones en el mundo, por ejemplo en el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela (2006), se probaron siete cepas de hongos lignolíticos encontrando valores representativos de degradación a sustancias colorantes de la industria textil, para las cepas *Phanerochaete chrysosporium* y *Phanerochaete sordida* entre el 82% y 86% respectivamente<sup>12</sup>, por otra parte el Instituto de Ciencias de la Universidad de Autónoma de Puebla (2010), degradaron colorantes textiles tales como azul cibanon, azul cibacron, solofenil, azul erionyl y azul mariposa, utilizando a la peroxidasa de chayote, obteniendo resultados de decoloración entre el 91% y 98% monitoreados mediante espectroscopía UV-VIS.<sup>13</sup>

### 3.2 Justificación

En el Ecuador se han reportado graves problemas de contaminación ambiental debido a los vertidos residuales de las distintas industrias. Uno de los mayores problemas es la contaminación de efluentes por colorantes utilizados en las empresas textiles, las cuales provocan cambios en el medio natural debido a la presencia de sustancias tóxicas. Para disminuir este problema existen varios mecanismos tanto físicos, químicos como biológicos.

---

<sup>11</sup> Álvarez, P. (2014). *Actividades enzimáticas de hongos para el pre-tratamiento de residuos lignocelulósicos*. Obtenido de Universidad Politécnica de Chiapas.

<sup>12</sup> Cardona, M. (2009). Degradación de colorantes industriales con. *Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 27-37

<sup>13</sup> Calderón, A. (2004). *Degradación de colorantes textiles utilizando a la peroxidasa de chayote*. Obtenido de [http://web.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EC/TAC-12.pdf](http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EC/TAC-12.pdf)

Pero aún se ve la necesidad de desarrollar un método versátil, eficiente y económicamente factible para degradar sustancias tóxicas, cuyas repercusiones tomen en cuenta principalmente sobre la conservación del medio ambiente y el ahorro del capital necesario para dar tratamiento a dichos efluentes.

El método biológico, implica un aislamiento y selección de microorganismos capaces de degradar colorantes de naturaleza diversa, representando una alternativa potencial en el tratamiento de aguas residuales textiles con alta carga de colorantes, la aplicación de un microorganismo o un conjunto de microorganismos, permiten mejorar no sólo la eficiencia en la decoloración, sino también el rango de colorantes que puedan ser degradados.<sup>14</sup>

Los colorantes son extensamente utilizados en muchos sectores industriales, durante los procesos de producción y de coloración de los textiles, de 10 al 15% de los colorantes utilizados son vertidos en los efluentes como desechos contaminantes, estos colorantes tienen una gran persistencia, son tóxicos y por tanto deben ser degradados o al menos totalmente neutralizados antes de ser vertidos, utilizar hongos que causan “podredumbre blanca” de la madera es una de las alternativas viables para este fin, ya que presenta un menor impacto ambiental por ser un proceso de carácter biológico que utiliza sustancias metabólicas secundarias como las enzimas (manganeso peroxidasa MnP, lignina peroxidasa LiP y lacasa L)<sup>15 16</sup>.

Una de las enzimas más destacadas para tratar aguas con alta carga de colorantes es la manganeso peroxidasa (MnP), la cual es una hemoproteína que cataliza la oxidación de Mn<sup>+2</sup> a Mn<sup>+3</sup>, es dependiente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, y el método de acción se basa en el manganeso como precursor, el cual es quelado por diferentes ácidos orgánicos como glicolato u oxalacetato, y puede oxidar a una amplia variedad de compuestos fenólicos y colorantes,

---

<sup>14</sup> Castillo, D. (7 de Diciembre de 2004). *Aislamientos de hongos degradadores de colorantes empleados en la industria textil*. Obtenido de Centro de investigación en biotecnología aplicada: [http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/1109/1/407\\_2004\\_CIBA\\_MAESTRIA\\_castillo\\_hernandez\\_dalia.pdf](http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/1109/1/407_2004_CIBA_MAESTRIA_castillo_hernandez_dalia.pdf)

<sup>15</sup> Jiménez, T. (2003). *Nuevo proceso de biodegradación de colorantes, utilizando hongos de la podredumbre blanca de la amdera*. Obtenido de Universidad de Antioquía: <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169817981006.pdf>

<sup>16</sup> Usme, W. (2004). *Utilización de los hongos de la pudrición blanca en la biodegradación de contaminantes orgánicos*. Obtenido de Escuela de procesos y energía. Universidad Nacional de Colombia: [http://www.smbb.com.mx/revista/Revista\\_2004\\_1/hongos.pdf](http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2004_1/hongos.pdf)

entre ellos anillos aromáticos de los colorantes azo<sup>17</sup>. Con la ayuda de estos quelantes, los iones de Mn<sup>+3</sup> se estabilizan y se difunden en el sustrato. El sistema manganeso peroxidasa posee un potencial redox inferior a la lignina peroxidasa y oxida en forma preferencial los sustratos fenólicos.<sup>18</sup>

---

<sup>17</sup> Garzon, R. (2009). Cinética de degradación de colorantes textiles de diferentes clases químicas por hongos y bacterias inmovilizados sobre fibras de Agave tequilana. Obtenido de Pontificia Universidad Javeriana: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis217.pdf>

<sup>18</sup> Usme, W. (2004). Utilización de los hongos de la pudrición blanca en la biodegradación de contaminantes orgánicos. Obtenido de Escuela de procesos y energía. Universidad Nacional de Colombia: [http://www.smbb.com.mx/revista/Revista\\_2004\\_1/hongos.pdf](http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2004_1/hongos.pdf)

### 3.3 Marco Teórico

#### 3.3.1 Hongos Lignolíticos

##### 3.3.1.1 Definición y Características

Los hongos lignolíticos son un grupo de microorganismos de valor biotecnológico significativo, debido a su capacidad para degradar una variedad de sustratos pueden usarse para remediar contaminantes en el agua y el suelo. Se ha demostrado que las enzimas peroxidadas y las lacasas oxidan compuestos recalcitrantes in vitro, pero la probable significación de los niveles individuales de las enzimas sigue siendo incierta.<sup>19</sup>

Por otra parte con el uso de estos microorganismos, es posible la valorización de residuos agroindustriales, a través del aislamiento de valiosos polisacáridos dietéticos de la biomasa fúngica. Los hongos lignolíticos son también un recurso valioso de biocatalizadores industrialmente relevantes. Son usados para el tratamiento de efluentes textiles debido a que producen enzimas asociadas con la degradación de lignina, que oxidan los diferentes sustituyentes y los anillos aromáticos de algunos colorantes.<sup>20</sup>

Las enzimas oxidorreductivas lignolíticas son ampliamente utilizadas para una variedad de aplicaciones, industriales u otras, la síntesis orgánica de sustancias químicas de valor añadido con el uso de procesos biocatalizadores respetuosos con el medio ambiente, con miras a la producción rentable de compuestos con posible uso en la industria farmacéutica o polímera, es una alternativa a la problemática síntesis química de compuestos orgánicos.<sup>21</sup>

En la actualidad, las enzimas oxidorreductivas lignolíticas producidas por los hongos lignolíticos se utilizan ampliamente en aplicaciones de síntesis orgánica. La obtención de hongos comestibles no solamente es una alternativa de uso de desechos agroindustriales que da como resultado un producto alimenticio, el hongo, y un sustrato degradado que puede emplearse como abono; adicionalmente, el recuperar las enzimas generadas por los hongos durante la fermentación genera un beneficio adicional del cultivo de hongos, que cada vez gana más fuerza en el campo biotecnológico.

---

<sup>19</sup> Novotný, Č., Svobodová, K., Erbanová, P., Cajthamla, T., Kasinatha, A., Langb, E., & Šašeka, V. (2004). Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. *Soil Biology and Biochemistry*, 1545–1551

<sup>20</sup> Fernández, J., Henao, L., Pedroza, A., & Quevedo, B. (2009). Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo. *Revista Colombiana de Biotecnología*.

<sup>21</sup> IndBioCat. (2016). Biotechnological valorization of ligninolytic fungi and their oxidative enzyme system. Obtenido de *Industrial Biotechnology* : <http://www.chemeng.ntua.gr/indubiocat/ligninolytic-fungi.html>

### 3.3.1.2 Mecanismo metabólico y producción de metabolitos

Los hongos son heterótrofos, la mayoría de ellos son aerobios, donde el oxígeno actúa como aceptor final de hidrogeniones. En la naturaleza existen algunas especies facultativas y otras adquieren su energía de procesos fermentativos o crecen en medios mínimos donde utilizan el nitrógeno en forma de nitratos, nitritos, etc. Por otra parte, existen diversas especies que pueden utilizar cualquier fuente de carbono, factor limitante para su desarrollo.<sup>22</sup>

La fuente de carbono más utilizada en su metabolismo es la glucosa u otros compuestos de mayor complejidad como la celulosa o el almidón, también suelen necesitar en pequeñas cantidades hierro, zinc, cobre, magnesio, fósforo, potasio, etc. La temperatura óptima para su desarrollo oscila entre los 22 y 30 °C, Suele crecer mejor concentraciones de acidez relativamente elevadas, aunque pueden encontrarse excepcionalmente en algunos medios alcalinos. El pH óptimo para casi todas las especies de hongos se sitúa en alrededor de pH 5,5. La humedad es necesaria para su desarrollo y pueden obtener agua de la atmósfera y del medio, aunque muchos mohos pueden sobrevivir en ambientes muy deshidratados debido a la presencia de esporas.<sup>23</sup>

Es bien conocido que estos organismos producen una gran cantidad de metabolitos secundarios, químicamente diversos, algunos de los cuales son muy potentes desde el punto de vista biológico, causan severas reacciones adversas en otros organismos, eliminan la competencia de los nutrientes y facilitan el establecimiento del patógeno.<sup>24</sup>

Se ha reportado un elevado número de metabolitos secundarios producidos por los hongos, sin embargo, en solo una pequeña fracción de las especies y géneros conocidos, han sido examinados y caracterizados. Estos son generalmente más pequeños que el tamaño promedio de las macromoléculas biológicas. Suelen ser de estructura orgánica simple, pero por lo general son compuestos de estructura más compleja, muchos de ellos son toxinas peptídicas cíclicas y lineales, las que se derivan de otros metabolitos primarios, en algunos

---

<sup>22</sup> García, F. (2012). Generalidades y características de los hongos. Obtenido de [www.florgarcia.com/wp-content/uploads/2012/10/HONGOS-Generalidades-metabolismo-reproduccion-clasificacion.pdf](http://www.florgarcia.com/wp-content/uploads/2012/10/HONGOS-Generalidades-metabolismo-reproduccion-clasificacion.pdf)&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec

<sup>23</sup> *Ibíd.*

<sup>24</sup> Borges, D., Díaz, A., San Juan, A. N., & Gómez, E. (2010). Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógeno. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, 49-57.

casos con estructuras inusuales y acompañadas ocasionalmente de procesos de biosíntesis específicos.<sup>25</sup>

Los microorganismos responsables del reciclaje del carbón proveniente de la lignina, o degradadores de lignina, presentan una batería de enzimas poco específicas con un uso potencial en la transformación de compuestos contaminantes y xenobióticos. Esta denominada maquinaria enzimática versátil coopera con metabolitos secundarios secretados también por estos hongos, permitiéndoles atacar eficientemente la barrera que constituye la lignina.<sup>26</sup>

La eliminación de la lignina hace que adquiera una tonalidad más blanquecina y un aspecto fibroso debido a la exposición de la celulosa. El tamaño del polímero de lignina hace imposible su absorción intracelular y su complejidad estructural dificulta su degradación. Por esta razón, la degradación de la lignina constituye el paso esencial en el reciclado de carbono dentro de los ecosistemas terrestres.<sup>27</sup>

Dávila & Vásquez (2006) mencionaron que la mayor parte de los hongos lignolíticos pertenecen al grupo basidiomicetos, este grupo degrada completamente la lignina a través de la secreción de enzimas que son esenciales para la transformación inicial de la lignina y en conjunto logran su degradación.

El mecanismo enzimático producido por los hongos lignolíticos viene dado por la acción de oxidasas y peroxidasas, estas enzimas no presentan una especificidad alta, por lo tanto pueden tener actividad sobre diferentes compuestos de tipo fenólicos como los colorantes usados en la industria textil (Castillo, 2004).

### **3.3.2 Enzimas Lignolíticas**

#### **3.3.2.1 Definición y Características**

Las enzimas lignolíticas son proteínas solubles producidas por las células de organismos como el hongo *Auricularia auricula*, e implicadas en la degradación del complejo y la lignina (de ahí proviene su denominación) de polímeros recalcitrantes. Este

---

<sup>25</sup> Borges, D., Díaz, A., San Juan, A. N., & Gómez, E. (2010). Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógeno. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, 49-57.

<sup>26</sup> Flores, Rendón, Velázquez, & Oria. (2006). Enzimas Lignolíticas Fúngicas para fines ambientales. Mensaje Bioquímico.

<sup>27</sup> *Ibíd.*

grupo de enzimas es altamente versátil en aplicaciones en una amplia variedad de industrias.

La producción de enzimas / metabolitos a partir de fuentes microbianas es un tema de alto costo y la única alternativa para minimizar el costo de producción es el uso de materias primas baratas. La utilización de residuos agroindustriales es ideal para esta finalidad debido a su bajo costo y alta disponibilidad.

La adopción de la fermentación en estado sólido para la producción de enzimas puede aumentar el beneficio de reducir los costos de producción. Los estudios han demostrado que grandes cantidades de residuos lignocelulósicos están disponibles en todo el mundo para la producción de enzimas lignolíticas, la tendencia actual es hacer uso de cada residuo agroindustrial localmente disponible para la producción de enzimas para satisfacer la demanda de los mismos sectores industriales.<sup>28</sup>

De las enzimas ligninolíticas, la lignina peroxisada (LiP) y manganeso peroxisada (MnP) son peroxidasas ligninolíticas que tienen en común la estructura de su grupo prostético presente en el centro activo (grupo hemo o férrico protoporfirina). La diferencia entre ambas está en el sustrato sobre el que actúan, la LiP una enzima con especificidad relativa que oxida compuestos aromáticos de alto potencial redox tales como el alcohol veratrílico, metoxibencenos y modelos diméricos no fenólicos de lignina. Por su parte, la MnP es una enzima específica en sus sustratos reductores, siendo el  $Mn^{2+}$  el único capaz de completar eficientemente su ciclo catalítico. Ambas son productoras de peróxido de hidrógeno durante su ciclo de acción.<sup>29</sup> La lacasa es una oxidoreductasa que se distingue de las peroxidasas debido a que produce agua en lugar de peróxido de hidrógeno en su ciclo catalítico.<sup>30</sup>

Gracias a que algunos colorantes tienen similitud estructural con las subunidades de fenilpropano que conforman el polímero de lignina, se logra que sean biotransformados o mineralizados, las enzimas lacasa, manganeso Peroxidasa (MnP), lignina Peroxidasa (LiP) y versátil Peroxidasa (VP) son las más relacionadas con este proceso; sin embargo, otras

---

<sup>28</sup> Niladevi, K. (2009). *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Lignolytic Enzymes*. Springer Netherlands.

<sup>29</sup> Bonugli-Santos, R., Durrant, L., & Durães, S. (2011). The production of ligninolytic enzymes by marine derived basidiomycetes and their biotechnological potential in the biodegradation of recalcitrant pollutants and the treatment of textile effluents. *Water, Air, & Soil Pollution*.

<sup>30</sup> Osma, J. F., Toca-Herrera, J., & Rodríguez-Couto, S. (2010). Uses of Laccases in the Food Industry. *Enzyme Research*.



enzimas producidas por estos hongos, como cresolasas, catecol oxidasas, glioxal oxidasas, Aril-alcohol oxidasas y tirosinasas, están implicadas en la degradación de sustratos más sencillos y con la producción de radicales catiónicos libres, que pueden continuar el proceso de degradación por vía enzimática o sufrir ataques nucleofílicos, para formar intermediarios menos complejos o, por el contrario se da una mineralización completa hasta CO<sub>2</sub>, agua, iones y ácidos orgánicos dependiendo del tipo de compuesto.<sup>31</sup> La obtención de estos metabolitos se da a partir de fermentación. Los procesos fermentativos se han visto potenciados por las tendencias actuales de tecnologías amigables con el ambiente.<sup>32</sup>

### **3.3.2.2 Aplicaciones en la Industrial**

Los hongos ligninolíticos u hongos de podredumbre blanca forman parte de los microorganismos más utilizados para la biorremediación de efluentes contaminados por la industria textil, considerando su capacidad para degradar la lignina, polímero con una alta concentración de anillos aromáticos y un profundo grado de polimerización<sup>33</sup>.

A nivel industrial, las enzimas lignocelulolíticas son recursos aplicados en diferentes campos como la industria textil y papelera, alimentos de consumo humano y animal, detergentes, combustibles, entre otros.

Las enzimas lignolíticas son de gran importancia en la industria textil, precisamente su empleo consiste en la parte del tratamiento de los residuos generados contrarrestando los serios problemas que genera la contaminación por colorantes reactivos<sup>34</sup>, caso de la industria papelera es similar a la anterior mencionada, ya que la fabricación de papel requiere la separación y degradación de la lignina, en dicho proceso, la etapa de blanqueo de la pasta de papel es la que genera mayor impacto ambiental, debido al empleo de reactivos químicos clorados que generan organoclorados muy tóxicos. Las mayores restricciones legales han promovido el desarrollo de secuencias de blanqueo libres de cloro basadas en la deslignificación con oxígeno, ozono y peróxido de hidrógeno. En este caso, la

---

<sup>31</sup> *Ibíd.*

<sup>32</sup> Molina, & Espín. (2014). Obtención de Extractos Enzimáticos con Actividad Ligninolítica y Celulolítica a partir del Crecimiento del Hongo *Lentinusedodesen* Aserrín Tropical. \*Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito, Ecuador .

<sup>33</sup> Castillo. (2004). Aislamiento de Hongos degradadores de colorantes empleados en la industria textil. Centro de Investigaciones en Biotecnología Aplicada, 4-10.

<sup>34</sup> Páez, M. (2012). Determinación de la actividad enzimática de lacasas y lignina peroxidasa de hongos degradadores de colorantes seleccionados para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil. Obtenido de Repositorio de la Universidad Politécnica del Ejército.

utilización de enzimas lignolíticas es una buena solución al problema ya que de esta manera no hay contaminación en el blanqueo de la pasta.<sup>35</sup>

Las enzimas lignocelulolíticas también pueden ser utilizadas para producir etanol a partir de desechos agroindustriales. El etanol es una fuente renovable de energía producido por la fermentación de azúcares. El método consiste en la hidrólisis de la celulosa en azúcares por acción de las enzimas y posteriormente la fermentación de los azúcares a etanol. (Vaca, 2011)

La biodegradación de lignina es fundamental en el reciclaje del carbono en los ecosistemas terrestres y después de la celulosa, es el mayor componente de la materia vegetal y la forma más abundante de material aromático en la biosfera (Yaovapa, Savitr, Napavam, Moriya, & Toshiaki., 2005), existen un sinnúmero de aplicaciones como se las nombras en la tabla 1.

**Tabla 1.** Resumen de la aplicación industrial de las enzimas

Enzima	Aplicación	Referencia
Lacasas	Tratamiento de aguas residuales de efluentes industriales textiles y de papel	(Páez, 2012)
Cresolasas	Pardeamiento enzimático contribuyente a la coloración y aroma deseado de las pasas, ciruelas, café, té y cacao.	(Hernández C. , 2009)
Catecol oxidasas	Degradación de compuestos recalcitrantes, lignina y principales componentes de la madera.	(Sánchez, Sánchez, Vázquez, & Andrade, 2011)
Tirosinasas	Oxidación de fenoles provenientes de residuos de industrias como la farmacéutica en la producción de aspirinas, y otros como producción de fibras sintéticas,	(Vilanova, 1980)

<sup>35</sup> Rediz, A. (2010). Efecto de la inducción con extractos acuosos de paja de trigo sobre la producción de enzimas lignolíticas en *Pleurotus ostreatus*. Obtenido de Artículos de la Universidad Pública de Navarra: [T\\_6Ef0UFftcJ:academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/2153/577233.pdf%3Fsequence%3D1+%&cd=5&hl=es&ct=clnk&gl=ec](http://e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/2153/577233.pdf%3Fsequence%3D1+%&cd=5&hl=es&ct=clnk&gl=ec)

---

	nylon, resinas fenólicas.	
Lignocelulolíticas	– Tratamiento de residuos generados en la industria textil	(Rediz, 2010) (Vaca, 2011)
	– Producción de etanol a partir de desechos agroindustriales	

---

Fuente: Varios Autores

Elaborado por: Macías Willy (2016)

### 3.3.2.3 Clasificación de enzimas según el tipo de reacción

Existen múltiples clasificaciones otorgadas por diferentes autores, varían, dependiendo de la característica que se desea estudiar; como catalizadores biológicos naturales y una bastante común es la que se hace dependiendo del tipo de reacción que catalizan, en la tabla 2 se hace referencia a 6 grandes grupos:

**Tabla 2.** Clasificación de las enzimas según su tipo de reacción

---

GRUPOS	CARACTERÍSTICAS
Óxidoreductasas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Como su nombre lo indica, son enzimas que catalizan reacciones de óxidoreducción en las cuales se ganan o se pierden electrones.</li> </ul>
Transferasas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Son aquellas que tienen la capacidad de transferir grupos funcionales en una reacción, los principales grupos que se transfieren son: amino, carboxilo, fosfato, metilo y fosforilo.</li> </ul>
Hidrolasas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Son aquellas que catalizan reacciones en las cuales se presenta una hidrólisis en la cual se rompen los enlaces por acción del agua.</li> </ul>
Liasas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Son aquellas que catalizan reacciones en las cuales se eliminan grupos (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y NH<sub>3</sub>) para formar dobles enlaces.</li> </ul>
Ligasas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Catalizan reacciones en las cuales se forman enlaces entre dos moléculas de sustrato.</li> </ul>
Isomerasas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Son aquellas que catalizan reacciones en las cuales el producto es un isómero del sustrato</li> </ul>

---

Fuente: Castro (2013)

Elaborado por: Macías Willy (2017)

### 3.3.2.4 Origen de enzimas lignolíticas

A partir de estudios exhaustivos desde los años sesenta se pudo comprobar que la degradación de la lignina daba lugar a productos que provenían de la ruptura oxidativa de anillos aromáticos. Por este motivo se asumió que las oxigenasas extracelulares podían estar involucradas en la transformación de la lignina, se pudieron reportar tres grupos de manera independiente, el descubrimiento de una ligninasa capaz de oxidar y despolimerizar

la lignina y compuestos modelo y cuya actividad enzimática depende del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).<sup>36</sup>

Estudios espectroscópicos mostraron que esta ligninasa era distinta de las oxigenasas, compartía algunas características con las hemoproteínas transportadoras de oxígeno y que era en realidad una peroxidasa. Actualmente esta enzima es denominada como lignina peroxidasa (LiP). (Miki, Calviño, & Pogni, 2011)

A partir de este hallazgo, se encontró la producción de dos hemoperoxidasas: la manganeso peroxidasa (MnP) que oxida del MnP<sup>2+P</sup> a MnP<sup>3+P</sup>. En géneros de hongos como *Pleurotus spp* y *Bjerkandera spp* se ha descrito una MnP versátil (VP), la cual conjuga las propiedades catalíticas de LiP y MnP. Además de estas peroxidadas, se ha reportado la producción en estos hongos ligninolíticos de una cuarta enzima, una Fenoloxidasa denominada Lacasa. Esta enzima reduce el oxígeno molecular a agua, y a través la utilización de ciertos compuestos redox puede ser capaz de ampliar su espectro de sustratos, logrando así la oxidación de porciones no fenólicas de la lignina<sup>37</sup>.

Estas enzimas lignolíticas pueden actuar separadas o en cooperación, dependiendo si el metabolismo del hongo es capaz de producir una o más. Además de estos sistemas enzimáticos, se ha considerado que la participación de compuestos de bajo peso molecular es también esencial en la degradación de la lignina. Esto se postula debido a que la lignina en su estado natural es inaccesible para enzimas tales como la LiP y MnP. Entre los cofactores importantes para la transformación de la lignina se encuentran el manganeso, el alcohol veratrílico, el oxalato y el 2-cloro-1,4-dimetoxibenceno<sup>38</sup>.

**Tabla 3.** Organismos Productores de Enzimas Lignolíticas

ORGANISMOS	ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	MnP, LiP
<i>Trametes versicolor</i>	MnP, lacasa
<i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	MnP, lacasa

<sup>36</sup> Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T., & Qin, W. (2010). Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. International Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 36-50.

<sup>37</sup> Heinflin, A., Martínez, M., Martínez, A., Bergbauer, M., & Szewzyk, U. (1998). Transformation of Industrial Dyes by Manganese Peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a Manganese-Independent Reaction. Applied and Environmental Microbiology, 2788–2793.

<i>Cyanthus stercoreus</i>	<i>MnP, lacasa</i>
<i>Phlebia radiate</i>	<i>MnP, LiP, lacasa</i>
<i>Nematoloma frowardii</i>	<i>MnP, LiP, lacasa</i>
<i>Pleurotus eryngii, Pleurotus ostreatus, Pleurotus pulmonarius</i>	<i>MnP, VP, lacasa</i>
<i>Auricularia Auricula</i>	<i>MnP, LiP, lacasa</i>
<i>Bjerkandera sp. BOS55</i>	<i>VP</i>
<i>Bjerkandera adusta</i> UAMH 8258 y 7308	<i>VP</i>

**Fuente:** Dávila & Vásquez (2001)

**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

### 1.1.1.1 Clasificación de las enzimas lignolíticas producidas por hongos de pudrición blanca

**Tabla 4.** Enzimas y cofactores implicados en la degradación de la lignina

ENZIMA	COFACTOR	SUSTRATO, MEDIADOR	EFEECTO O REACCIÓN PRINCIPAL
Manganeso Peroxidasa	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Mn <sup>2+</sup> , Ácidos orgánicos como quelantes, tioles, lípidos no saturados	Mn <sup>2+</sup> se oxida a Mn <sup>3+</sup> ; Oxidación adicional de compuestos fenólicos a radicales fenoxilo.
Lacasa	O <sub>2</sub>	ABTS	Los fenoles se oxidan a radicales fenoxilo; radicales mediadores.
Aril Alcohol Oxidasa	-	Alcoholes aromáticos	O <sub>2</sub> reduce a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Lignina Peroxidasa	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Alcohol Verátril	Anillos aromáticos se oxidan a radicales catiónicos.
Peroxidasa versátil	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Similares compuestos como LiP, MnP.	Mismo efecto sobre compuestos aromáticos y fenólicos como el LiP y el MnP.

**Fuente:** (Hatakka, 1994)

**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

### 3.3.2.5 Manganeso Peroxidasa (MnP)

Manganeso Peroxidasa (MnP) es una peroxidasa modificadora de lignina, más común, producida por casi todos los basidiomicetos colonizadores de madera que causan la pudrición blanca y varios hongos que descomponen la basura. Existen múltiples formas de esta proteína hemo glicosilada, con pesos moleculares normalmente de 40 a 50 kDa son secretadas por hongos ligninolíticos en su microambiente<sup>39</sup>.

MnP, oxida preferentemente los iones manganeso II ( $Mn^{2+}$ ), presentes en la madera y los suelos, en iones manganeso III ( $Mn^{3+}$ ) altamente reactivo, el cual es estabilizado por quelantes fúngicos como el ácido oxálico. El  $Mn^{+3}$  quelado actúa a su vez como mediadores redox difusible de bajo peso molecular, que ataca las estructuras de lignina fenólica dando lugar a la formación de radicales libres inestables, que tienden a desintegrarse espontáneamente.<sup>40</sup>

MnP es capaz de oxidar y despolimerizar ligninas naturales y sintéticas así como lignocelulosas enteras en sistemas libres de células (in vitro). La despolimerización in vitro se intensifica en presencia de co-oxidantes tales como tioles o ácidos grasos insaturados y sus derivados<sup>41</sup>.

#### 3.3.2.5.1 Mecanismo de acción de MnP sobre la lignina

El ciclo catalítico de la MnP está compuesto por tres reacciones consecutivas, estas reacciones se muestran en la ilustración 1.

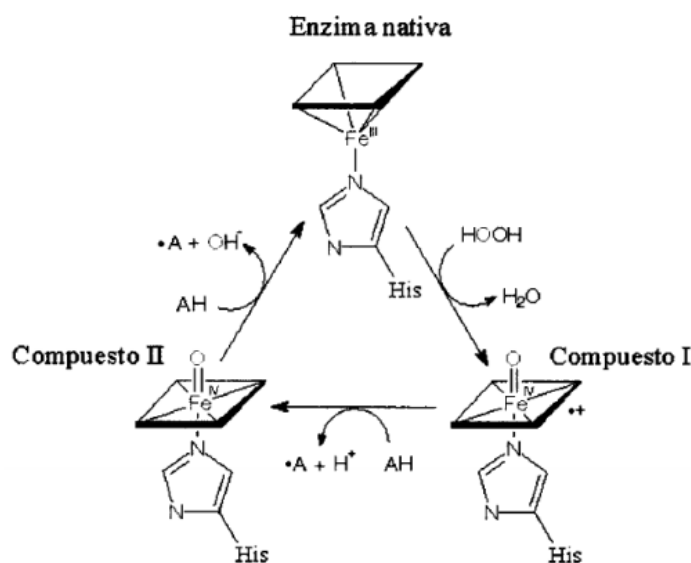
---

<sup>39</sup> Hofrichter, M. (2002). Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*, 454–466

<sup>40</sup> Hofrichter, M. (2002). Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*, 454–466.

<sup>41</sup> Martínez, M., & Kurek, B. (1997). Oxidative Degradation of Alkali Wheat Straw Lignin by Fungal Lignin Peroxidase, Manganese Peroxidase and Laccase: A Comparative Study. *Holzforschung*, 543-548.

### Ilustración 1. Ciclo Catalítico de las Peroxidasas



Fuente: Dawson (1988)

En primer lugar, se da la reacción del sitio activo de la enzima con el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) que produce la reducción del  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  y la oxidación por dos electrones de la proteína férrica a un intermediario denominado Compuesto 1.

Este intermediario posee dos equivalentes reductores y contiene un centro oxiferrilo ( $\text{Fe}^{+4} = \text{O}$ ) y un radical  $\Pi$ -catiónico. Este radical puede ubicarse tanto en el grupo hemo, como en algún residuo de la proteína, la cual depende de la isoenzima.

Después el compuesto I se reduce mediante un electrón de una molécula del sustrato reductor (AH) que da lugar a un radical del sustrato ( $\text{A}^\bullet$ ) y al Compuesto II, en el cual el radical canónico se reduce al estado nativo.

Finalmente, el compuesto II se reduce con un electrón de una segunda molécula de sustrato reductor hasta el estado nativo de la enzima que contiene el  $\text{Fe}^{+4}$  <sup>42</sup>.

#### 3.3.2.6 Fuentes de Obtención MnP

La producción de MnP está aparentemente limitada a hongos basidiomicetos y, hasta ahora no se ha podido comprobar que alguna bacteria, levadura o moho pueda producir esta enzima. Los hongos que causan la podredumbre blanca, así como otros organismos reportados en la tabla 2, secretan MnP principalmente en formas múltiples.

<sup>42</sup> Dávila, & Vásquez. (2006). Enzimas Lignolíticas Fúngicas para fines ambientales. Mensaje Bioquímico, 29-55.

La producción de MnP se puede dar en estado líquido y/o sólido, por consiguiente, la capacidad de sintetizar es difundida entre los distintos grupos taxonómicos de basidiomicetos. Se ha demostrado que los típicos colonizadores de madera filogenéticamente en su mayoría familias como *Meruliaceae*, *Coriolaceae* y *Polyporaceae*, así como los colonizadores de las familias euáricas, tales como *Strophariaceae* y *Tricholomataceae* pueden secretar MnP.<sup>43</sup> Además, existen hongos productores de MnP de hábitats "exóticas" tales como la hierba de mar o *Zostera marina* en descomposición, torre de refrigeración de madera y carbón marrón.

El peso molecular de MnP oscila entre 38 y 62,5 kDa, pero en la mayoría de las enzimas purificadas tienen alrededor de 45 kDa<sup>44</sup>. MnP se produce a menudo en múltiples formas y se han llegado a identificar hasta 11 diferentes isoformas descritas en una cepa de hongos (*C. subvermispora*) estas isoformas difieren en puntos isoeléctricos que son generalmente bastante ácidos (pH 3-4), las isoformas menos ácidas y neutras fueron encontradas en ciertos hongos<sup>45</sup>.

### 3.3.2.7 Aplicación de MnP en la oxidación de colorantes

Las principales enzimas asociadas con la capacidad de degradación de la lignina son la Lignina peroxidasa, Manganese peroxidasa, Lacasa producidas generalmente por hongos de podredumbre blanca.<sup>46</sup>

Estudios de degradación de colorantes sintéticos han revelado que las enzimas producidas por los hongos lignolíticos son capaces de decolorar colorantes azo, trifenilmetano y heterocíclicos.<sup>47</sup>

De acuerdo con un estudio realizado por Cortazar, y otros (2010), la decoloración de colorantes azo puede llevarse a cabo de manera aerobia o anaeróbica, dependiendo del tipo de bacteria que lo lleve a cabo. Hay otros reportes sobre el metabolismo aerobio de

---

<sup>43</sup> Hofrichter, M. (2002). Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*, 454-466.

<sup>44</sup> Hatakka, A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiol Rev*, 125-135.

<sup>45</sup> Hofrichter, M. (2002). Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*, 454-466.

<sup>46</sup> Mendoza, G. (2012). ESTUDIO DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS PRODUCIDAS POR *Pleurotus Ostreatus* y *Lentinula edodes* USANDO DIFERENTES INDUCTORES. Obtenido de Universidad Autónoma de Madrid: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1029/1/T-SENESCYT-0404.pdf>

<sup>47</sup> Dávila, & Vásquez. (2006). Enzimas Lignolíticas Fúngicas para fines ambientales. *Mensaje Bioquímico*, 29-55



colorantes azo utilizando diferentes cepas de bacterias, por ejemplo, *Aeromonas sp.*, *Bacillus subtilis*, *Proetus mirabilis* y *Pseudomonas luteola*.<sup>48</sup>

Según la investigación realizada por Garzón (2009), el método biológico de remoción más efectivo para el colorante diazo Azul ácido 113 fue el realizado con *T.versicolor*, un hongo poliporo productor de enzimas lignolíticas extremadamente común que puede ser encontrado globalmente, con un porcentaje de remoción de 79,85%, con una tasa de remoción diaria de 9,98 mg/L y una constante de remoción de 0,0005 L/mg.día.

Por su parte, Carbajal (2014) efectuó un estudio en el que empleó *Trametes versicolor* para degradar compuestos fenólicos, determinando que las cepas de dicho organismo disminuyó la fitotoxicidad de las muestras tratadas y produjo lacasa como principal enzima lignolítica junto menores títulos de MnP y VP en los medios con fenol y nitrofenol respectivamente. L y MnP purificadas resultaron eficaces en la remoción del fenol, mientras que MnP y VP fueron las responsables de la remoción del nitrofenol.

### 3.3.3 Industria Textil

La industria textil representa una gran fuente de ingreso para países en desarrollo, sin embargo dentro de los estados con mayor participación en el mercado global se encuentran desarrollados como China, Estados Unidos y Alemania.

De acuerdo con Amir (2013), en los últimos años la India es el país con más mejoras en esta industria, extendiendo sus exportaciones totales a 40 mil millones (USD \$), que era de 33 mil millones (USD \$) en 2012. China lidera dicho sector siendo la más consistente en la producción de textiles de calidad, confiables y de larga duración.

En 2014, las exportaciones textiles de China se valoraron en algo más de 110.000 millones de dólares (USD \$), cifra que corresponde al 35,6 % de la cuota de mercado mundial. El bajo costo y la vasta mano de obra, las barreras comerciales reducidas y la disponibilidad de material son algunas de las ventajas competitivas que el país ofrece para la industria manufacturera de ropa. En cuanto al suministro de materiales, por ejemplo, China produjo cerca de 90.000 millones de metros de tela en 2014 por sí solo y 6.5

---

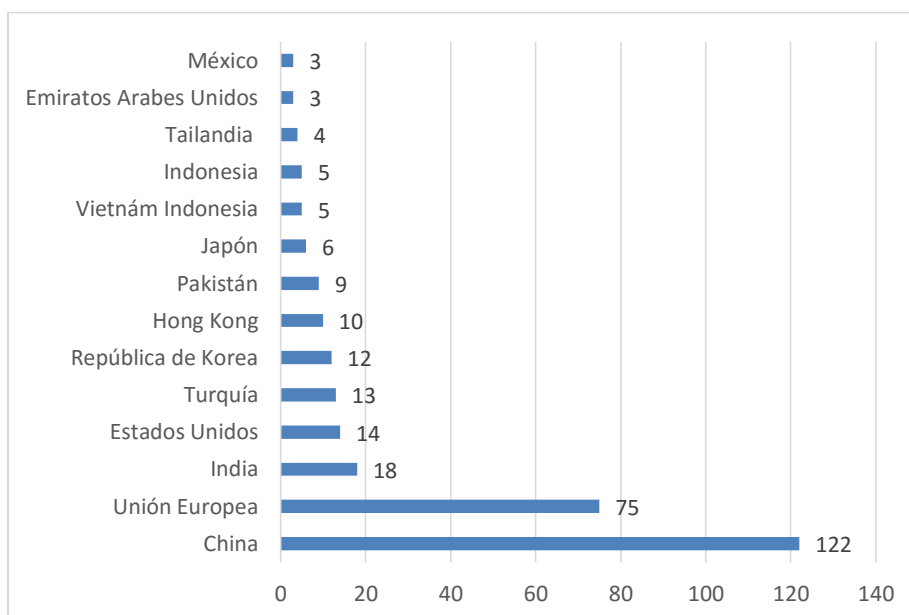
<sup>48</sup> Cortazar, A., González, C., Coronel, C., Escalante, J., Castro, J., & Villagómez, J. (2010). Biotecnología Aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. Obtenido de Instituto de Biotecnología, UNAM: [www.universidadyciencia.ujat.mx/sistema/documentos/volumenes/28-2-2012/715.pdf+&cd=6&hl=es&ct=clnk&gl=ec](http://www.universidadyciencia.ujat.mx/sistema/documentos/volumenes/28-2-2012/715.pdf+&cd=6&hl=es&ct=clnk&gl=ec)

millones de toneladas métricas de algodón en el periodo 2014 al 2015.<sup>49</sup> Bangladesh, otro país asiático mostró una mejora del 17% comparado a 2012.<sup>50</sup>

La Unión Europea, con casi el 24 % de la cuota de mercado mundial y un valor de mercado de 75 mil millones de dólares (USD \$), es la segunda mayor región exportadora de textiles del mundo, por otra parte Italia, Alemania, España, Francia y los Países Bajos son los líderes en la industria del vestido en la UE.

Hay más de 170 mil empresas textiles y de confección en la UE, alrededor del 70 % de ellas son empresas de ropa, el 30 % son empresas textiles, mientras que las empresas de fibra artificial representan menos del uno por ciento.<sup>51</sup>

**Gráfico 1. Industria Textil a nivel mundial**



**Fuente:** The Statics Portal (2015)

**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

<sup>49</sup> Statista. (2016). Value of the leading 15 textile exporters worldwide in 2014, by country (in billion U.S. dollars). Obtenido de The Statics Portal: <https://www.statista.com/statistics/236397/value-of-the-leading-global-textile-exporters-by-country/>

<sup>50</sup> Amir. (2013). Top Countries with Largest Textile Industry. Obtenido de Country Ranker: <http://www.countryranker.com/top-countries-with-largest-textile-industry/>

<sup>51</sup> Statista. (2016). Value of the leading 15 textile exporters worldwide in 2014, by country (in billion U.S. dollars). Obtenido de The Statics Portal: <https://www.statista.com/statistics/236397/value-of-the-leading-global-textile-exporters-by-country/>

### **3.3.3.1 Industria Textil en el Ecuador**

En el Ecuador, 2.400 millones de dólares (USD \$) destinan los hogares para la compra de productos textiles (hilados y tejidos) y sus confecciones (hogar, vestimenta, calzado y productos elaborados con cuero). Según datos a septiembre de 2015. Este sector de la industria representa una aportación del 0,84% (PIB real) en la economía del país. Se exportan aproximadamente 66,4 millones en valor FOB (Franco a bordo) y se importan 597,8 millones en valor CIF (Costo, Seguro y Flete).<sup>52</sup>

Además de su importancia económica, esta industria se constituye como uno de los sectores más influyentes dentro del mercado laboral ya que, según estimaciones de la Asociación de Industrias Textiles del Ecuador (AITE), la industria genera alrededor de 50.000 plazas de empleo directas y más de 200.000 indirecta<sup>53</sup>.

La industria textil se divide en los siguientes subsectores:

- Producción de fibras: Las fibras son las materias primas básicas de toda producción textil. Dependiendo de su origen, las fibras son generadas por la agricultura, la ganadería, la química o la petroquímica.
- Hilandería: Es el proceso de convertir las fibras en hilos.
- Tejeduría: Es el proceso de convertir hilos en telas.
- Tintorería y acabados: Son los procesos de teñir y mejorar las características de hilos y telas mediante procesos físicos y químicos.
- Confección: Es la fabricación de ropa y otros productos textiles a partir de telas, hilos y accesorios.
- No tejidos: Producción de telas directamente desde fibras sin pasar por procesos de hilatura y tejeduría.

### **3.3.3.2 Residuos generados en la industria textil**

Los procesos de producción de la industria textil se caracterizan por tener una gran demanda de energía, productos químicos, colorantes, y agua, ocasionando grandes volúmenes de residuos. La industria textil procesa diferentes fibras y debido a la gran diversidad de procesos, productos químicos y maquinaria empleada, estas industrias son

---

<sup>52</sup> Díaz, J. (Febrero de 2016). EL SECTOR TEXTIL EN CIFRAS. Obtenido de Revista Vistazo: <http://vistazo.com/seccion/pais/el-sector-textil-en-cifras>

<sup>53</sup> Ekos. (Septiembre de 2015). Industria textil en Ecuador. Obtenido de Revista Ekos: <http://www.ekosnegocios.com/negocios/verArticuloContenido.aspx?idArt=6446>

muy variadas y numerosas, y van desde plantas altamente automatizadas hasta pequeñas instalaciones artesanales.

Las sustancias contaminantes proceden de las impurezas naturales extraídas de las fibras y de los productos químicos empleados en el proceso que se separan del tejido y eliminan, para esto se debe poseer un conocimiento que los vertimientos varían dependiendo del material que se trate. Los materiales se dividen en tres grupos: algodón, lana y fibras sintéticas; los principales vertimientos resultantes del acabado del algodón y sus respectivas cargas en DBO, son las que se presentan en la tabla 1 y de esta se deduce que el residuo de las colas y aprestos constituyen aproximadamente el 16% del volumen total de residuos producidos, un 53% de la DBO, un 36% de los sólidos totales y un 6% de la alcalinidad.<sup>54</sup>

El agua residual generada por estas industrias presenta elevadas cargas de DQO, DBO, SST, colores diversos, pH variable y temperatura alta cuando se realizan los procesos de preparación, teñido y acabado. Se estima que por cada kilogramo de producto de material textil se generan entre 100 y 170 litros de agua residual.<sup>55</sup>

Muchas fábricas textiles pueden producir efluentes en los cuales existe la presencia de metales como: aluminio, cadmio, cobre, cromo, níquel, plata y cinc. Los colorantes pueden contener metales como el cinc, el níquel, el cromo y el cobalto.<sup>56</sup>

### **3.3.3.3 Colorantes usados en la industria textil**

La clasificación de todos los colorantes o tintes textiles comerciales por su nombre genérico y constitución química ha sido realizada por el Colour Index (C.I.), publicado por la Society of Dyers and Colourists (Reino Unido) en asociación con la Asociación Americana de Químicos y Coloristas del Textil (AATC)<sup>57</sup>. Los colorantes textiles, se pueden agrupar en las siguientes categorías:

---

<sup>54</sup> Patarroyo, E. (2014). PROCESOS DE ESTABILIZACIÓN DE RESIDUOS GENERADOS EN LA INDUSTRIA TEXTIL EN COLOMBIA MEDIANTE LODOS ACTIVADOS. Universidad Militar Nueva Granada, 6.

<sup>55</sup> Patarroyo, E. (2014). PROCESOS DE ESTABILIZACIÓN DE RESIDUOS GENERADOS EN LA INDUSTRIA TEXTIL EN COLOMBIA MEDIANTE LODOS ACTIVADOS. Universidad Militar Nueva Granada, 6.

<sup>56</sup> De Tullio, & Marino. (2013). Impacto ambiental de productos químicos auxiliares usados en la industria textil argentina. . Centro de Investigaciones Textiles (CIT) y la Asociación Argentina de Químicos y Coloristas Textiles (AAQCT), Buenos Aires.

<sup>57</sup> Standardcon. (2015). Types of Textile Dyes. Obtenido de <http://dyes-pigments.standardcon.com/textile-dyes.html>

- Tintes ácidos
- Colorantes directos
- Tintes azoicos
- Colorantes dispersos
- Tintes de azufre
- Colorantes Reactivos
- Colorantes básicos
- Colorantes de oxidación
- Colorantes Mordientes (Colorantes Cromados)
- Tintes de tina
- Abrillantador óptico / fluorescente
- Tintes de disolventes

Todos los tintes mencionados pueden ser batidos en tres categorías:

- Colorantes para Fibras de Celulosa
- Colorantes para Fibras de Proteína
- Colorantes para Fibras Sintéticas

Todos los colorantes no se fijan a la fibra durante el proceso de teñido, por ejemplo el tinte reactivo que se utiliza para el algodón muestra la tasa más baja de fijación (CNF), es decir el restante se pierde en el agua de lavado. En la tabla 3 se indica los colorantes y el CNF que se pierde en el agua de lavado para diferentes tejidos. Como la mitad del mercado de las fibras textiles es el algodón, se puede observar que los problemas de los efluentes coloreados provienen del teñido del algodón con colorantes reactivos<sup>58</sup>.

**Tabla 5.** Porcentaje de colorante no fijado para diversos tipos y sus aplicaciones

FIBRA	TC	CNF (%)
Lana y Nylon	Tintes ácidos / colorantes reactivos para lana	7-20
	Colorantes pre-metalizados	2-7

<sup>58</sup> Standardcon. (2015). Types of Textile Dyes. Obtenido de <http://dyes-pigments.standardcon.com/textile-dyes.html>

Algodón y viscosa	Tintes azoicos	5-10
	Colorantes reactivos	20-50
	Colorantes directos	5-20
	Pigmentos	1
	Tinte de cuba	5-20
	Tinte de azufre	30-40
Poliéster	Dispersión	8-20
Acrílico	Básico modificado	2-3

TC: Tipo de colorante, CNF: Colorante no fijado

**Fuente:** Standardcon (2015)

**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

### 3.3.4 Aguas Residuales de la Industria Textil

Durante el proceso textil, la etapa de coloración ocasiona la pérdida de considerables cantidades de colorantes no fijados en el proceso (CNF). Los volúmenes liberados dependen del tipo de colorante y del proceso de aplicación, variando desde solo un 2% si se trata de un colorante básico a un 50% cuando se utilizan algunos colorantes reactivos.<sup>59</sup>

El color es el principal contaminante en ser reconocido en el agua, concentraciones menores a un miligramo por litro (ppm) son altamente visibles para algunos colorantes, afectando así la estética de los cuerpos acuáticos. Sus características químicas, los hacen muy resistentes a la luz, temperatura, al ataque microbiano y por consiguiente son compuestos altamente recalcitrantes.<sup>60</sup>

Uno de los principales efectos adversos de su liberación al ecosistema acuático, está asociado con la reducción de la concentración del oxígeno disuelto, generando condiciones anóxicas, que pueden afectar organismos a diferentes niveles tróficos.

#### 3.3.4.1 Características y composición

Las aguas residuales industriales contienen diversos tipos de sustancias tóxicas tales como cianuros, agentes de limpieza alcalinos, disolventes desengrasantes, aceite, grasa y

<sup>59</sup> Zaharia, C., & Suteu, D. (2014). Textile Organic Dyes – Characteristics, Polluting Effects and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents – A Critical Overview. ‘Gheorghe Asachi’ Technical University of Iasi.

<sup>60</sup> Pereira, L., & Alves, M. (2012). Dyes-Environmental Impact and Remediation . Springer Science Business Media .

metales<sup>61</sup>, se caracterizan generalmente por una gran variabilidad de caudal, composición, carga contaminante y color, siendo el color el primer contaminante en ser reconocido en el agua, ya que afectando el valor estético de ésta, así como también la transparencia, la disolución del oxígeno y otros gases, en lagos, ríos y otros cuerpos hídricos, las características generales de las aguas residuales de la industria textil se presentan en la tabla 4, en donde se hace comparación a las normativas de descarga de efluentes.

**Tabla 6.** Composición típica de aguas residuales de una industria textil

PARÁMETRO	UNIDADES	CANTIDAD
pH	–	11,13
Sólidos en Suspensión Totales	mg/L	240
Sólidos Totales	mg/L	3950
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	3710
DQOs*	mg/L	1267
DQOt**	mg/L	1341
DBO5	mg/L	450
Sulfatos	mg/L	72,44
Nitrógeno Amoniacal	mg/L	2,24
Nitrógeno Total	mg/L	50,12
Grasas y Aceites	mg/L	0,1922

**Fuente:** Bishop *et al.* 1996

\*DQOs = DQO de Salida

\*\*DQOt = DQO por tonelada de SST

### 3.3.4.2 Normativa ambiental para efluentes industriales en el Ecuador

Los efluentes industriales son las aguas residuales generadas por una actividad industrial, o cualquier proceso que implica la creación de cualquier objeto o servicio con fines de lucro. El tratamiento de aguas en los efluentes de las industrias textiles debe analizarse de manera minuciosa debido al gran índice de contaminantes, por tal motivo es necesario que las empresas que se dediquen a este tipo de producciones descarguen sus efluentes basados en las normativas de calidad ambiental, en este caso del Ecuador.

<sup>61</sup> Pirkarami, A., & Ebrahim, M. (2014). Removal of dye from industrial wastewater with an emphasis on improving economic efficiency and degradation mechanism. *Journal of Saudi Chemical Society*, 1-8.

La norma de calidad ambiental ecuatoriana tiene como propósito la prevención y control de la contaminación ambiental, en lo relativo al recurso agua mediante el ANEXO 8 del libro VI del TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES AL RECURSO AGUA 2014, menciona que se prohíbe descargar en un sistema público de alcantarillado sanitario, combinado o pluvial cualquier sustancia que pudiera bloquear los colectores o sus accesorios, formar vapores o gases tóxicos, explosivos o de mal olor, o que pudiera deteriorar los materiales de construcción en forma significativa e incluye entre la lista de residuos líquidos los desechos de la industria textil.

Las aguas residuales generadas en este tipo de industria deberán analizar parámetros y cumplir con los límites permisibles puestos a consideración en el Anexo 1 del presente trabajo. Los parámetros físicos y químicos son:

Caudal, DBO, DQO, SST, SAAM, Grasas y aceites, Sulfatos (SO<sub>4</sub>), Bario (Ba), Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Hierro (Fe), Mercurio (Hg), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Selenio (Se), Cinc (Zn), Color, Sulfuros, Sólidos totales.

### **3.3.4.3 Métodos de eliminación de colorantes en aguas residuales**

#### **3.3.4.3.1 Coagulación-floculación**

Los procesos de coagulación-floculación se emplean como tratamiento terciario para eliminar el color de los efluentes textiles, este consiste en la dosificación de un coagulante, el cual atrapa las partículas suspendidas en el agua, como los colorantes, produciendo una precipitación para que puedan ser posteriormente separados por un método manual, el coagulante debe ser sobre dosificado para alcanzar la completa eliminación del colorante.

Previo a su aplicación se deben efectuar ensayos de laboratorio para determinar las concentraciones apropiadas de coagulante, además de fijar el pH óptimo de trabajo<sup>62</sup> <sup>63</sup>. Actualmente están apareciendo nuevos polímeros floculantes capaces de obtener elevadas

---

<sup>62</sup> Carvalho, G., Delée, W., Novais, J., & Pinheiro, H. (2002). A factorially designed study of physicochemical reactive dye colour removal from simulated cotton textile processing wastewaters. *Coloration technology*, 215-219.

<sup>63</sup> Golob, V., Vinder, A., & Simonic, M. (2005). Efficiency of the coagulation/flocculation method for the treatment of dyebath effluents. *Dyes and Pigments*, 67 (2), 93-97.



decoloraciones a una menor concentración<sup>64</sup>. Por otra parte según Vilaseca, López-Grimau, & Carmen Gutiérrez-Bouzán (2012), esta técnica produce un residuo que requiere un tratamiento adicional para ser destruido, mientras el exceso de sales inorgánicas utilizadas como coagulante incrementa la conductividad del agua.

#### **3.3.4.3.2 Adsorción con carbón activo**

Este Método brinda buenos rendimientos de eliminación de colorante (cerca de 95% de decoloración), pero el carbón activo tiene un costo elevado y sólo es reutilizable un cierto número de veces lo que lo hace poco rentable y no muy recomendado.

Las moléculas voluminosas de colorante quedan adsorbidas fácilmente pero su desorción es muy difícil y requiere de pirolisis. Existen algunos estudios sobre la regeneración del carbón activo utilizando otras técnicas como la oxidación húmeda o la irradiación de ultrasonidos.<sup>65</sup> Todos estos procesos comportan un elevado consumo energético. De hecho, el uso de carbón activo únicamente es apropiado para el tratamiento de pequeños volúmenes de efluente.<sup>66</sup>

#### **3.3.4.3.3 Tecnologías de membrana**

En lo que se refiere a las tecnologías de membrana, tanto la nanofiltración como la ósmosis inversa, son efectivas en la retención de colorantes y otros productos textiles, tienen la capacidad de separar todo tipo de colorantes solubles, incluido colorantes reactivos hidrolizados de bajo peso molecular.

El tratamiento por nanofiltración de baños agotados de colorantes reactivos es muy eficiente, según Qin, Oo, & Kekre (2007), hasta un 99% de decoloración. Sin embargo, es necesario un proceso adicional de ósmosis inversa para alcanzar una reducción significativa del contenido de sal en el permeato.

Las principales desventajas de las tecnologías de membrana son su elevado consumo energético y la generación de un nuevo efluente fuertemente coloreado (de menor volumen

---

<sup>64</sup>Zahrim, A., Tizaoui, C., & Hilal, N. (2010). Evaluation of several commercial synthetic polymers as flocculant aids for removal of highly concentrated C.I. Acid Black 210 dye. *J Hazard Mater.*, 624-630.

<sup>65</sup> Shende, R., & Mahajani, V. (2002). Wet oxidative regeneration of activated carbon loaded with reactive dye. *Waste Management*, 73-83.

<sup>66</sup> Vilaseca, M., López-Grimau, V., & Carmen Gutiérrez-Bouzán, M. C. (2012). MÉTODOS DE ELIMINACIÓN DEL COLOR EN EFLUENTES DE TINTURA TEXTIL. Obtenido de INTEXTER de la Universitat Politècnica de Catalunya : <http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/28332/Vilaseca,+Merc%E8.+M%E9todos+de+eliminaci%C3%B3n+del+color+en+efluentes+de+tintura+textil.pdf;jsessionid=0329D9A6C1503C321AB0FCA2E0A29D1D?sequence=3>

pero más concentrado) que debe ser tratado por pirolisis. Los procesos de ensuciamiento y colmatación de la membrana también son inconvenientes a tener en cuenta.<sup>67</sup>

#### **3.3.4.3.4 Tratamiento con ozono**

De acuerdo con Vilaseca, López-Grimau, & Carmen Gutiérrez-Bouzán (2012), El tratamiento con ozono de efluentes de tintura se basa en el hecho que el ozono ( $O_3$ ) es uno de los oxidantes más poderosos ( $E^\circ = 2,07 \text{ V}$ ), y tiene la capacidad de oxidar las moléculas de los colorantes en el agua residual, fragmentando sus enlaces y produciendo especies incoloras, debido a la formación de radicales hidroxilo ( $\cdot OH$ ).

El ozono se obtiene por medio de diferentes sistemas comerciales basados en la acción ionizante de un campo eléctrico en una corriente de aire seco u oxígeno. La ozonización de baños de tintura textil alcanza elevados niveles de decoloración en cortos tiempos de tratamiento, y en un amplio rango de pH (entre 4 y 12), generando especies incoloras y más biodegradables. Sin embargo, se requieren tiempos de tratamiento mucho mayores para eliminar la DQO adecuadamente, lo que implica unos consumos eléctricos muy elevados.<sup>68</sup>

#### **3.3.4.3.5 Tratamiento Electroquímico**

Las técnicas electroquímicas son procesos de oxidación avanzada basados en la electrólisis del efluente. Las moléculas son, normalmente, parcialmente oxidadas, ya que su mineralización total implica un excesivo consumo eléctrico. Estos procesos son limpios y operan a condiciones ambientales. En general, la destrucción de compuestos orgánicos del agua tiene lugar por oxidación, que puede ser directa en el ánodo y/o indirecta por especies generadas en el ánodo.<sup>69</sup>

Los métodos electroquímicos de tratamiento de aguas residuales como la electroflotación, electro decantación y la electrocoagulación, involucran el uso de una celda electrolítica y un par de electrodos metálicos a través de los cuales se hace circular una

---

<sup>67</sup> *Ibíd.*

<sup>68</sup> De Faria, L. A., Santana, M. H., Da Silva, L. M., Freitas, A. C., Boodts, J. F., & Fernandes, K. C. (2009). Application of electrochemically generated ozone to the discoloration and degradation of solutions containing the dye Reactive Orange 112. *Journal of Hazardous Materials*, 10-17.

<sup>69</sup> Vilaseca, M., López-Grimau, V., & Carmen Gutiérrez-Bouzán, M. C. (2012). MÉTODOS DE ELIMINACIÓN DEL COLOR EN EFLUENTES DE TINTURA TEXTIL. Obtenido de INTEXTER de la Universitat Politècnica de Catalunya : <http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/28332/Vilaseca,+Merc%E8.+M%E9todos+de+eliminaci%F3n+del+color+en+efluentes+de+tintura+textil.pdf;jsessionid=0329D9A6C1503C321AB0FCA2E0A29D1D?sequence=3>

corriente eléctrica. Sistemas electroquímicos pequeños son viables y en vez de usar reactivos químicos y microorganismos, el sistema emplea electrones para realizar el tratamiento. Estos métodos utilizan una instrumentación robusta y compacta, fácil de conseguir que ofrezcan la posibilidad de una fácil distribución y potencialmente pueden reemplazar procesos sofisticados, ya que requieren contenedores de poca capacidad. Entre las ventajas de los métodos electroquímicos se encuentran los beneficios ambientales, de compatibilidad, versatilidad, eficiencia de energía, seguridad, selectividad, facilidad de automatización del proceso y bajos costos.<sup>70</sup>

#### **3.3.4.3.6. Tratamientos Biológicos**

Debido a las desventajas que presentan los tratamientos fisicoquímicos, se ha generado un gran interés por buscar otros procesos y condiciones de operación por medio de los cuales sea posible mineralizar los colorantes azo. Los procesos biológicos bajo diferentes condiciones de concentración de oxígeno como los procesos anaerobios, aerobios y la combinación de estos, pueden degradar ciertos colorantes (procesos biológicos convencionales). Asimismo, recientemente se ha dado importancia a la investigación sobre cierto tipo de procesos biológicos no- convencionales como son el uso de hongos del tipo de los Basidiomicetos y de las enzimas del tipo de las peroxidasas extraídas de ciertos productos naturales.<sup>71</sup>

Los procesos biológicos para el tratamiento de efluentes de la industria textil, se basan en el uso de organismos vivos o sus metabolitos producidos por fermentación sólida o líquida de material generalmente lignocelulósico. Muchos microorganismos sobre todo los hongos, son capaces de llevar a cabo reacciones de oxidación de los colorantes, ya que cuentan con una batería enzimática que tiene la capacidad de romper la lignina del material lignocelulósico, y debido a que la estructura de la lignina es similar a las de muchos colorantes, este fenómeno ha sido explotado para ser usado en el tratamiento de aguas residuales con alta carga de colorantes.

---

<sup>70</sup> Maldonado, A., & Molina, R. (2011). Estudio para la reducción de colorantes de las aguas residuales de la industria textil a través de procesos electroquímicos. Obtenido de Repositorio de la Universidad Politécnica Salesiana: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1508/13/UPS-CT002191.pdf>

<sup>71</sup> Moeller, G. (2013). *Evaluación de diferentes procesos de tratamiento para la remoción de colorantes sintéticos utilizados en la industria textil*. Obtenido de Instituto Mexicano de Tecnología del Agua: <http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1406/1/TC-1223.1.pdf>

Los hongos basidiomicetos posee la capacidad de degradar grandes polímeros (lignina y celulosa) que constituyen el substrato vegetal, así como contaminantes ambientales mediante la secreción de un complejo enzimático. La efectividad de degradación depende en gran medida de las oxidoreductasas extracelulares y los metabolitos secundarios de bajo peso molecular. Se basa en la inespecificidad del sistema degradativo desarrollado por estos hongos para despolimerizar y mineralizar la lignina, polímero aromático estructuralmente relacionados con muchos compuestos que causan problemas de contaminación al ambiente; esta capacidad de estos hongos se debe a la presencia de enzimas extracelulares como la Manganese Peroxidasa (MnP), y la lacasa.<sup>72</sup>

### **3.3.5 Fermentación**

#### **3.3.5.1 Definición y tipos de fermentación**

La fermentación es una biotecnología microbiana utilizada mediante sustratos naturales renovables que otorgan un valor agregado a productos tales como enzimas, ácidos orgánicos, alcoholes, polímeros y más. Los productos finales de fermentación como el etanol y el ácido láctico son sumideros de protones, NADH se recicla a NAD<sup>+</sup>, Que permite que la célula continúe produciendo energía a través de la glicólisis por medio de sustrato de Fosforilación. Así, los microorganismos generan productos finales o subproductos para mantener el equilibrio energético.

La formación de los productos finales o subproductos depende de la cepa microbiana y las condiciones ambientales empleadas. Para un proceso óptimo de fermentación se debe seleccionar y desarrollar una cepa microbiana en base al producto deseado.

El crecimiento de microorganismos y la formación del producto se ven afectados por parámetros como la temperatura, pH, oxígeno disuelto, composición y características del medio de fermentación. Existen dos tipos de fermentación a partir de las cuales se pueden

---

<sup>72</sup> Buitron. (1996). *Biodegradación aerobia de compuestos xenobióticos*. En: *Kuppusamy, I. Y Briones, R. (Eds) Biodegradación de Compuestos Orgánicos Industriales*. Obtenido de UNAM, Instituto de Ingeniería, DF, México.: <http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1406/1/TC-1223.1.pdf>

obtener metabolitos de interés industrial, estas son: Fermentación Sumergida (FEL) y Fermentación en estado sólido (FES).

### **Fermentación Sumergida (FEL)**

La producción de fermentación sumergida comenzó en la década de 1930 y es el principal método de fermentación utilizado en la actualidad. Se trata de un proceso en el que el medio estéril y el molde se añaden a un gran tanque donde se mezcla constantemente; en paralelo un suministro de aire estéril se burbujea a través del medio (ya que hablamos de un proceso de fermentación aeróbica). Vale señalar que la cepa de molde utilizada es diferente a la de producción de superficie. Se utiliza para muchos objetivos diferentes, pero mayormente el proceso puede ser usado para fabricar productos como el ácido cítrico, el glicerol o el ácido láctico.<sup>73</sup>

La fermentación sumergida en tanque profundo es la forma típica de obtener productos, en donde un microorganismo seleccionado se cultiva en un medio rico en los nutrientes necesarios para el crecimiento. La fermentación toma generalmente varios días para terminar, y una corriente constante del oxígeno debe ser circulada a través de los tanques todo el tiempo. Otras variables que afectan la fermentación sumergida incluyen el nivel de pH del líquido, la temperatura y la fuerza iónica.<sup>74</sup>

Conforme el microorganismo crece, consume esos nutrientes y los convierte ya sea en biomasa o en una gran variedad de metabolitos como las enzimas<sup>75</sup>, en fermentación sumergida, la producción de enzimas se lleva a cabo por los microorganismos en un medio nutriente líquido.

### **Fermentación en estado sólido (FES)**

La fermentación en estado sólido (FES) se ha usado exitosamente para la producción de enzimas y metabolitos secundarios. Estos productos están asociados con la fase estacionaria de crecimiento microbiano y son producidos a escala industrial para su uso en agricultura y en el tratamiento de enfermedades. Muchos de esos metabolitos secundarios son producidos aún en fermentaciones líquidas sumergidas (FLS), aunque a través de su

---

<sup>73</sup> Doriya, Jose, Gowda, & Kumar. (2016). Solid-State Fermentation vs Submerged Fermentation for the Production of L-Asparaginase. *Advances in Food and Nutrition Research*.

<sup>74</sup> Tepper, R. (2003). Fermentación en Estado Sólido para producción de complejos enzimáticos. Recuperado el 10 de Julio de 2016, de <http://www.infopork.com/posts/6232/fermentaci-n-en-estado-s-lido-para-produccion-de-complejos-enzim-ticos/>

<sup>75</sup> *Ibíd.*

producción este método ha mostrado ser menos efectivo que la FES, ya que cuando la producción a gran escala se incrementa asimismo lo hacen los costos y la demanda energética. La FES ha mostrado que produce un producto más estable, requiere menor energía, en fermentadores más pequeños que facilitan el proceso de separación de los productos.<sup>76</sup>

La fermentación en estado sólido se lleva a cabo en un sustrato con baja cantidad de agua. Los compuestos que contienen carbono en o sobre el sustrato se rompen por los microorganismos que producen enzimas de carácter extracelular o intracelular.

Debido a la ausencia de agua libre, se emplean fermentadores pequeños para la fermentación en estado sólido y por tanto se requiere menos esfuerzo para los procesos de separación. Las cepas nativas o silvestres de bacterias y hongos tienden a un mejor comportamiento en condiciones de fermentación de estado sólido que los organismos genéticamente modificados, reduciendo además costos de energía y de requerimientos.<sup>77</sup>

### **3.3.5.2 Producción de enzimas de uso industrial por fermentación**

El uso de microorganismos y enzimas para la producción de compuestos que tienen aplicación principalmente en la industria energética, material, farmacéutica, química y alimentaria.

Los esfuerzos se dirigen tanto al avance de fábricas de células y enzimas como al diseño de nuevos procesos, conceptos y tecnologías para el proceso de fermentación. A través de la fermentación, se producen para fines industriales. El proceso de fermentación incluye el uso de microorganismos, como levaduras y bacterias para la producción de enzimas.

Los compuestos que contienen carbono en o sobre el sustrato se rompen por los microorganismos produciendo así las enzimas ya sea extracelular o intracelular. Las enzimas se aíslan mediante diversos métodos tales como la centrifugación.

Diversas industrias confían en las enzimas para la producción de sus productos dependientes de la enzima. Las industrias que utilizan enzimas generadas por la fermentación son la fabricación de vino, la elaboración de la cerveza, la fabricación de

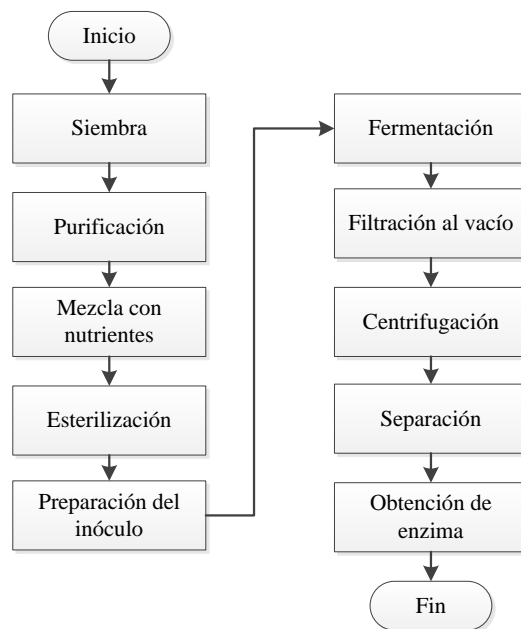
---

<sup>76</sup> Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2002). Fermentación en estado sólido: Una tecnología microbiana promisorio para la producción de metabolitos secundarios. *VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA*, 27-36.

<sup>77</sup> Barrios, J., Tomassini, A., & Lopez, L. (1988). Penicillin production by solid state fermentation.

queso y la cocción.<sup>78</sup> La mayoría de fermentaciones para la producción de enzimas lignolíticas se hace con hongos basidiomicetos como *Auricularia* y otros más, el proceso de producción de enzimas por vía fermentativa es generalizado como se detalla en el diagrama 1.

**Diagrama 1.** Obtención de enzimas por fermentación



Elaborado por: Macías Willy

### 3.3.6 Hongo basidiomiceto *Auricularia auricula*

Los hongos comestibles cultivados se utilizan no sólo como productos alimenticios sino también como materia prima para la producción de agentes medicinales en muchos países (Japón, Corea, China, EE.UU. y Francia). Entre ellos se encuentra *Auricularia auricula*, que pertenece a los más populares para el cultivo en los países de este de Asia.

En Japón, este hongo es conocido como "medusas de árbol", En China se llama "oído de madera", y en Rusia se llama "hongo negro". En Asia, este hongo se valora por su sabor y propiedades medicinales; consideradas como fuente de compuestos antitumorales

<sup>78</sup> Omics. (2016). Enzyme Production By Fermentation Technology. Obtenido de Omics International: <http://www.omicsonline.org/enzyme-production-by-fermentation-technology-scholarly-open-access-journals.php>

en la medicina tradicional china, es usado también para el tratamiento tópico de dolor de garganta, oftalmia, Staphylococcus y amigdalitis.<sup>79</sup>

**Ilustración 2.** Fotografía del Hongo *Auricularia auricula*



**Fuente:** Wikimedia Commons (2010)

*Auricularia auricula*, es del tipo de hongos que causan la pudrición blanca en los árboles al igual que *Cookeina tricholoma*, *Earliella scabrosa*, *Ganoderma*, *Picnoporus sanguineus*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria sp.*, *Schizophyllum commune*, *Trametes sp.*, entre otros.<sup>80</sup> Estas especies tienen una batería enzimática que les permite degradar la biomasa vegetal. Diversos autores han descrito a estos hongos en otras partes del mundo y han reportado los tipos de enzimas producidas por estas especies y sus aplicaciones biotecnológicas.<sup>81</sup>

### 3.3.6.1 Requerimientos Nutricionales

Debido a que no presentan requerimientos nutricionales complicados y a su fácil adaptación a los ambientes de cultivo, los hongos requieren de técnicas simples y económicas para su crecimiento. Los residuos agroindustriales proveen las fuentes de carbono, nitrógeno, azufre y fósforo necesarias para su crecimiento.<sup>82</sup>

La fuente de carbono es proporcionada en su totalidad por los residuos agroindustriales por lo cual para la optimización del cultivo de los hongos se han realizado

---

<sup>79</sup> Belyakova, G., Dyakov, Y., & Tarasov, K. (2006). Botany in 4 volumes. Algae and mushrooms. Russia: M. Academy.

<sup>80</sup> Chanona-Gómez, Alvarez-Gutiérrez, & Pérez-Luna. (2014). Hongos de Chiapas. Guía de campo. México DF: Dirección de Publicaciones del Instituto Politécnico Nacional.

<sup>81</sup> Álvarez, P., Corso, Z., Yañez, G., & Pérez, Y. (2014). Actividades Enzimáticas de Hongos para el Pretratamiento de Residuos Lignocelulósicos. Artículos de la Universidad Politécnica de Chiapas.

<sup>82</sup> Madigan, Martinko, & Parker. (1997). Brock Biology and Microorganism 8th Edición. New Jersey: Prentice Hall.



amplias investigaciones acerca de diferentes mezclas de estos residuos con el fin de incrementar la producción.

De acuerdo con Hernández & López (2008), la fuente de nitrógeno utilizada por los hongos comestibles cultivables es aportada en baja proporción por los residuos agroindustriales, los cuales contienen mayor proporción de carbono que de nitrógeno. Para proporcionar la cantidad de nitrógeno necesaria para el cultivo se adicionan suplementos tanto orgánicos (salvado de trigo, cereal, arroz) como inorgánicos (sales de ion amonio y sales de nitrato).

### **3.3.6.2 Auricularia aurícula en la industria**

Tradicionalmente se han empleado hongos para la producción de alimentos, compuestos aromáticos, productos farmacológicos y enzimas para diferentes propósitos en la elaboración de productos alimentarios, médicos o industriales.

Se han reportado aplicaciones importantes de hongos en biotecnología agrícola e industrial, y para el tratamiento de residuos adversos para el ambiente, entre ellos como los colorantes clorados, fenólicos, anilinas y otros. Los procedimientos biológicos pueden reemplazar con ventaja los métodos electroquímicos debido a que evitan el uso de ácidos y otros compuestos agresivos para el medio ambiente.<sup>83</sup>

En la composición química de esta especie se ha encontrado un fuerte componente antibiótico, por lo que últimamente se lo utiliza cada vez más en la industria farmacéutica (en la tradicional y en la de origen homeopático). El uso de esta es recomendado para los tratamientos de anginas y dolor de garganta. También está relacionada con la cura de diferentes tumores y con el alivio de las inflamaciones oculares.

Examinando la evolución de la industria farmacéutica en la década pasada, la búsqueda de antibióticos en los productos naturales vegetales ha decaído debido, entre otros factores, a los largos procesos de purificación y a que la estructura de los compuestos es tan compleja que dificulta el empleo de la química combinatoria para la síntesis de nuevos compuestos con posible mejor acción.<sup>84</sup>

---

<sup>83</sup> González, R., Figlas, D., Postemsky, P., Balogh, G., & Curvetto, N. (2010). Hongos Comestibles y Medicinales. Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida, Conicet, Bahía Blanca.

<sup>84</sup> Peláez, F. (2006). The historical delivery of antibiotics from microbial natural products — Can history repeat? . *Biochem Pharmacol*, 981–990.

En contraste con las plantas, los hongos por su requerimiento mínimo de nutrientes y su facilidad de crecer en cualquier sustrato, producen fructificaciones en corto tiempo comparado con los vegetales y sintetizan también compuestos con actividad antimicrobiana, haciéndolos una fuente atractiva a la industria por el corto tiempo de su cultivo tradicional (3-5 meses).

Por medio de la manipulación de las variables del proceso biotecnológico se puede incrementar la producción de un tipo de metabolitos en particular, lo que representa un gran atractivo para la industria farmacéutica.<sup>85</sup>

**Tabla 7.** Aplicaciones en la industria de Auricularia Auricula

USO/PRODUCTO	INDUSTRIA	FUENTE
Generación de enzimas empleadas en la producción de etanol. Productora de cresolasas, enzimas empleadas en el pardeamiento enzimático en varios productos alimenticios como el café y el cacao.	Industria alimentaria	(Vaca, 2011) (Hernández C. , 2009) (González, Figlas, Postemsky, Balogh, & Curvetto, 2010)
Empleada en el tratamiento de residuos lignocelulíticos y otros componentes de la madera	Industria papelera	(Sánchez, Sánchez, Vázquez, & Andrade, 2011)
Productora de lacasas empleadas para el tratamiento de aguas residuales con colorantes de la industria textil.	Industria textil	(Garzón, 2009) (Cortazar, y otros, 2010)
El hongo posee propiedades antiinflamatorias, razón por la cual se emplea para ablandar partes inflamadas como anginas y garganta irritada.	Industria farmacéutica	(Vilanova, 1980)
Generación de enzimas (Tirosinasa) que participan en la producción de aspirina. Genera enzimas empleadas para la producción de nylon, fibra sintética y resinas fenólicas.	Industria química	(Vilanova, 1980)

Fuente: Varios Autores

**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

<sup>85</sup> Jaramillo, M. (2009). . Determinación estructural y de actividad antimicrobiana de los intra y exo metabolitos secundarios triterpenoidales en Ganoderma lucidum obtenido en cultivo sumergido. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Sede Bogotá.

#### **4. Visualización del Alcance del Estudio**

La investigación desarrollada en el presente trabajo tiene como propósito conferir una fuente o referencia científica a trabajos posteriores basados en los mismos principios, que servirá de gran ayuda a estudios futuros donde se realizarán tratamiento de aguas residuales industriales con colorante mediante enzimas. Se espera además que los resultados y conclusiones sirvan como guía a investigadores que basarán su estudio en temas similares.

Este estudio posee un contenido de investigación referente a las aguas residuales industriales de origen textil y a su contaminación en los vertidos con alta carga de colorantes a los efluentes. También hace énfasis en el estudio de enzimas lignolíticas y su utilización en diferentes sectores de la industria, sobre todo en los tratamientos de residuos líquidos.

Para el autor del mismo equivale a una enorme cuota de conocimiento y experiencia en el campo de los bioprocesos y tratamientos de aguas residuales de cara al inicio de la carrera profesional. Para la Universidad Técnica de Manabí y la escuela de Ingeniería Química significa un enorme avance en el desarrollo de estudios experimentales y aporte científico.

## 5. Elaboración de Hipótesis y Definición de Variables

### 5.1. Hipótesis

Las enzimas fúngicas obtenidas por fermentación degradan los colorantes presentes en los efluentes residuales de la industria textil.

### 5.2 Variables

#### 5.2.1 Variable Independiente

Enzimas lignolíticas.

#### 5.2.2 Variable Dependiente

Capacidad de degradación

### 5.3 Operacionalización de las variables

MANIFESTACIÓN	CATEGORÍA	INDICADOR	ÍTEMS	TÉCNICA
<b>Variable Independiente:</b> <b>Enzima lignolíticas.</b> Los microorganismos de podredumbre blanca, son capaces de producir enzimas lignolíticas.	Tipo de enzima lignolítica.	Presencia de actividad enzimática.	¿El tipo de microorganismo influye en el nivel de expresión de la enzima de interés?	Formación de halo en placa con medio modificado.

MANIFESTACIÓN	CATEGORÍA	INDICADOR	ÍTEMS	TÉCNICA
<b>Variable Dependiente:</b> <b>Capacidad de degradación.</b> Las enzimas lignolíticas son capaces de catalizar la degradación de colorantes azoicos y antraquinónicos.	Degradación de los colorantes Rojo Reactivo 195 y Azul Reactivo 19	Capacidad de degradación	¿Cuál es la capacidad de degradación que permiten determinar la cantidad de los colorantes Rojo Reactivo 195 y Azul Reactivo 19 degradados por las enzimas de origen fúngico?	Espectrofotometría de UV Visible

## **6 Desarrollo del Diseño de Investigación**

### **6.1 Objetivo General**

Evaluar el uso de una enzima de origen fúngico, para oxidar colorantes residuales provenientes de la industria textil.

### **6.2 Objetivos Específicos**

- Evaluar los residuos lignocelulósicos para la producción de enzimas lignolíticas del hongo *Auricularia auricula*.
- Evaluar el efecto del extracto enzimático en la oxidación de los colorantes mediante el Espectrofotómetro UV visible.
- Evaluar el crecimiento de *Auricularia auricula* sobre residuos lignocelulósicos, en un medio líquido contaminado con alta carga de colorante.
- Determinar la cantidad de sustrato con la que se obtiene mayor decoloración de los colorantes.

#### **6.2.1 Campo de Acción**

El campo de acción al que va dirigida esta investigación es el de Ingeniería en Aguas y Medio Ambiente, debido a que se aplicó a muestras de aguas residuales industriales que presentaban alta carga de colorantes mediante un extracto enzimático de Manganese Peroxidasa obtenido a partir de *Auricularia auricula* con el fin de disminuir la carga de colorantes, también se aplicaron principios biotecnológicos, bioprocesos y microbiología por lo que se establece que este trabajo de titulación involucra dichos campos de ingeniería en el desarrollo de la investigación.

## **6.3 Diseño Metodológico**

### **6.3.1 Tipo de Investigación**

Durante el desarrollo del trabajo de titulación se utilizó la investigación básica, contribuyendo a la ampliación del conocimiento científico en base a la experimentación, manipulando variables en condiciones controladas, para determinar el nivel de acción que tiene un agente biológico en el tratamiento de aguas residuales industriales contaminadas con alta carga de colorante.

### **6.3.2 Métodos de Investigación**

**Método Cuantitativo y Cualitativo.** - La metodología de investigación que se va a aplicar tiene un enfoque de tipo cuantitativo y cualitativo, la cual usa la recolección de datos para probar hipótesis<sup>86</sup>, basándose en mediciones durante el proceso empleando técnicas descritas en el área biotecnológica, para así establecer patrones de comportamiento.

**Métodos Teóricos.** – Se empleó esta metodología con la finalidad de argumentar la investigación mediante revistas científicas, libros y medios electrónicos.

### **6.3.3 Técnicas**

La investigación se realizó mediante 4 experimentos, los cuales consistieron en evaluar el efecto sobre los colorante al poner en contacto las enzimas producidas por *Auricularia auricula*. Dichos experimentos se describen a continuación:

#### **6.3.3.1 Experimento 1: Ensayo preliminar de la acción de las enzimas producidas por *Auricularia auricula*.**

Este primer experimento se estableció para determinar si un extracto enzimático de origen fúngico obtenido a partir de *Auricularia auricula* presentaba oxidación del colorante.

##### **6.3.3.1.1 Microorganismo**

Se usó la cepa aa-0331 proveniente del hongo *Auricularia auricula*, aislada en el Laboratorio de Microbiología de la carrera de Ingeniería Química en investigaciones previas.

---

<sup>86</sup> Hernández, R., C. Fernández, y P Baptista. Metodología de la investigación. McGraw-Hill/Interamericana Editores Ed. Quinta edición ed, 2010.

### 6.3.3.1.2 Obtención del extracto enzimático

#### 6.3.3.1.2.1 Preparación de un medio modificado

Se preparó un medio enriquecido con nutrientes (Hatice Akdogan., 2014), los cuales permitían el crecimiento y expresión de metabolitos de interés como las enzimas lignolíticas, la composición del medio modificado se describe en la tabla 8:

**Tabla 8.** Composición de nutrientes para el crecimiento de *Auricularia auricula*

COMPONENTE	CONCENTRACION	PORCENTAJE
	gr/L	%
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.01	0,16
MgSO <sub>4</sub>	0.05	0,82
CaCl <sub>2</sub>	0.01	0,16
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1	16,47
Sacarosa	5	82,37

**Fuente:** (Hatice Akdogan., 2014)

**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

#### 6.3.3.1.2.2 Sustrato

Bagazo de caña y cascarilla de arroz, se sometieron a fermentación para evaluar el sustrato en el cual se obtenía un mejor rendimiento de biomasa y un mejor efecto del extracto enzimático sobre los colorantes.

#### 6.3.3.1.2.3 Autoclavado

Se prepararon dos matraces de 500mL, que contenían medio modificado con la composición detallada en la tabla XXX, más 15 gramos de sustrato (bagazo de caña, cascarilla de arroz), la mezcla fue sometida a autoclave a 121 °C, 103,7 kPa durante 15 minutos.

#### 6.3.3.1.2.4 Inoculación

Se tomó un bucle (trozo de agar) de cajas Petri que contenían la cepa aa0331 y se procedió a inocular en los matraces, este proceso se realizó dentro de una cabina de flujo laminar, manteniendo el ambiente de trabajo estéril.

#### **6.3.3.1.2.5 Fermentación**

Una vez inoculados, los matraces se depositaron en una incubadora marca *MEMMERT- CLN53ECO S/N CN5ED 11007*, para continuar con el proceso de fermentación. En este punto se mantuvo constante la temperatura a 26,5°C hasta los 15 días que duró el proceso fermentativo.

#### **6.3.3.1.2.6 Filtración**

Finalizada la fermentación, se procedió a separar la fase sólida de los matraces, con la ayuda de una bomba de vacío y un embudo de Büchner, usando como material filtrante papel whatman #1. Se filtró el fermentado repetidamente hasta asegurarse que se han eliminado el material lignocelulósico residual, obteniendo una fase líquida que contenía, células y extracto enzimático.

#### **6.3.3.1.2.7 Centrifugación y Separación**

La fase líquida resultante de la filtración al vacío se distribuyó en tubos de 10 ml y se sometieron a centrifugación, a 6000 rpm por 15 minutos con la ayuda de una centrifuga. Con la ayuda de una micropipeta se separaron las dos fases formadas, retirando el sobrenadante, la cual corresponde al extracto enzimático.

#### **6.3.3.1.2.8 Extracto enzimático**

Se obtuvieron volúmenes considerables de extracto enzimático a partir de la fermentación de cascarilla de arroz y bagazo de caña. Se envasaron en frascos ámbar y se almacenaron en congelación a una temperatura de -10°C para evitar la inactivación de las enzimas presentes en el extracto.

#### **6.3.3.1.2.9 Preparación de la solución de colorantes**

Se partió de una solución madre de 100 mg.L<sup>-1</sup> de colorante AZUL REACTIVO 19 y ROJO REACTIVO 195 adquiridos en ARICROM, la preparación de la solución madre consistió en la mezcla de 500 ml de H<sub>2</sub>O y 0,05 gramos de colorante.

#### **6.3.3.1.2.10 Evaluación del extracto enzimático en presencia de los colorantes.**

Para la evaluación del efecto del extracto enzimático obtenido de una fermentación de *A. auricula* (aa0331) sobre residuos lignocelulósicos (cascarilla de arroz y bagazo de caña). Se colocaron 45 mL de la solución madre de cada colorante con 5 mL de extracto enzimático, y se sometieron a baño maría para mantener la temperatura a condiciones ideales de trabajo de las enzimas lignolíticas (26,5°) (Castillo, 2004) durante una hora,



tiempo después del cual se realizaron mediciones en un espectrofotómetro *THERMO SCIENTIFIC – EVOLUTION 60S*, para determinar si existió oxidación de la enzima a los colorantes. Para descartar el efecto de dilución ocasionado por el agua agregada en el extracto enzimático, se establecieron blancos, en la misma cantidad de solución de colorante pero reemplazando los 5mL de extracto enzimático con 5 mL de H<sub>2</sub>O destilada, de igual forma se realizó la medición de con la ayuda de un espectrofotómetro, para determinar si existió cambio en la concentración del colorante se calculó la diferencia entre la absorbancia medida en los blancos y la absorbancia del experimento Eq. 1.

$$\text{ABS (final)} = \text{ABS (blanco)} - \text{ABS (experimento)} \quad \text{Eq. 1}$$

### **6.3.3.2 Experimento 2: Evaluación del tiempo óptimo de reacción del extracto enzimático**

Esta prueba consistió en determinar un rango de tiempo en el cual el extracto enzimático reacciona sobre los colorantes, hasta que la concentración de los colorantes se vuelva constante. Para la realización de este experimento se repitieron los paso detallados desde el punto 6.3.3.1.2.6 hasta el 6.3.3.2.10 del experimento 1, en el espectrofotómetro se tomaron mediciones cada dos minutos para evaluar el punto hasta que el extracto enzimático ocasiona un cambio en la concentración de colorantes.

### **6.3.3.3 Experimento 3: Evaluación del crecimiento del microorganismo en presencia del colorante**

#### **6.3.3.3.1 Crecimiento de la biomasa en presencia de los colorantes**

Las unidades experimentales para dicho experimento consistieron en una mezcla de 250 ml del medio de nutrientes modificado con 15 gramos de sustratos (cascarilla de arroz o bagazo de caña), y 0,025 gramos de colorante (AZUL REACTIVO 19 o ROJO REACTIVO 195), que luego se sometieron a fermentación inoculando el microorganismo conforme al apartado 6.3.3.1.2.4. La variable de salida fue el incremento de biomasa [ $\mu_{(x)}$ ] en presencia de colorante, la matriz usada para la elaboración de las unidades experimentales y los blancos, se detalla en la tabla 9:

**Tabla 9.** Composición de las unidades experimentales (U.E)

	U.E. 1	BLANCO	U.E. 2	BLANCO	U.E. 3	BLANCO	U.E. 4	BLANCO
<b>MEDIO MODIFICADO (mL)</b>	240	240	240	240	240	240	240	240
<b>BAGAZO DE CAÑA (gr)</b>	15	15	15	15	-	-	-	-
<b>CASCARILLA DE ARROZ (gr)</b>	-	-	-	-	15	15	15	15
<b>AZUL 19 (gr)</b>	0,025	0,025	-	-	0,025	0,025	-	-
<b>ROJO 195 (gr)</b>	-	-	0,025	0,025	-	-	0,025	0,025
<b>SOLUCIÓN DE ESPORAS (mL)</b>	10	-	10	-	10	-	10	-
<b>H2O (mL)</b>	-	10	-	10	-	10	-	10

Elaborado por: Macías Willy (2017)

#### 6.3.3.4 Experimento 4: Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 en distintos tiempos de crecimiento de *Auricularia auricula* con bagazo de caña

Se utilizó el sustrato que presentó mejor afinidad para el crecimiento de *Auricularia auricula*, y el colorante que presentó mayor oxidación. El experimento consistió en evaluar la oxidación del colorante a diferentes concentraciones de colorante y sustrato, la matriz de experimentos para esta evaluación final se presenta en las tablas 10 y 11, para determinar las diferencias mínimas significativas se usó un diseño factorial multinivel, con 2 factores y tres niveles por cada factor, con tres repeticiones para un total de 9 unidades experimentales y 9 blancos.

**Tabla 10.** Atributos de diseño

<b>FACTORES EXPERIMENTALES</b>		<b>CÓDIGO</b>
<b>FACTOR A</b>		
CANTIDAD DE SUSTRATO	5 gr	(A1)
	10 gr	(A2)
	15 gr	(A3)
<b>FACTOR B</b>		
CONCENTRACIÓN DEL COLORANTE	100 mg.L <sup>-1</sup>	(B1)
	200 mg.L <sup>-1</sup>	(B2)
	300 mg.L <sup>-1</sup>	(B3)

**Tabla 11.** Matriz de experimentos

TRATAMIENTO	REPETICIONES		
	1	2	3
A1B1	-	-	-
A1B2	-	-	-
A1B3	-	-	-
A2B1	-	-	-
A2B2	-	-	-
A2B3	-	-	-
A3B1	-	-	-
A3B2	-	-	-
A3B3	-	-	-

## 6.3.4 Recursos

### 6.3.4.1 Equipos

**Tabla 12.** Equipos utilizados en la investigación.

EQUIPOS	MARCA	MODELO
Espectrofotómetro UV visible	THERMO SCIENTIFIC	EVOLUTION 60S
Incubadora	MEMMERT	CLN53ECO S/N CN5ED 11007
Centrifuga	MRC	-
Estufa	LINDBERG/BLUE	GOII305A1
Autoclave	LDZX	VERTICAL – MODELO 30 FB
Cabina de Flujo Laminar	BIOBASE	-
Bomba al Vacío	WELCH – ILUM	2534B-01

Elaborado por: Macías Willy (2017)

### 6.3.4.2 Materiales

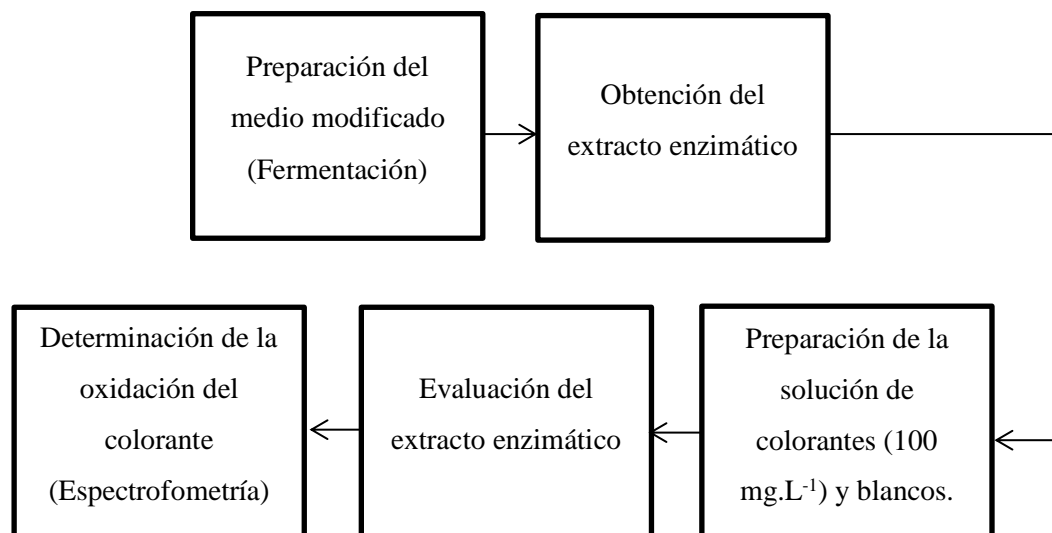
**Tabla 13.** Materiales utilizados en la investigación.

MATERIALES	CANTIDAD	OBSERVACIÓN
Matraz Erlenmeyer	20	250 mL
Caja Petri	25	9 mm
Tubo de Ensayo	15	10 mL
Papel filtro	1	-
Frasco Ámbar	6	60 mL
Micro pipeta	1	20-200ul
Vaso de Precipitación	4	500 mL
Fiola	1	250 mL

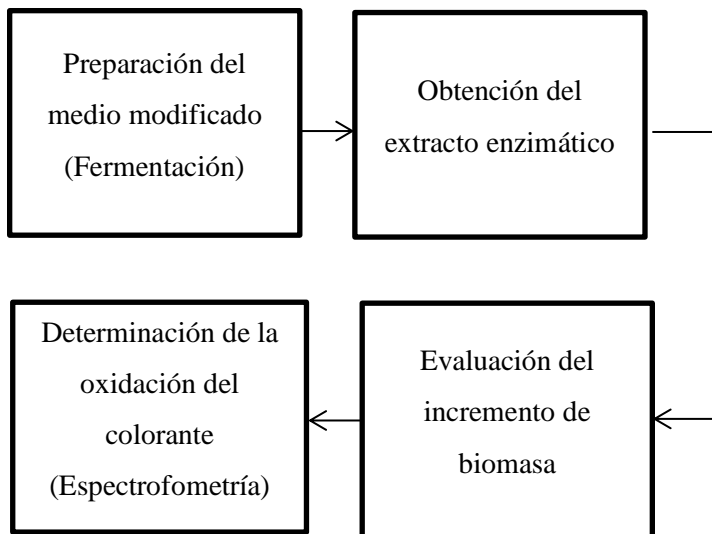
Elaborado por: Macías Willy (2017)

## 6.4 Procedimiento experimental

### 6.4.1 Evaluación 1 y 2

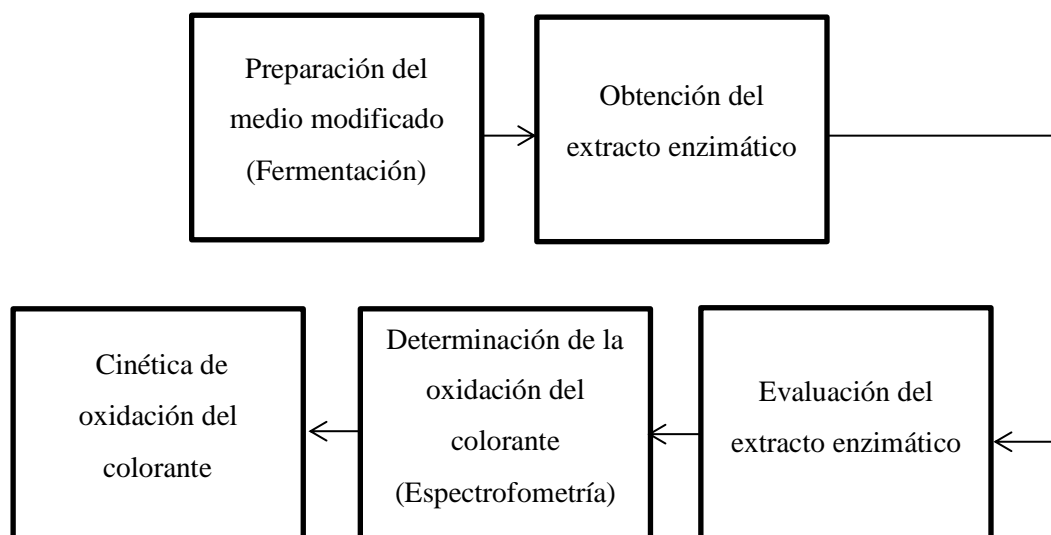


### 6.4.2 Evaluación 3



Elaborado por: Macías Willy (2017)

### 6.4.3 Evaluación 4



## **7 Definición y Selección de la Muestra**

### **7.1 Sustratos**

Para la obtención y producción de las enzimas lignolíticas en la etapa de la fermentación, se utilizaron dos sustratos, los cuales ayudan a la producción de dichas enzimas.

#### **7.1.1 Cascarilla de arroz**

La cascarilla de arroz debido a su afinidad con el hongo *Auricularia auricula*, fue uno de los sustratos seleccionados, este residuo fue obtenido de la piladora San Vicente, ubicada en el cantón Rocafuerte de la provincia de Manabí.

#### **7.1.2 Bagazo de Caña**

El bagazo de caña fue otro de los sustratos que se utilizó en la investigación para la producción de las enzimas lignolíticas, tomado del rechazo de la obtención del jugo de caña que se comercializa en el kiosco “San José”, ubicado en el Parque Forestal de la ciudad de Portoviejo.

### **7.2 Colorantes**

Se utilizaron dos colorantes reactivos, los cuales fueron provistos por la empresa AROMCOLOR S.A. ubicada en la ciudad de Quito, Pichincha-Ecuador.

#### **7.2.1 Colorante Reactivo Rojo 195**

El colorante Reactivo Rojo 195 se lo conoce comercialmente como Reactivo DRIMAREN® Red CL-5B p. (**Anexo 4**. Ficha Técnica)

#### **7.2.2 Colorante Reactivo Azul 19**

El colorante Reactivo Azul 19 se lo conoce comercialmente como Drimaren® Blue CL-BR p. (**Anexo 5**. Ficha Técnica)

Las concentraciones que se utilizaron en los experimentos, se fundamentaron en la investigación realizada por (Calderón, 2012) el cual estudió soluciones de colorantes a 50, 100, 150, 200 y 250 mg.L<sup>-1</sup>, considerándolas como aguas artificialmente contaminadas, como lo menciona Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS) “La

presente norma técnica ambiental es dictada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental y se somete a las disposiciones de éstos, es de aplicación obligatoria y rige en todo el territorio nacional”<sup>87</sup>

**Tabla 14.** Límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales

PARÁMETROS	EXPRESADO COMO	UNIDAD	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE	
			Descarga al sistema de alcantarillado	Descarga a un cuerpo de agua dulce
Color Real	Color Real	Unidades de color	250	Inapreciable en dilución: 1/20
DBO <sub>5</sub>	D.B.O <sub>5</sub> .	mg/L	500	100
DQO	D.Q.O.	mg/L	5-9	250
pH	pH		<40	5-9
Temperatura	°C	-	220	<35
Sólidos Suspendidos Totales	-	mg/L	0,2	100
Compuestos Fenólicos	Expresado como fenol	mg/L	250	0,2

**Fuente:** Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria

<sup>87</sup> <http://www.recaiecuador.com/Biblioteca%20Ambiental%20Digital/TULAS.pdf/>

## 8 Recolección de los Datos

### 8.1 Identificación del microorganismo

**Tabla 15.** Taxonomía del microorganismo

<i>Auricularia auricula</i>	
<b>REINO</b>	<i>Fungi</i>
<b>DIVISIÓN</b>	<i>Basidiomicetos</i>
<b>SUBFILUM</b>	<i>Agaricomicotina</i>
<b>CLASE</b>	<i>Agaricomycetes</i>
<b>ORDEN</b>	<i>Auriculariales</i>
<b>FAMILIA</b>	<i>Auriculariaceae</i>
<b>GÉNERO</b>	<i>Auricularia</i>
<b>CATEGORÍA</b>	<i>Basidiomicetos</i>
<b>NOMBRE COMÚN</b>	<i>Oreja de Judas</i>

Fuente: (Asturnatura, 2006)

#### 8.1.1 Extracto enzimático

Las cantidades de extracto enzimático que se recolectaron a partir de la fermentación de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña y cascarilla de arroz son los que se reportan en la siguiente tabla:

**Tabla 16.** Extracto enzimático en distintos tiempos de fermentación.

MUESTRA	TIEMPO DE FERMENTACIÓN			
	10 días	12 días	15 días	30 días
<b>BAGAZO DE CAÑA</b>	110 ml	100 ml	100 ml	100 ml
<b>CASCARILLA DE ARROZ</b>	100 ml	90 ml	100 ml	110 ml

Elaborado por: Macías Willy (2017)

#### 8.1.2 Descripción de los colorantes

**Tabla 17.** Característica de los colorantes utilizados en la experimentación.

COLORANTE	LONG. ONDA	ABSORBANCIA (A)	CONCENTRACIÓN (mgL <sup>-1</sup> )
<b>ROJO 195</b>	542 nm	1,495 A	100 mg.L <sup>-1</sup>
<b>AZUL 19</b>	594 nm	1,312 A	100 mg.L <sup>-1</sup>

Elaborado por: Macías Willy (2017)



### 8.1.3 Experimento 1

**Tabla 18.** Resultados del efecto del extracto enzimático (bagazo de caña) sobre los colorantes.

COLORANTE	ABSORBANCIA (A)		CONCENTRACIÓN (mg.L <sup>-1</sup> )	
	Blanco	Enzima	Blanco	Enzima
<b>ROJO 195</b>	1,495	1,388 ± 0,03*	100,00	92,85 ± 2,08*
<b>AZUL 19</b>	1,312	1,146 ± 0,04*	100,00	87,37 ± 3,20*

\*Desviación Estándar.

Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Tabla 19.** Resultados del efecto del extracto enzimático (cascarilla de arroz) sobre los colorantes.

COLORANTE	ABSORBANCIA (A)		CONCENTRACIÓN (mg.L <sup>-1</sup> )	
	Blanco	Enzima	Blanco	Enzima
<b>ROJO 195</b>	1,495	1,392 ± 0,03*	100,00	93,16 ± 2,12*
<b>AZUL 19</b>	1,312	1,161 ± 0,04*	100,00	88,54 ± 2,96*

\*Desviación Estándar.

Elaborado por: Macías Willy (2017)

### 8.2 Experimento 2:

**Tabla 20.** Dinámica del efecto del extracto enzimático sobre los colorantes

SUSTRATO	COLORANTE	TIEMPO							
		0 min	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	12 min	14 min
<b>BAGAZO DE CAÑA</b>	<b>ROJO 195</b>	*1,364 **91,25	*1,364 **91,25	*1,357 **90,78	*1,356 **90,71	*1,354 **90,58	*1,350 **90,31	*1,346 **90,04	*1,346 **90,04
	<b>AZUL 19</b>	*1,166 **88,90	*1,163 **88,67	*1,139 **87,87	*1,146 **87,37	*1,145 **87,07	*1,143 **87,14	*1,142 **86,84	*1,142 **86,84
<b>CASCARILLA DE ARROZ</b>	<b>ROJO 195</b>	*1,363 **91,18	*1,359 **90,91	*1,351 **90,38	*1,345 **89,98	*1,345 **89,98	*1,345 **89,98	*1,341 **89,71	*1,341 **89,71
	<b>AZUL 19</b>	*1,155 **88,06	*1,148 **87,53	*1,145 **87,30	*1,145 **87,30	*1,144 **87,22	*1,143 **87,14	*1,139 **86,84	*1,139 **86,84

\*Absorbancia (A). \*\*Concentración (mg.L<sup>-1</sup>).

Elaborado por: Macías Willy (2017)

### 8.3 Experimento 3

**Tabla 21.** Resultados del incremento de la biomasa en presencia del colorante

SUSTRATO	TIEMPO (h)					
	0	72	144	216	288	360
BAGAZO DE CAÑA X (mg/g SS)	6,99	9,01	19,10	43,90	57,87	58,60
CASCARILLA DE ARROZ X (mg/g SS)	6,99	7,54	15,07	15,81	16,54	16,34

Elaborado por: Macías Willy (2017)

### 8.4 Experimento 4

#### 8.4.1 Dinámica de oxidación del colorante durante el crecimiento de *Auricularia auricula*.

**Tabla 22.** Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 24 horas de crecimiento de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña.

CÓDIGO	COMBINACIONES	REPETICIONES			PROMEDIO
		R1	R2	R3	
A1B1	5g - 100ppm	96,375	96,58	96,17	96,38 ± 0,20
A2B1	10g - 100 ppm	98,695	98,97	98,42	98,70 ± 0,27
A3B1	15g - 100 ppm	98,725	98,93	98,52	98,73 ± 0,21
A1B2	5g - 200 ppm	189,99	189,96	190,02	189,99 ± 0,03
A2B2	10g - 200 ppm	197,825	198,01	197,64	197,83 ± 0,19
A3B2	15g - 200 ppm	197,33	196,97	197,68	197,33 ± 0,36
A1B3	5g - 300 ppm	275,36	275,16	275,56	275,36 ± 0,20
A2B3	10g - 300 ppm	257,57	257,65	257,49	257,57 ± 0,08
A3B3	15g - 300 ppm	284,825	285,23	284,42	284,83 ± 0,41

Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Tabla 23.** Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 48 horas de crecimiento de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña

CÓDIGO	COMBINACIONES	REPETICIONES			PROMEDIO
		R1	R2	R3	
A2B1	10g - 100 ppm	93,095	93,11	93,08	93,10 ± 0,02
A3B1	15g - 100 ppm	98,245	98,26	98,23	98,25 ± 0,02
A1B2	5g - 200 ppm	170,62	170,63	170,61	170,62 ± 0,01
A2B2	10g - 200 ppm	194,605	194,69	194,52	194,61 ± 0,08
A3B2	15g - 200 ppm	194,645	194,64	194,65	194,65 ± 0,01
A1B3	5g - 300 ppm	279,01	279,03	278,99	279,01 ± 0,02
A2B3	10g - 300 ppm	263,75	263,72	263,78	263,75 ± 0,03
A3B3	15g - 300 ppm	299,835	299,86	299,81	299,84 ± 0,03

Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Tabla 24.** Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 72 horas de crecimiento de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña.

CÓDIGO	COMBINACIONES	REPETICIONES			PROMEDIO
		R1	R2	R3	
A2B1	10g - 100 ppm	85,765	85,75	85,78	85,77 ± 0,02
A3B1	15g - 100 ppm	93,39	93,42	93,36	93,39 ± 0,03
A1B2	5g - 200 ppm	137,79	137,66	137,92	137,79 ± 0,13
A2B2	10g - 200 ppm	169,5	169,52	169,48	169,50 ± 0,02
A3B2	15g - 200 ppm	177,05	177,02	177,08	177,05 ± 0,03
A1B3	5g - 300 ppm	223,445	223,33	223,56	223,45 ± 0,11
A2B3	10g - 300 ppm	229,875	229,95	229,8	229,88 ± 0,07
A3B3	15g - 300 ppm	272,535	272,49	272,58	272,54 ± 0,04

Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Tabla 25.** Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 96 horas de crecimiento de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña.

CÓDIGO	COMBINACIONES	REPETICIONES			PROMEDIO
		R1	R2	R3	
A2B1	10g - 100 ppm	89,395	89,37	89,42	89,40 ± 0,02
A3B1	15g - 100 ppm	96,45	96,46	96,44	96,45 ± 0,01
A1B2	5g - 200 ppm	168,77	168,75	168,79	168,77 ± 0,02
A2B2	10g - 200 ppm	182,01	182,03	181,99	182,01 ± 0,02
A3B2	15g - 200 ppm	185,88	185,92	185,84	185,88 ± 0,04
A1B3	5g - 300 ppm	251,195	251,23	251,16	251,20 ± 0,03
A2B3	10g - 300 ppm	246,82	246,84	246,8	246,82 ± 0,02
A3B3	15g - 300 ppm	286,14	286,13	286,15	286,14 ± 0,01

Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Tabla 26.** Oxidación del colorante Azul Reactivo 19 durante 120 horas de crecimiento de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña

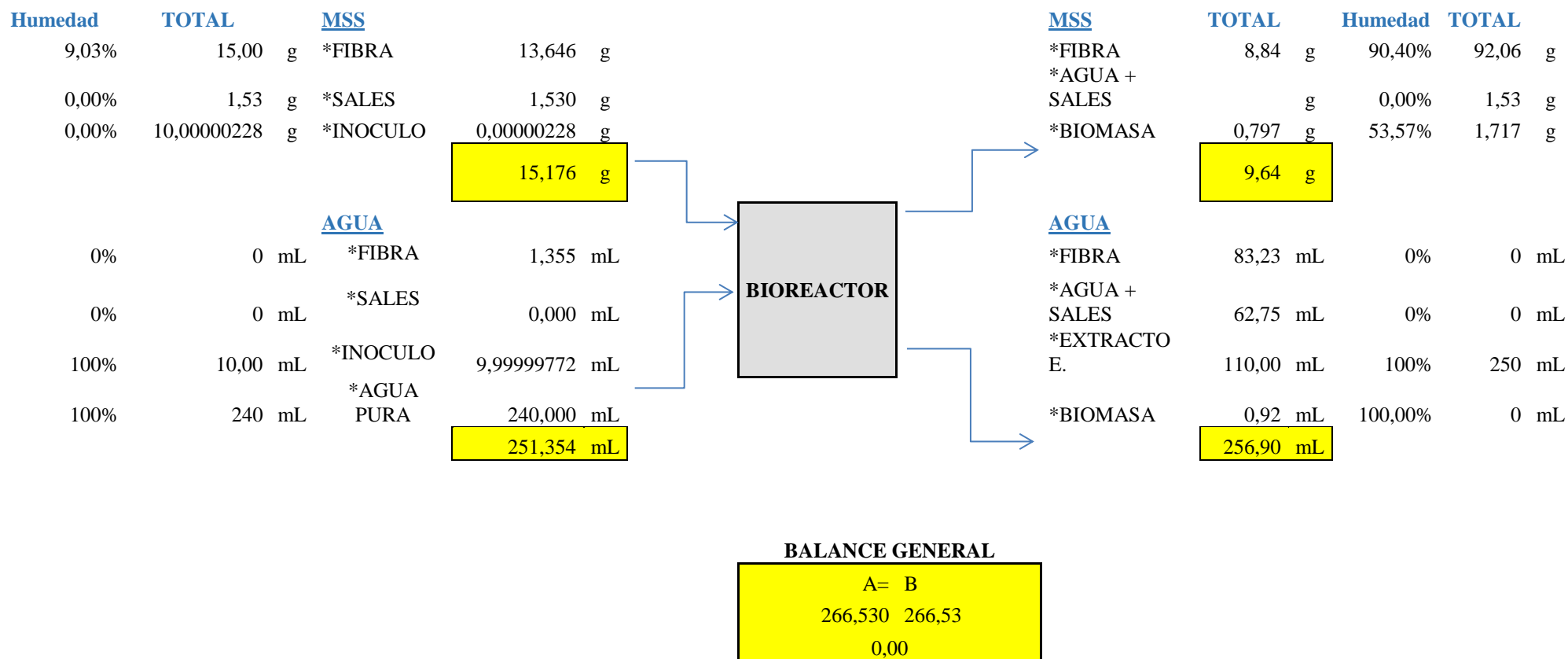
CÓDIGO	COMBINACIONES	REPETICIONES			PROMEDIO
		R1	R2	R3	
A2B1	10g - 100 ppm	86,63	86,42	86,84	86,63 ± 0,21
A3B1	15g - 100 ppm	88,755	88,75	88,76	88,76 ± 0,01
A1B2	5g - 200 ppm	131,21	131,18	131,24	131,21 ± 0,03
A2B2	10g - 200 ppm	173,44	173,46	173,42	173,44 ± 0,02
A3B2	15g - 200 ppm	173,68	173,72	173,64	173,68 ± 0,04
A1B3	5g - 300 ppm	215,7	215,67	215,73	215,70 ± 0,03
A2B3	10g - 300 ppm	237,6	237,61	237,59	237,60 ± 0,01
A3B3	15g - 300 ppm	264,97	264,98	264,96	264,97 ± 0,01

Elaborado por: Macías Willy (2017)

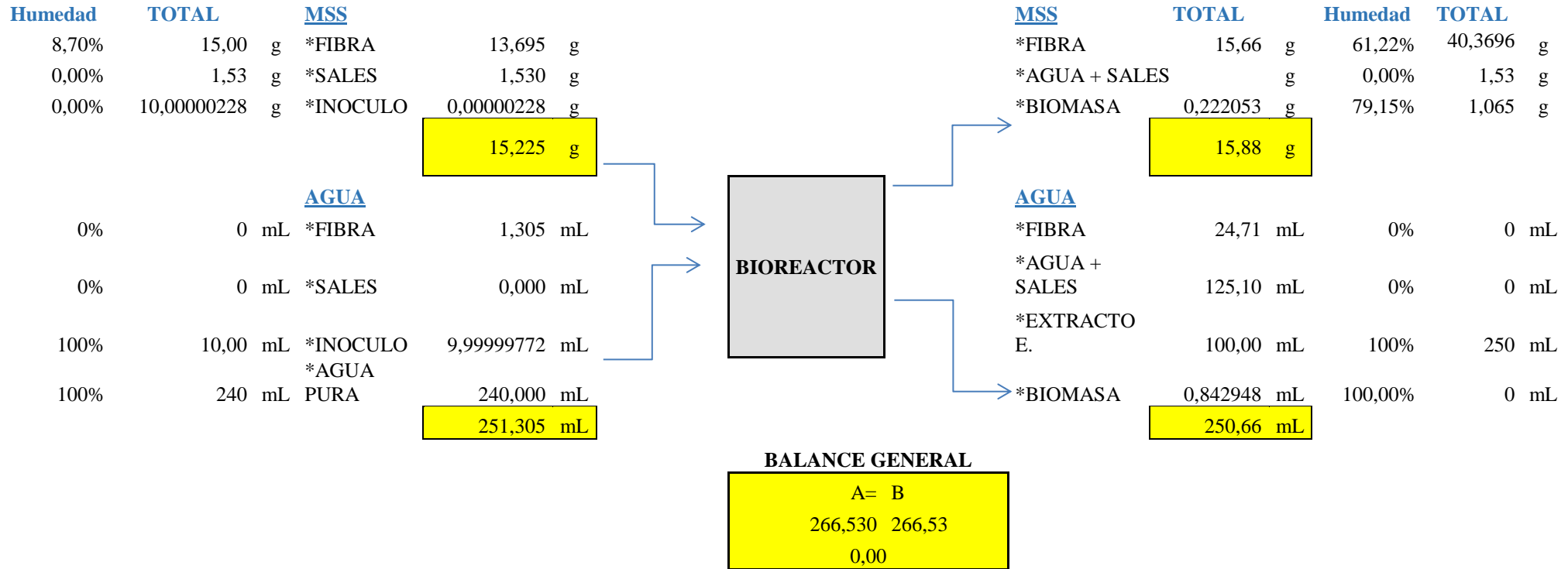
## 9 Análisis y Discusión de los Datos

### 9.1 Balance de materiales para el proceso de fermentación líquida

**Balance de materiales en fermentación líquida del microorganismo con bagazo de caña**



## 9.2 Balance de materiales en fermentación líquida del microorganismo con cascarilla de arroz

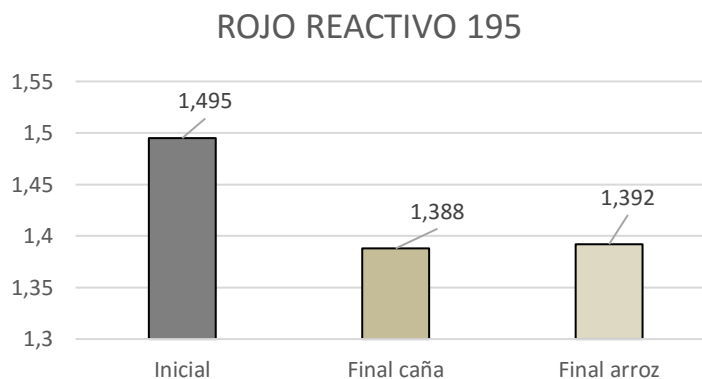


Dentro de la obtención del extracto enzimático con bagazo de caña y cascarilla de arroz, el balance de materiales es importante, por cuanto se considera las cantidades entrantes, salientes y generación de productos, en el proceso fermentativo.

En el balance de materiales una vez finalizado el proceso fermentativo de *Auricularia auricula* con bagazo de caña, muestra la cantidad de 110 mL de extracto enzimático obtenido a partir de una solución de esporas que se inocularon en el medio de nutrientes modificado. El bagazo de caña contenía una humedad de 9,03%, que al final se incrementó a un 90,4% debido al contacto con el medio líquido. La cantidad de biomasa inicial fue de 0,00000228 gramos, la cual durante la fermentación incremento hasta 0,797 gramos debido al crecimiento del microorganismo. Por otra parte del balance de materiales realizado al proceso fermentativo de *Auricularia auricula* sobre cascarilla de arroz, se observó una cantidad menor de extracto enzimático obtenido (100 mL), la humedad que contenía la cascarilla de arroz fue de 8,7% la cual incremento a 61,22%, a su vez, la cantidad de biomasa llegó hasta 0,222 gramos, la cual es menor a diferencia del bagazo de caña, estos valores nos indican que la influencia de la porosidad del material lignocelulósico tiene influencia sobre el rendimiento de los productos finales, en este caso del extracto enzimático, cabe tomar en cuenta que durante la experimentación existe errores en la medición pero que no representarían una variación tan amplia como la que se observa en el rendimiento del extracto enzimático para cada residuo.

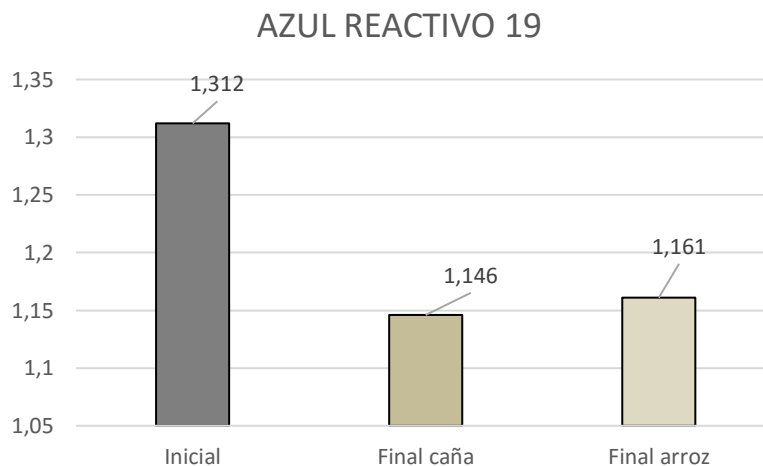
### 9.3 Experimento 1: Evaluación preliminar de la acción de las enzimas producidas por *Auricularia auricula*, sobre los colorantes.

**Gráfico 2.** Cambio de absorbancia inicial del colorante por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos (caña y arroz)



**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

**Gráfico 3.** Cambio de absorbancia inicial del colorante por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos (caña y arroz)



**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

De los resultados obtenidos (Gráfico 2 y Gráfico 3), se puede comprobar que la absorbancia inicial del colorante *ROJO REACTIVO 195*, disminuye, de 1,494 hasta 1,388 y 1,392 en presencia del extracto enzimático obtenido de la fermentación de bagazo de caña y cascarilla de arroz respectivamente, por su parte la absorbancia inicial del colorante *AZUL REACTIVO 19*, disminuye, de 1,312 hasta 1,146 y 1,161 en presencia del extracto enzimático obtenido de la fermentación de bagazo de caña y cascarilla de arroz

respectivamente. Esto puede deberse a una posible oxidación de los colorantes a causa de la presencia de enzimas lignolíticas sobre todo enzimas como MnP, LiP y L, que son metabolitos expresados por hongos basidiomicetos como *Auricularia auricula*.

Se puede observar que el extracto enzimático obtenido a partir de la fermentación del bagazo de caña, presenta una mayor oxidación en relación al extracto enzimático obtenido de la fermentación de la cascarilla de arroz, reportando una disminución de la concentración desde 100 mg.L<sup>-1</sup> hasta 87,37mg.L<sup>-1</sup> en el caso del colorante Azul 19, y desde 100 mg.L<sup>-1</sup> hasta 92,85mg.L<sup>-1</sup> en el caso del colorante Rojo 195.

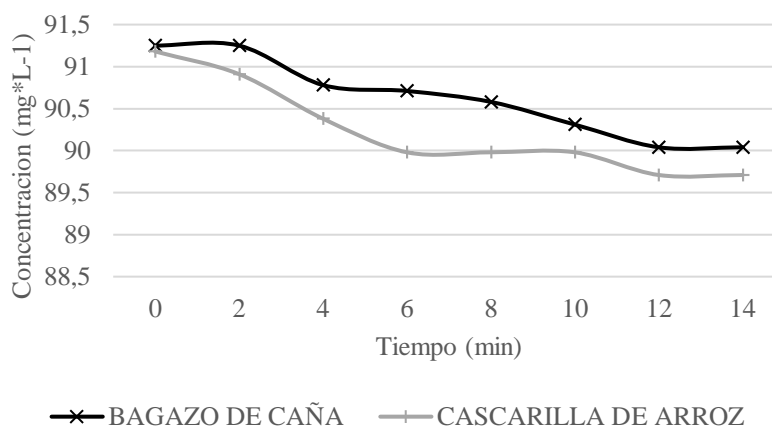
Estos resultados son comparables con investigaciones reportadas anteriormente (Rodriguez E. , 1999), quien utilizó residuos lignocelulósicos como el trigo y la avena como sustratos para la fermentación, reportando valores de decoloración hasta el 55%.



#### 9.4 Experimento 2: Evaluación del rango de tiempo de reacción del extracto enzimático, sobre los colorantes.

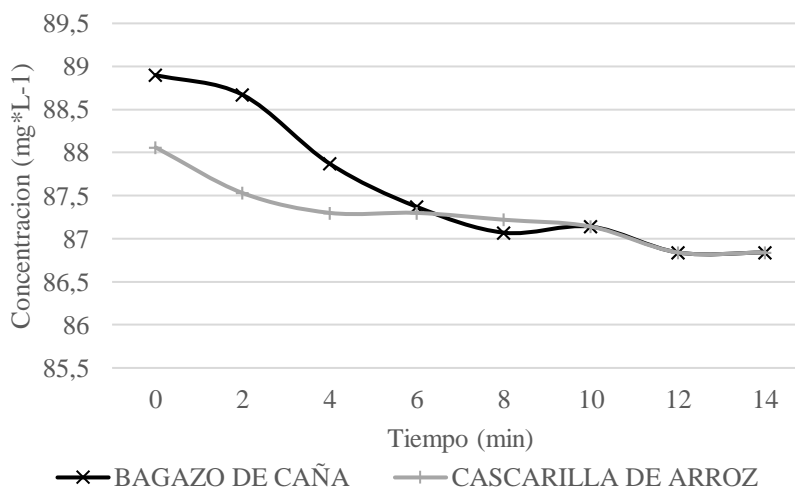
Esta experimentación está fundamentada en determinar un rango de tiempo en el cual el extracto enzimático reacciona sobre los colorantes Rojo 195 y Azul 19, esto se consigue evaluando la acción del extracto enzimático en un rango de tiempo muy corto hasta que se vuelva constante la concentración del colorante.

**Gráfico 4.** Comportamiento dinámico de la concentración inicial del colorante ROJO REACTIVO 195 por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos



**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

**Gráfico 5.** Comportamiento dinámico de la concentración inicial del colorante AZUL REACTIVO 19 por efecto del extracto enzimático obtenido de la fermentación de los sustratos



**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

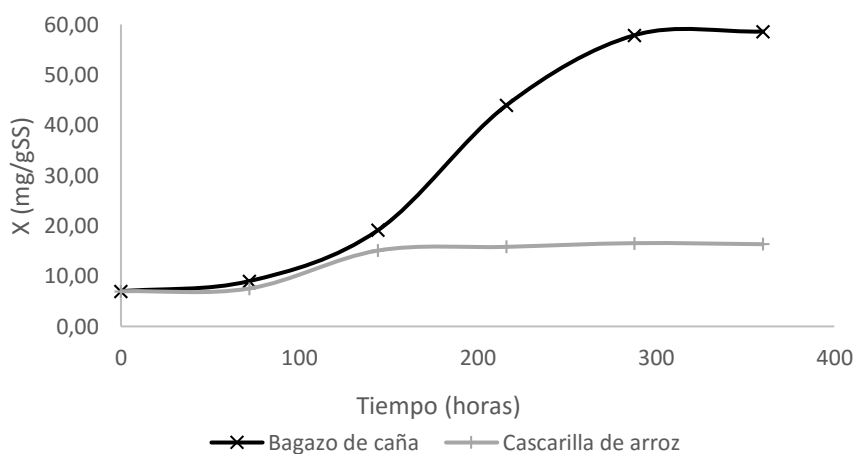
En la gráfica 4, se observa que a partir de la dosificación del extracto enzimático en el colorante ROJO REACTIVO 195, existe una disminución inmediata en la concentración del mismo, este comportamiento se puede observar hasta los 12 minutos de haber dosificado el extracto enzimático, tiempo después del cual la concentración del colorante se vuelve constante, este efecto se puede observar para los extractos obtenidos a partir de la fermentación de bagazo de caña y cascarilla de arroz.

En la gráfica 5, se observa que a partir de la dosificación del extracto enzimático en el colorante AZUL REACTIVO 19, existe una disminución inmediata en la concentración del mismo, este comportamiento se puede observar hasta los 12 minutos de haber dosificado el extracto enzimático obtenido de la fermentación de bagazo de caña, y hasta los 6 minutos de haber dosificado el extracto enzimático obtenido de la fermentación de la cascarilla de arroz, tiempo después del cual la concentración del colorante se vuelve constante para los dos casos.

Estos datos permiten determinar que el rango de tiempo de reacción del extracto enzimático obtenido de la fermentación de bagazo de caña o cascarilla de arroz, esta desde 0 a 12 minutos de haber puesto en contacto la enzima con el colorante, cabe recalcar que la concentración de colorantes utilizadas fue constante ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ). No existen reportes de trabajos realizados, en los cuales utilicen extractos enzimáticos obtenidos de la fermentación de cascarilla de arroz o bagazo de caña con *Auricularia auricula*, en el 2012 se realizó un estudio utilizando hongos del genero *fusarium*, sobre colorantes utilizados en la industria textil (Verde Básico 4, Azul Disperso 3 y Azul Ácido 113), en el cual se reportan tiempos de trabajo de la enzima hasta las 192 horas. (Páez, 2012)

### 9.5 Experimento 3: Evaluación del crecimiento del microorganismo en presencia del colorante.

**Gráfico 6.** Incremento de la biomasa en presencia del colorante



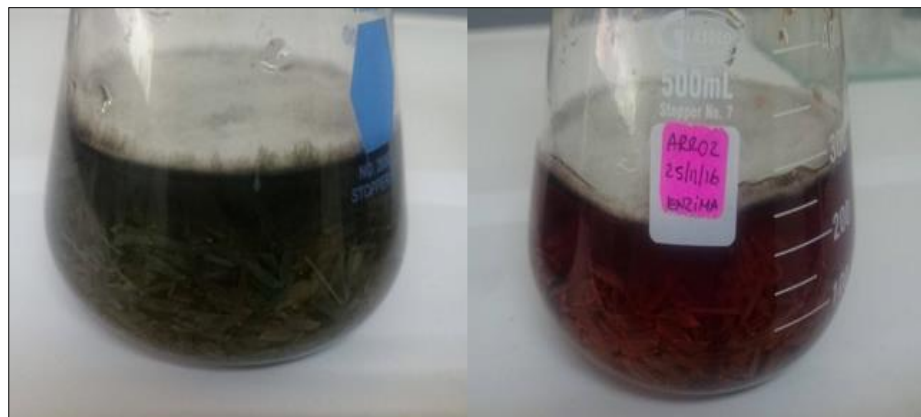
**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

En el gráfico 9, se observa el incremento de la biomasa para la fermentación con *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña y cascarilla de arroz, en presencia de los colorantes ROJO REACTIVO 195 y AZUL REACTIVO 19. El crecimiento de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña, fue mayor en comparación con el crecimiento que presentó cascarilla de arroz, 0,797 gramos de biomasa en bagazo de caña (Ilustración 3) y 0.222 gramos de biomasa en cascarilla de arroz (Ilustración 4). Algunos autores han reportado resultados similares, donde el crecimiento del microorganismo no se ve afectado a la presencia de los colorantes. Los valores de crecimiento encontrados en esta investigación fueron menores al crecimiento de biomasa reportado por (Cardona, 2009), en el cual evaluaron *P. chrysosporium* y *P. sórdida*, los cuales generan alrededor de 3,023 gramos y 2,091 gramos respectivamente, a los 8 días de incubación con la presencia del colorante Orange II, lo cual indica que el crecimiento no fue inhibido por ninguno de los colorantes, cabe recalcar que la investigación mencionada fue realizada en cajas Petri por lo cual el medio de cultivo usado para el crecimiento del microorganismo en presencia de colorante, fue definido, es decir se usaron reactivos con concentraciones conocidas.

**Ilustración 3.** Crecimiento de biomasa con bagazo de caña en presencia de colorante



**Ilustración 4.** Crecimiento de biomasa con cascarilla de arroz en presencia de colorante



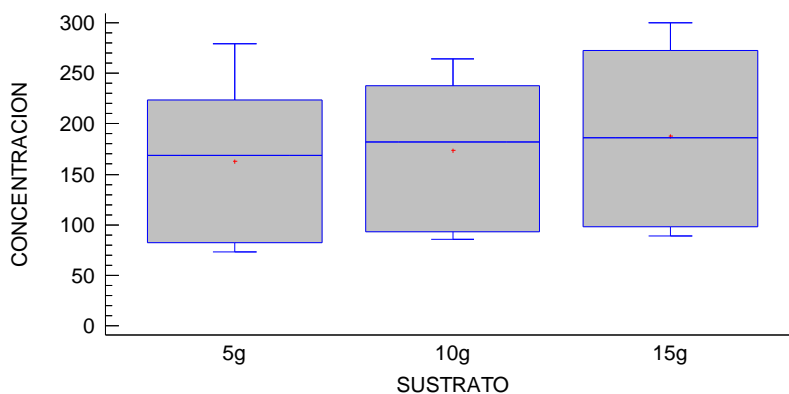
## 9.6 Experimento 4: Dinámica de oxidación del colorante Azul Reactivo 19, durante el crecimiento de *Auricularia auricula* con bagazo de caña.

**Tabla 27.** Pruebas de Múltiple Rangos para concentración por sustrato

SUSTRATO	# DATOS	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS
5g	45	163,19	X
10g	45	173,77	X
15g	45	187,49	X

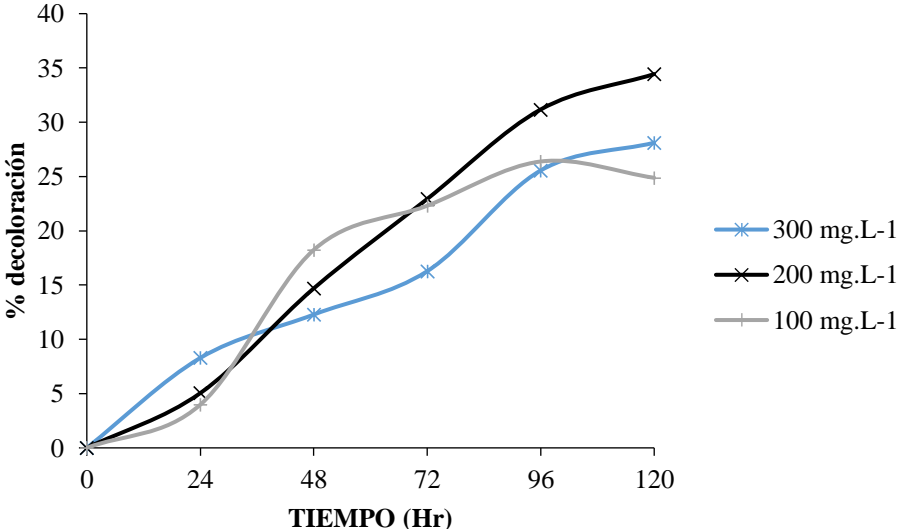
Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Gráfico 7.** Gráfico de efectos principales para concentración



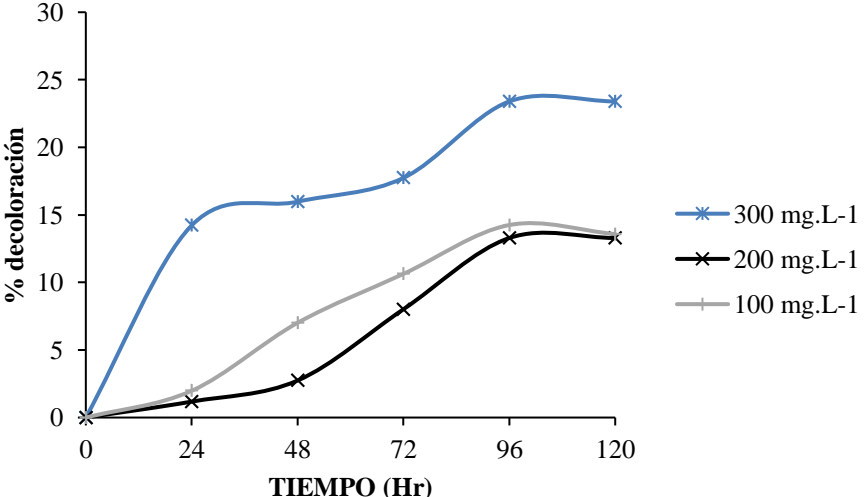
Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Gráfico 8.** Porcentaje de decoloración del colorante con una concentración inicial de con 5 gramos de sustrato lignocelulósico



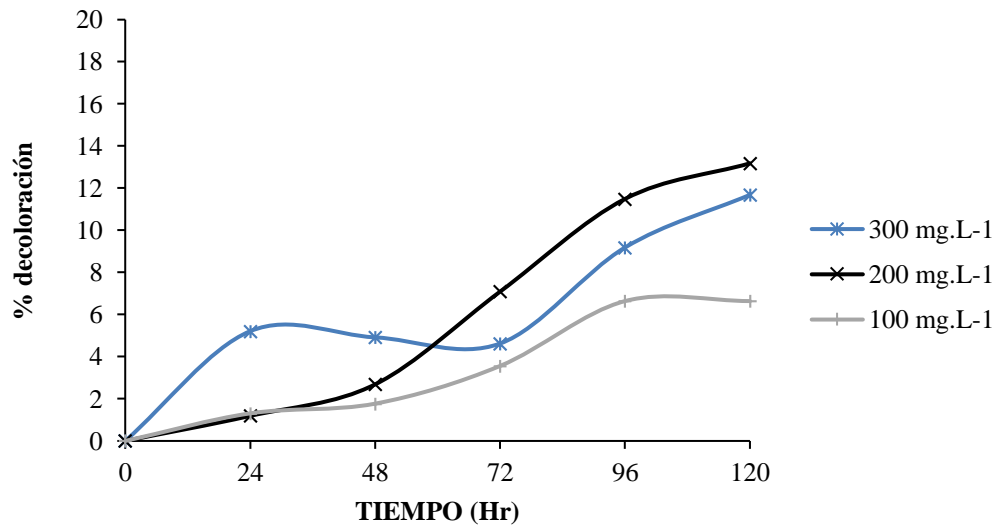
Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Gráfico 9.** Porcentaje de decoloración del colorante con una concentración inicial de con 10 gramos de sustrato lignocelulósico



Elaborado por: Macías Willy (2017)

**Gráfico 10.** Porcentaje de decoloración del colorante con una concentración inicial de con 15 gramos de sustrato lignocelulósico



**Elaborado por:** Macías Willy (2017)

En la gráfica 8 se puede observar que para las tres concentraciones de colorantes evaluadas, existe un aumento en la decoloración del medio. En el caso de la concentración de  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  del colorante, se llegó a un porcentaje de decoloración del medio de cultivo de 34,44% hasta las 120 horas de fermentación, para  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  y  $300 \text{ mg.L}^{-1}$  se llegó a un porcentaje de decoloración de 24,88% y 28,11% del medio de cultivo a las 120 horas de fermentación respectivamente, tiempo después del cual la decoloración del medio en los tres casos tiende a volverse constante. Este comportamiento puede deberse a que la cantidad de enzimas presentes en el extracto están llegando a un punto de saturación, y aunque en la prueba de rangos múltiples descrita en la tabla 27, se observa que no existen diferencias mínimas significativas ( $p\text{-value } 0,05$ ) entre las distintas concentraciones evaluadas, se pudo observar que con 5g de bagazo de caña se obtiene un porcentaje de decoloración alto cuando la concentración inicial de  $200 \text{ mg.L}^{-1}$ .

En la gráfica 9 se puede observar que para las tres concentraciones de colorantes evaluadas, existe un aumento en la decoloración del medio. En el caso de la concentración de  $300 \text{ mg.L}^{-1}$  del colorante, se llegó a un porcentaje de decoloración del medio de cultivo de 23,4% hasta las 96 horas de fermentación, para  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  y  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  se llegó a un porcentaje de decoloración de 13,58% del medio de cultivo en ambos casos a las 120 horas

de fermentación. Cabe recalcar que la decoloración del medio en los tres casos se volvió constante a las 96 horas, a diferencia de la prueba realizada con 5g de sustrato la saturación de las enzimas obtenidas con 10g de sustrato para la fermentación existió una posible saturación antes de concluir el tiempo de fermentación.

En la gráfica 10 se puede observar que para las tres concentraciones de colorantes evaluadas, existe un aumento en la decoloración del medio. En el caso de la concentración de  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  del colorante, se llegó a un porcentaje de decoloración del medio de cultivo de 13,18% hasta las 120 horas de fermentación, para  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  y  $300 \text{ mg.L}^{-1}$  se llegó a un porcentaje de decoloración del 6,64% y 11,68% del medio de cultivo, a las 120 horas de fermentación respectivamente. Aunque finalizada la fermentación no se presentó una estabilidad en la decoloración, no se llegó a los niveles de decoloración conseguidos con 5g de sustrato utilizado en la fermentación.



## 10 Conclusiones

De los dos residuos evaluados para la producción de enzimas de interés industrial, específicamente en el caso de coloración de efluentes contaminados con alta carga de colorantes, el bagazo de caña fue el sustrato más adecuado para la expresión de estos metabolitos.

El extracto enzimático obtenido de la fermentación de *Auricularia auricula* sobre bagazo de caña y cascarilla de arroz, empieza un proceso de oxidación de los colorantes, ya que existió un cambio de absorbancia inicial de cada uno de los colorantes.

El crecimiento del hongo *Auricularia auricula* no se vio afectado por la presencia del colorante en el medio de cultivo, llegándose a obtener un rendimiento ( $Y_{x/s}$ ) de 0,06 gramos de biomasa sobre gramos de sustratos en el caso de bagazo de caña y 0,02 gramos de biomasa sobre gramos de sustrato en el caso de la cascarilla de arroz.

De las tres dosis de sustratos evaluados para la fermentación con *Auricularia auricula*, se consiguió una mayor decoloración con 5 gramos de bagazo de caña hasta un tiempo de 120 horas, siendo esta la cantidad más baja de sustrato evaluado.

## **11 Recomendaciones**

Evaluar la actividad enzimática con 5 gramos de bagazo de caña usados para la fermentación con *Auricularia auricula*, para determinar los parámetros cinéticos del proceso.

Comprobar tiempos más prolongados de fermentación para conocer la decoloración se vuelve constante en todas las concentraciones de los colorantes.

Evaluar una metodología alternativa para darle seguimiento al crecimiento del microorganismo y evaluar la toxicidad de la biomasa producida.

## 12 Presupuesto

Los gastos de las Válvulas Reguladoras del Cromatógrafo de gases, ICP y Masa y los Reactivos Calidad HPLC, fueron solventados mediante beca estudiantil con el presupuesto de \$4000.

Descripción	Unidad	Cantidad	Costo Unitario (\$)	Costo Total (\$)
<b>Materiales de laboratorio</b>				
Guantes, mascarilla	Unidad	10	0.25	2.50
Papel crafts	Pliego	4	0.30	1.20
Papel aluminio	Paquete	2	1	2
<b>Transporte</b>				<b>110</b>
<b>Equipos de laboratorio</b>				
Válvulas Reguladoras de gases para Cromatógrafo de gases, ICP y Masa				<b>3395</b>
<b>Reactivos</b>				
Reactivos Calidad HPLC				<b>605</b>
<b>Materiales de oficina</b>				
Papel bond A4	Resma	1	5	5
Impresiones				10
CD				5
Anillado				1.5
<b>Gastos Varios (recipientes, cinta, jabón)</b>				<b>5</b>
<b>Alimentación</b>				<b>25</b>
<b>Imprevistos</b>				<b>5</b>
<b>TOTAL</b>				<b>4172.20</b>

### 13 Cronograma

N <sup>o</sup>	Actividades	Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			Enero				Febrero	
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	4	1	2
1	Elaboración de anteproyecto	x	x																			
2	Presentación del anteproyecto ante la comisión especial de titulación y aprobación del mismo			x																		
3	Elaboración de las técnicas de investigación y levantamiento bibliográfico				x	x																
4	Recolección y selección de datos						x	x														
5	Planteamiento experimental para los ensayos de laboratorio								x	x	x	x										
6	Desarrollo del marco teórico											x	x	x								
7	Análisis de los resultados														x	x	x					
8	Presentación del trabajo final al tutor																x	x				
9	Revisión del trabajo final por parte del revisor																			x		
10	Solicitar fecha y hora de defensa del trabajo de titulación																				x	x

## 14 Bibliografía

- Álvarez, P., Corso, Z., Yañez, G., & Pérez, Y. (2014). Actividades Enzimáticas de Hongos para el Pre-tratamiento de Residuos Lignocelulósicos. *Artículos de la Universidad Politécnica de Chiapas*.
- Amir. (2013). *Top Countries with Largest Textile Industry*. Obtenido de Country Ranker: <http://www.countryranker.com/top-countries-with-largest-textile-industry/>
- Belyakova, G., Dyakov, Y., & Tarasov, K. (2006). *Botany in 4 volumes. Algae and mushrooms*. Russia: M. Academy.
- Bonugli-Santos, R., Durrant, L., & Duráes, S. (2011). The production of ligninolytic enzymes by marine derived basidiomycetes and their biotechnological potential in the biodegradation of recalcitrant pollutants and the treatment of textile effluents. *Water, Air, & Soil Pollution*.
- Borges, D., Díaz, A., San Juan, A. N., & Gómez, E. (2010). Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógeno. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar*, 49-57.
- Buitron. (1996). *Biodegradación aerobia de compuestos xenobióticos*. En: Kuppusamy, I. Y Briones, R. (Eds) *Biodegradación de Compuestos Orgánicos Industriales*. Obtenido de UNAM, Instituto de Ingeniería, DF, México.: <http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1406/1/TC-1223.1.pdf>
- Cairney, & Burke. (1998). Do ecto- and ericoid mycorrhizal fungi produce peroxidase activity. *Mycorrhiza* , 61.
- Carbajal, M. (2014). *Degradación de compuestos fenólicos por el hongo causante de pudrición blanca Trametes versicolor*. Obtenido de Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires: [digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_5571\\_Carabajal.pdf+&cd=13&hl=es&ct=clnk&gl=ec#32](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_5571_Carabajal.pdf+&cd=13&hl=es&ct=clnk&gl=ec#32)
- Carvalho, G., Delée, W., Novais, J., & Pinheiro, H. (2002). A factorially designed study of physicochemical reactive dye colour removal from simulated cotton textile processing wastewaters. *Coloration technology*, 215-219.
- Castillo. (2004). Aislamiento de Hongos degradadores de colorantes empleados en la industria textil. *Centro de Investigaciones en Biotecnología Aplicada*, 4-10.

- Castro, Y. (2013). *ESTUDIO DE LA BIOQUIMICA DE ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTICAS*. Obtenido de Universidad Católica de Manizales: <http://repositorio.ucm.edu.co:8080/jspui/bitstream/handle/10839/954/Yasneira%20Castro%20Saya.pdf?sequence=1>
- Cedeño, V., & Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Lima, Peru: Centro Internacional de la Papa.
- Chanona-Gómez, Alvarez-Gutiérrez, & Pérez-Luna. (2014). *Hongos de Chiapas. Guía de campo*. . México DF: Dirección de Publicaciones del Instituto Politécnico Nacional.
- Coca J., F.-L. G.-L. (2001). *Molecular cat B: Enzy-matic* .
- Coombs, J., & Alston, Y. (2016). *International Biotechnology Directory*. New York: Springer.
- Cortazar, A., González, C., Coronel, C., Escalante, J., Castro, J., & Villagómez, J. (2010). *Biotecnología Aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil*. Obtenido de Instituto de Biotecnología, UNAM: [www.universidadyciencia.ujat.mx/sistema/documentos/volumenes/28-2-2012/715.pdf+&cd=6&hl=es&ct=clnk&gl=ec](http://www.universidadyciencia.ujat.mx/sistema/documentos/volumenes/28-2-2012/715.pdf+&cd=6&hl=es&ct=clnk&gl=ec)
- Cortez, V. G. (2005). *Introduccion a la microbiologia segunda edicion*.
- Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T., & Qin, W. (2010). Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 36-50.
- Dávila, & Vásquez. (2006). Enzimas Lignolíticas Fúngicas para fines ambientales. *Mensaje Bioquímico*, 29-55.
- Dávila, S. (2012). *Optimización del proceso de aplicación de los colorantes en la empresa Radel Industry S.A. Ambato*. Obtenido de Escuela Superior Politécnica del Chimborazo: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2026/1/96T00168.pdf>
- De Faria, L. A., Santana, M. H., Da Silva, L. M., Freitas, A. C., Boodts, J. F., & Fernandes, K. C. (2009). Application of electrochemically generated ozone to the discoloration and degradation of solutions containing the dye Reactive Orange 112. *Journal of Hazardous Materials*, 10-17.
- De Tullio, & Marino. (2013). Impacto ambiental de productos químicos auxiliares usados en la industria textil argentina. . *Centro de Investigaciones Textiles (CIT) y la Asociación Argentina de Químicos y Coloristas Textiles (AAQCT)*, Buenos Aires.

- Díaz, J. (Febrero de 2016). *EL SECTOR TEXTIL EN CIFRAS*. Obtenido de Revista Vistazo: <http://vistazo.com/seccion/pais/el-sector-textil-en-cifras>
- Doriya, Jose, Gowda, & Kumar. (2016). Solid-State Fermentation vs Submerged Fermentation for the Production of l-Asparaginase. *Advances in Food and Nutrition Research*.
- Ekos. (Septiembre de 2015). *Industria textil en Ecuador*. Obtenido de Revista Ekos: <http://www.ekosnegocios.com/negocios/verArticuloContenido.aspx?idArt=6446>
- Enzyme Technical Association . (2003). *Enzymes; A primer on use and benefits today and tomorrow*. Washington D.C.
- Facchin, S., Divina, P., Faria, F. d., Moura, T., & Netto, J. (2013). Biodiversity and secretion of enzymes with potential. *Open Journal of Ecology*, 34-47.
- Fernández, & Henao. (2007). *Hongos de la podredumbre blanca y fotocatalisis homogénea nanoestructurada con TiO2 como alternativa biotecnológica para la remoción del negro reactivo 5*. Obtenido de Pontificia Universidad Javeriana: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis222.pdf>
- Fernández, J., Henao, L., Pedroza, A., & Quevedo, B. (2009). Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo . *Revista Colombiana de Biotecnología*.
- Flores, Rendón, Velázquez, & Oria. (2006). Enzimas Lignolíticas Fúngicas para fines ambientales. *Mensaje Bioquímico* .
- García, F. (2012). *Generalidades y características de los hongos*. Obtenido de [www.florgarcia.com/wp-content/uploads/2012/10/HONGOS-Generalidades-metabolismo-reproduccion-clasificacion.pdf+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec](http://www.florgarcia.com/wp-content/uploads/2012/10/HONGOS-Generalidades-metabolismo-reproduccion-clasificacion.pdf+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec)
- Garzón, R. (2009). *Cinética de degradación de colorantes textiles de diferentes clases químicas por hongos y bacterias inmovilizados sobre fibra de Agave tequilana Webber var. azul* . Obtenido de Pontificia Universidad Javeriana: [www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis217.pdf](http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis217.pdf)
- Giraldo, R. D. (2009). *Manual de Tecnicas de Laboratorio Químico*. Antioquia, Colombia: Universidad de Antioquia.
- Golob, V., Vinder, A., & Simonic, M. (2005 ). Efficiency of the coagulation/flocculation method for the treatment of dyebath effluents. *Dyes and Pigments*, 67 (2), 93-97.
- Gómez, C. (2009). *Contaminantes habituales en las aguas Residuales*. Recuperado el 6 de Julio de 2016, de Repositorio ESPOL:

<https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6161/2/GRASASYACEITE.S.doc+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec>

- Gonçalves, M., Joycea, A., Alves, M., Correia, J., & Marques, I. (2005). Anodic oxidation of oleate for wastewater treatment. *Elsevier*, 351-355.
- González, I. (2012). *Enzimas lipolíticas bacterianas*. Recuperado el 10 de Julio de 2016, de Revistas Científicas de la Universidad de Murcia.
- González, J., Moreno, V., & del-Monte, A. (2010). Las lipasas: enzimas con potencial para el desarrollo de biocatalizadores inmovilizados por adsorción interfacial. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 5-10.
- González, R., Figlas, D., Postemsky, P., Balogh, G., & Curvetto, N. (2010). Hongos Comestibles y Medicinales. *Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida, Conicet, Bahía Blanca*.
- GRAS. (Octubre de 2008). *Inventory of GRAS Notices: Summary of all GRAS Notice*. Recuperado el 18 de Agosto de 2016
- Guimarães, V., Juliano, S., & Vieira, J. (2009). In situ bioremediation using biosurfactant produced by solid state fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 843-849.
- Hatakka, A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiol Rev*, 125-135.
- Hatice Akdogan., M. T. (2014). Studies on decoloritazion of reactive blue 19 textile dye by *Coprinus plicatilis*. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 1-49.
- Heinflin, A., Martínez, M., Martínez, A., Bergbauer, M., & Szewzyk, U. (1998). Transformation of Industrial Dyes by Manganese Peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a Manganese-Independent Reaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 2788–2793.
- Heponiemi, A., & Lassi, U. (2012). Advanced Oxidation Processes in Food Industry Wastewater Treatment – A Review . *Department of Chemistry, University of Oulu, Oulu*, 313-340.
- Hernández, R., & López, C. (2008). *Evaluación del crecimiento y producción de pleurotus ostreatus sobre diferentes residuos agroindustriales departamento de Cundinamarca*. Obtenido de Pontificia Universidad Javeriana: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis257.pdf>



- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2010). *Metodología de la investigación*. McGraw-Hill/Interamericana Editores Ed. Quinta edición ed.
- HO, L. (2002). *Conceptos basicos de la contaminacion del agua* .
- Hofrichter, M. (2002). Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*, 454–466.
- IndBioCat. (2016). *Biotechnological valorization of ligninolytic fungi and their oxidative enzyme system*. Obtenido de Industrial Biotechnology : <http://www.chemeng.ntua.gr/indubiocat/ligninolytic-fungi.html>
- Kadam, A., J. Kamatkar, R. K., Jadhav, J., & Govindwar, S. (5 de Mayo de 2012). *Solid-state fermentation: tool for bioremediation of adsorbed textile dyestuff on distillery industry waste-yeast biomass using isolated Bacillus cereus strain EBT1*. Recuperado el 12 de Julio de 2016, de PubLMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22562346>
- Lamarque, A., Zygadlo, J., Iabuckas, D., Lopez, L., Torres, M., & Maestri, D. (2008). *Fundamentos Teóricos-Prácticos de Química Orgánica*. Córdoba: Encuentro Grupo Editor.
- Lobos, S., Larram, J., Salas, L., Cullen, D., & Vicuña, R. (1994). Isoenzymes of manganese dependent peroxidase and laccase produced by the lignin degrading basidiomycete *Ceriporiopsis subvermispora*. . *Microbiology*.
- Madigan, Martinko, & Parker. (1997). *Brock Biology and Microorganism 8th Edición*. New Jersey: Prentice Hall.
- Maldonado, A., & Molina, R. (2011). *Estudio para la reducción de colorantes de las aguas residuales de la industria textil a través de procesos electroquímicos*. Obtenido de Repositorio de la Universidad Politécnica Salesiana: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1508/13/UPS-CT002191.pdf>
- Martínez, M., & Kurek, B. (1997). Oxidative Degradation of Alkali Wheat Straw Lignin by Fungal Lignin Peroxidase, Manganese Peroxidase and Laccase: A Comparative Study. *Holzforschung*, 543-548.
- Medrano, H. (2007). *Biorremediación para la contaminación ambiental agropecuaria*. Recuperado el 12 de Julio de 2016, de Instituto Tecnológico de Durango: <http://www.chapingo.mx/revistas/phpscript/download.php%3Ffile%3Dcompleto%26id%3DMTY3MA%3D%3D+%cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec>
- Mendez, A. (27 de Enero de 2011). *La Guia de Química*. Recuperado el 09 de Junio de 2016, de La Guia de Química: <http://quimica.laguia2000.com/general/fermentacion>

- Mendoza, G. (2012). *ESTUDIO DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS PRODUCIDAS POR Pleurotus Ostreatus y Lentinula edodes USANDO DIFERENTES INDUCTORES*. Obtenido de Universidad Autónoma de Madrid: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1029/1/T-SENESCYT-0404.pdf>
- Mézquita, A. (2013). *Tratamiento biológico de aguas residuales a base de enzimas y bacterias*. Recuperado el 6 de Julio de 2016, de CIAP: <http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Materiales/Produccion/Medio%20Ambiente/tratamiento%20biologico%20de%20aguas%20residuales.pdf>
- Miki, Calviño, & Pogni. (2011). Crystallographic, Kinetic, and Spectroscopic Study of the First Ligninolytic Peroxidase Presenting a Catalytic Tyrosine. *The Journal of Biology Chemistry* .
- Moeller, G. (2013). *Evaluación de diferentes procesos de tratamiento para la remoción de colorantes sintéticos utilizados en la industria textil*. Obtenido de Instituto Mexicano de Tecnología del Agua: <http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1406/1/TC-1223.1.pdf>
- Molina, & Espín. (2014). Obtención de Extractos Enzimáticos con Actividad Ligninolítica y Celulolítica a partir del Crecimiento del Hongo Lentinusedodesen Aserrín Tropical. *\*Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito, Ecuador* .
- Moreno, N., & Ospina, X. (2008). *Evaluación de Inductores metálicos y co-sustratos para la remoción de negro reactivo 5 empleando pleurotus ostreatus inmovilizado en fique*. Obtenido de Repositorio de la Pontificia Universidad Javeriana: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis222.pdf>
- New Logic Research. (2012). *Utilización de Membranas vibrantes para tratar las aguas residuales*. Recuperado el 10 de Julio de 2016, de New Logic Research: <http://www.vsep.com/local/spanish/Estudio.de.Caso.Agua.Aceitosa.pdf>
- Niladevi, K. (2009). *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Lignolytic Enzymes*. Springer Netherlands.
- Novotný, Č., Svobodová, K., Erbanová, P., Cajthamla, T., Kasinatha, A., Langb, E., & Šašeka, V. (2004). Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. *Soil Biology and Biochemistry*, 1545–1551.
- Omics. (2016). *Enzyme Production By Fermentation Technology*. Obtenido de Omics International: <http://www.omicsonline.org/enzyme-production-by-fermentation-technology-scholarly-open-access-journals.php>

- Ortíz, G. (2011). *Introducción a los bioprocesos*. Recuperado el 12 de Agosto de 2016, de Introducción a la Biotecnología 2011: [http://www.iib.unsam.edu.ar/php/docencia/licenciatura/biotecnologia/2011/IntroBio/Clase\\_Bioprosesos-GOrtiz.pdf](http://www.iib.unsam.edu.ar/php/docencia/licenciatura/biotecnologia/2011/IntroBio/Clase_Bioprosesos-GOrtiz.pdf)
- Osma, J. F., Toca-Herrera, J., & Rodríguez-Couto, S. (2010). Uses of Laccases in the Food Industrv. *Enzyme Research*.
- Páez, M. (2012). *Determinación de la actividad enzimática de lacasas y lignina peroxidasa de hongos degradadores de colorantes seleccionados para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil* . Obtenido de Repositorio de la Universidad Politécnica del Ejército.
- Pandey A., B. S. (1999). *The realm of microbial lipases in biotechnology and applied biochemistry*.
- Patarroyo, E. (2014). PROCESOS DE ESTABILIZACIÓN DE RESIDUOS GENERADOS EN LA INDUSTRIA TEXTIL EN COLOMBIA MEDIANTE LODOS ACTIVADOS. *Universidad Militar Nueva Granada*, 6.
- Peláez, F. (2006). The historical delivery of antibiotics from microbial natural products — Can history repeat? . *Biochem Pharmacol*, 981–990.
- Pereira, L., & Alves, M. (2012). Dyes-Environmental Impact and Remediation . *Springer Science Business Media* .
- Pirkarami, A., & Ebrahim, M. (2014). Removal of dye from industrial wastewater with an emphasis on improving economic efficiency and degradation mechanism. *Journal of Saudi Chemical Society*, 1-8.
- Pokorny D., F. J. (1994). *Effect of nutritional factors on lipase biosynthesis by Aspergillus niger*.
- Ponce, Vázquez, Rodríguez, Medina, Lozano, & Jáuregui. (2012). Evidencia de la biodegradación de resinas fenólicas con hongos ligninolíticos por microscopía electrónica de barrido. . *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 28(2), 159-166.
- Qin, J., Oo, M., & Kekre, K. (2007). Nanofiltration for recovering wastewater from a specific dyeing facility. . *Separation and Purification Technology*, 56, , 199-203.
- Rathbone, Holt, Lowe, & Bruce. (1997). Molecular analysis of the Rhodococcus sp. strain H1 her gene and characterization of its product, a heroin esterase, expressed in Escherichia coli. *Applied and Environment Microbiology*, 63.

- Ratser. (14 de Diciembre de 2013). *Ventajas y desventajas de alimentos fermentados*. Recuperado el 12 de Agosto de 2016, de <http://www.ratser.com/ventajas-y-desventajas-de-alimentos-fermentados/>
- Rediz, A. (2010). *EFEECTO DE LA INDUCCIÓN CON EXTRACTOS ACUOSOS DE PAJA DE TRIGO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LIGNOLÍTIAS EN Pleurotus ostreatus*. Obtenido de Artículos de la Universidad Pública de Navarra: T\_6Ef0UfftcJ:academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/2153/577233.pdf%3Fsequence%3D1+&cd=5&hl=es&ct=clnk&gl=ec
- Renge, V., Khedkar, S., & Nandurkar, N. (2012). *Enzyme Synthesis by fermentation method: A review*. Recuperado el 12 de Julio de 2016, de Scientific Reviews and Chemical Communications: [http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2012/7\\_152\\_SRCC\\_2\(4\)2012\\_P.pdf](http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2012/7_152_SRCC_2(4)2012_P.pdf)
- Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2002). Fermentación en estado sólido: Una tecnología microbiana promisoría para la producción de metabolitos secundarios. *VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA*, 27-36.
- Rodriguez, E., Gamboa, M. d., Hernandez, F., & Garcia, J. (2005). *Bacteriología General: Principios y Prácticas de laboratorio*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Salazar, L., Crespi, M., & Salazar, R. (2009). Tratamiento de aguas residuales textiles mediante un biorreactor de membrana. *Artículo de Ingeniería y Desarrollo*, 84-108.
- Sánchez, Y., Sánchez, J., Vázquez, R., & Andrade, R. (2011). Producción y caracterización de la fenol oxidasa de *Scytalidium thermophilum*. *Revista Mexicana de Micología*, 32-41.
- Schmidt, O., Schmitt, U., Moreth, U., & Potsch, T. (1997). Wood decay by the white-rotting basidiomycete *Physisporinus vitreus* from a cooling tower. *Holzforchung*, 193-200.
- Sharma, D., Sharma, B., & Shukla, A. (2011). Biotechnological approach of microbial lipase: a review. *Biotechnology*, 10(1), 23-40.
- Shende, R., & Mahajani, V. (2002). Wet oxidative regeneration of activated carbon loaded with reactive dye. *Waste Management*, 73-83.
- Shitrata. (1996). *Colorantes Naturales, México DF*. Obtenido de Biblioteca Nacional de Antropología e Historia.

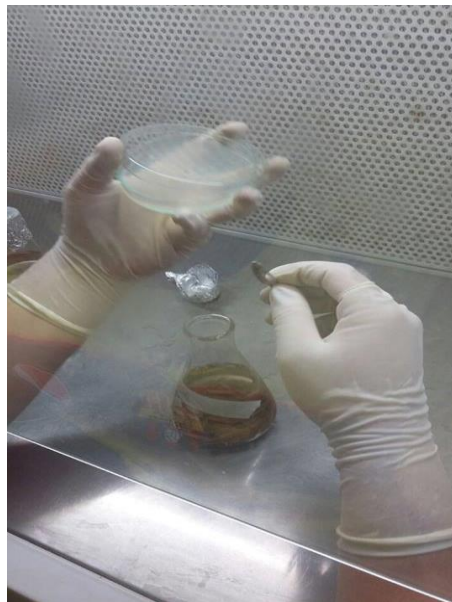
- Shrivastava, Modi, & Vyas. (2004). Physiology and Biochemistry of lignin degradation by white-rot fungi. *Journal of Tissue Research*, 164-178.
- Singh., H. (2010). Fungal Bioremediation. *Mycoremediation* , 509.
- Sosa, Feldman, Podestá, & Permingeat. (2014). *Estudio de enzimas ligninolíticas de hongos basidiomicetes para su utilización en la producción de bioetanol de segunda generación en la provincia de Santa Fe*. Obtenido de Artículos Ciencias Agrarias de la UNR.
- Standardcon. (2015). *Types of Textile Dyes*. Obtenido de <http://dyes-pigments.standardcon.com/textile-dyes.html>
- Statista. (2016). *Value of the leading 15 textile exporters worldwide in 2014, by country (in billion U.S. dollars)*. Obtenido de The Statics Portal: <https://www.statista.com/statistics/236397/value-of-the-leading-global-textile-exporters-by-country/>
- Tekade, Mohabansi, & Patil. (2011). *STUDY OF PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF EFFLUENTS FROM SOAP INDUSTRY IN WARDHA* . Recuperado el 6 de Julio de 2016, de Department of Chemistry, Jankidevi Bajaj: <http://www.rasayanjournal.co.in/vol-4/issue-2/36.pdf>
- Tepper, R. (2003). *Fermentación en Estado Sólido para producción de complejos enzimáticos*. Recuperado el 10 de Julio de 2016, de <http://www.infopork.com/posts/6232/fermentaci-n-en-estado-s-lido-para-producci-n-de-complejos-enzim-ticos/>
- UNAD. (2011). *Condiciones para lograr una fermentación óptima*. Recuperado el 28 de Julio de 2016, de Universidad Nacional Abierta y a Distancia de Colombia: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/306598/contLinea/leccion\\_4\\_condiciones\\_para\\_lograr\\_una\\_fermentacin\\_ptima.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/306598/contLinea/leccion_4_condiciones_para_lograr_una_fermentacin_ptima.html)
- UNAM. (2006). *Biorremediación: organismos que limpian el ambiente* . Recuperado el 5 de Julio de 2016, de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/IQM\\_fitorremediacion\\_biotec\\_\\_25656.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/IQM_fitorremediacion_biotec__25656.pdf)
- Vaca, M. (2011). *Estudios cinético de la obtención de extractos enzimáticos con actividad celulolítica y ligninolítica a partir del hongo pleourotus Ostreatus 404 y 2171 en rastrojo de maíz*. Obtenido de Repositorio de la Escuela Politécnica Nacional.

- Vermelho, A., Supuran, C., & Guisan, J. (5 de Enero de 2012). *Microbial Enzyme: Applications in Industry and in Bioremediation*. Recuperado el 5 de Julio de 2016, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3310065/>
- Vilaseca, M., López-Grimau, V., & Carmen Gutiérrez-Bouzán, M. C. (2012). *MÉTODOS DE ELIMINACIÓN DEL COLOR EN EFLUENTES DE TINTURA TEXTIL*. Obtenido de INTEXTER de la Universitat Politècnica de Catalunya : <http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/28332/Vilaseca,+Merc%E8.+M%E9todos+de+eliminaci%F3n+del+color+en+efluentes+de+tintura+textil.pdf;jsessionid=0329D9A6C1503C321AB0FCA2E0A29D1D?sequence=3>
- Waites, M. J., Morgan, N. L., Rockey, J. S., & Higton, G. (2001). *Industrial Microbiology: An Introduction*. Londres: Blakcwell Science.
- Williams, J. (2002). *Keys to bioreactor selections*. Recuperado el 12 de Julio de 2016, de Environmental & Production Solutions, LLC: <http://people.clarkson.edu/~wwilcox/Design/reactbio.pdf>
- Winn, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., & Allen, S. (2008). *Koneman Diagnóstico microbiológico*. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana.
- Yaovapa, T. T., Savitr, Napavam, Moriya, & Toshiaki. (2005). Symbiotico Fungi Produce Laccases Pontentially Involved in Phenol Degradation in Fungus Combs of Fungus-Growing Termites in Thailand. *Environmental Molecular Biology Laboratory RIKEN*.
- Zaharia, C., & Suteu, D. (2014). Textile Organic Dyes – Characteristics, Polluting Effects and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents – A Critical Overview. *‘Gheorghe Asachi’ Technical University of Iasi*.
- Zahrim, A., Tizaoui, C., & Hilal., N. (2010). Evaluation of several comercial synthetic polymers as flocculant aids for removal of highly concentrated C.I. Acid Black 210 dye. *J Hazard Mater.*, 624-630.

**Anexos**  
**Anexo 1. Experimento 1**



*Medios preparados para la fermentación*



*Inoculación del microorganismo al medio fermentativo*



*Primera filtración*



*Filtración al vacío*



*Centrifugación*



*Extracto enzimático*



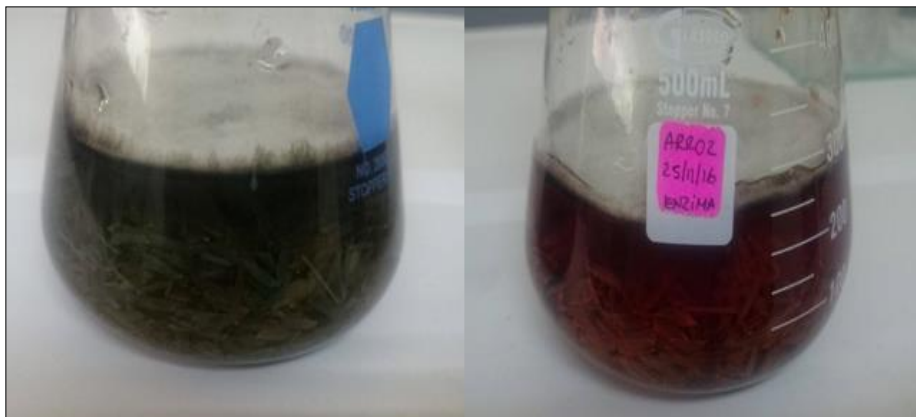
*Medición mediante Espectrofotetría UV visible – 60S*



## Anexo 2. Experimento 3



*Incremento de biomasa con bagazo de caña en presencia de los colorantes*



*Incremento de biomasa con cascarilla de arroz en presencia de los colorantes*

### Anexo 3. Experimentación 4



*Matraces inoculados para a fermentación*



*Incubación de las unidades experimentales*

## Anexo 4. Ficha Técnica



### Product Information

## DRIMAREN<sup>®</sup> Blue CL-BR p

Drimaren Blue<sup>®</sup> CL-BR p is a reactive dye for dyeing cellulosic fibers by the exhaust process to dye brilliant royal blues as self-shades.

The features of Drimaren<sup>®</sup> Blue CL-BR p are:

- Good washing off
- High fastness level
- AOX and metal free

Properties:

- Brilliant reddish blue for royal blues
- Metal free ternary combination element with high light fastness
- The preferred dyeing procedure is 40 / 60°C
- Only moderate coverage of dead cotton

[www.textiles.clariant.com](http://www.textiles.clariant.com)

Clariant International Ltd  
Rothausstrasse 61  
4132 Muttenz  
Switzerland

Business Unit Textile Chemicals  
The Synergy  
1 International Business Park  
609917 Singapore  
Singapore

This information corresponds to the present state of our knowledge and is intended as a general description of our products and their possible applications. Clariant makes no warranties, express or implied, as to the information's accuracy, adequacy, sufficiency or freedom from defect and assumes no liability in connection with any use of this information. Any user of this product is responsible for determining the suitability of Clariant's products for its particular application. \* Nothing included in this information waives any of Clariant's General Terms and Conditions of Sale, which control unless it agrees otherwise in writing. Any existing intellectual/industrial property rights must be observed. Due to possible changes in our products and applicable national and international regulations and laws, the status of our products could change. Material Safety Data Sheets providing safety precautions, that should be observed when handling or storing Clariant products, are available upon request and are provided in compliance with applicable law. You should obtain and review the applicable Material Safety Data Sheet information before handling any of these products. For additional information, please contact Clariant.

\* For sales to customers located within the United States and Canada the following applies in addition: NO EXPRESS OR IMPLIED WARRANTY IS MADE OF THE MERCHANTABILITY, SUITABILITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE OR OTHERWISE OF ANY PRODUCT OR SERVICE.

© Product and service marks protected by Clariant in many countries  
© 2011 Clariant International Ltd, Rothausstrasse 61, 4132 Muttenz, Switzerland



### Información del Colorante Azul Reactivo 19

## Anexo 5. Ficha Técnica



### Product Information

## DRIMAREN<sup>®</sup> Red CL-5B p

Drimaren<sup>®</sup> Red CL-5B p is a reactive dye for dyeing cellulosic fibers by exhaust and continuous processes.

The features of Drimaren<sup>®</sup> Red CL-5B p are:

- Good washing off
- AOX and metal free
- High fastness level
- High process reliability in terms of salt, liquor ratio, temperature and time dependency
- Good reproducibility and efficiency

Properties:

- Ternary combination element with Drimaren<sup>®</sup> Yellow CL-2R gr, Drimaren<sup>®</sup> Blue HF-RL cde and Drimaren<sup>®</sup> Navy CL-R p or Drimaren<sup>®</sup> Navy HF-GN gr
- Dyes dead cotton slightly paler

[www.textiles.clariant.com](http://www.textiles.clariant.com)

Clariant International Ltd  
Rothausstrasse 61  
4132 Muttenz  
Switzerland

Business Unit Textile Chemicals  
The Synergy  
1 International Business Park  
609917 Singapore  
Singapore

This information corresponds to the present state of our knowledge and is intended as a general description of our products and their possible applications. Clariant makes no warranties, express or implied, as to the information's accuracy, adequacy, sufficiency or freedom from defect and assumes no liability in connection with any use of this information. Any user of this product is responsible for determining the suitability of Clariant's products for its particular application. \* Nothing included in this information waives any of Clariant's General Terms and Conditions of Sale, which control unless it agrees otherwise in writing. Any existing intellectual/industrial property rights must be observed. Due to possible changes in our products and applicable national and international regulations and laws, the status of our products could change. Material Safety Data Sheets providing safety precautions, that should be observed when handling or storing Clariant products, are available upon request and are provided in compliance with applicable law. You should obtain and review the applicable Material Safety Data Sheet information before handling any of these products. For additional information, please contact Clariant.

\* For sales to customers located within the United States and Canada the following applies in addition: NO EXPRESS OR IMPLIED WARRANTY IS MADE OF THE MERCHANTABILITY, SUITABILITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE OR OTHERWISE OF ANY PRODUCT OR SERVICE.

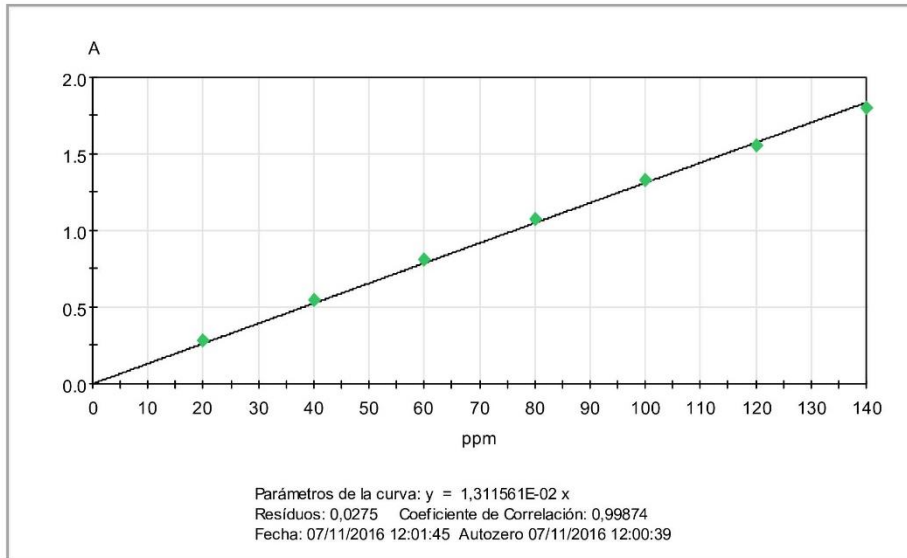
© Product and service marks protected by Clariant in many countries

© 2011 Clariant International Ltd, Rothausstrasse 61, 4132 Muttenz, Switzerland

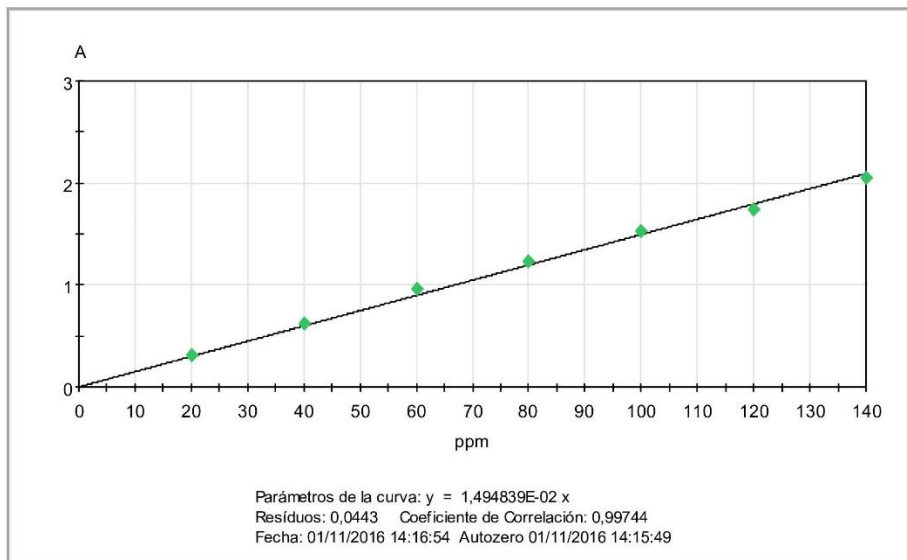


### Información del colorante Rojo Reactivo 195

## Anexo 6. Rectas de Calibrados



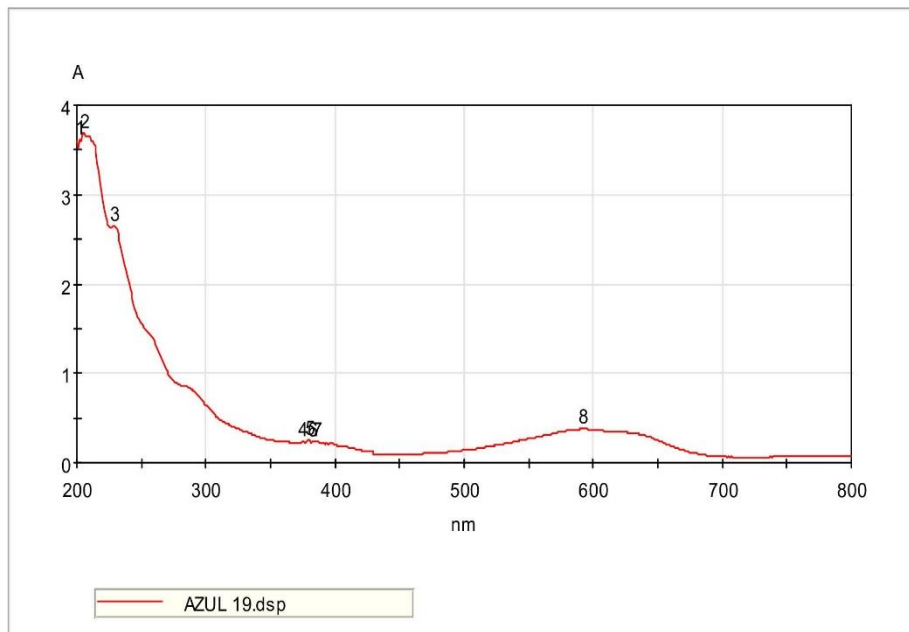
Recta de calibrado del colorante Azul Reactivo 19



Recta de calibrado del colorante Rojo Reactivo 195

## Anexo 7. Espectros de los colorantes

Espectro : AZUL 19.dsp  
Descripción:  
Operario: Usuario-PC\Usuario  
Creado: 17/01/2017 12:10:28  
Espectrofotómetro: Evolution 60S  
Número de serie: 2R1R020104  
Firmware: 4.004  
Lin. Base: 17/01/2017 12:10:15



AZUL 19.dsp

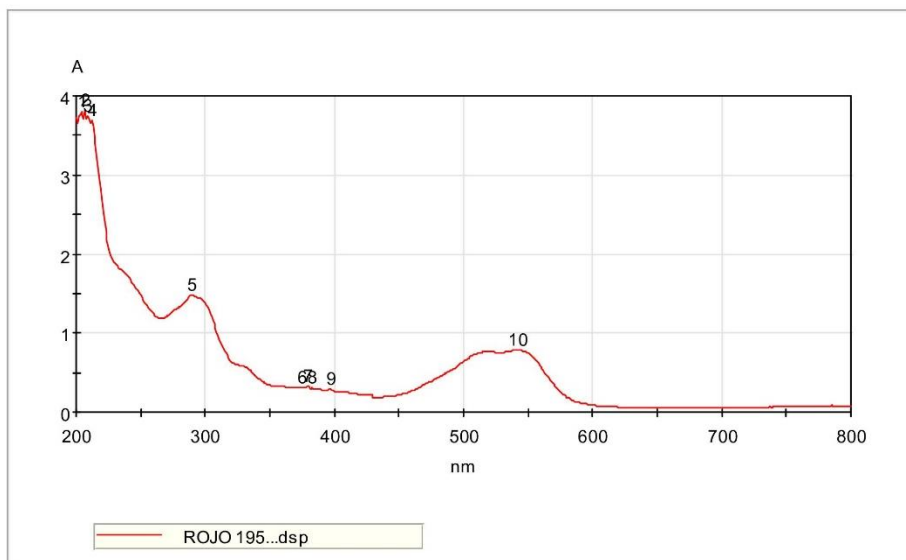
Picos Umbral: 0,01 A

1 202 nm;	3,618 A	2 206 nm;	3,691 A	3 229 nm;	2,644 A
4 375 nm;	0,239 A	5 380 nm;	0,261 A	6 383 nm;	0,243 A
7 386 nm;	0,244 A	8 592 nm;	0,377 A		

Espectro realizado al colorante Azul Reactivo 19



Espectro : ROJO 195...dsp  
 Descripción:  
 Operario: Usuario-PC\Usuario  
 Creado: 17/01/2017 12:16:33  
 Espectrofotómetro: Evolution 60S  
 Número de serie: 2R1R020104  
 Firmware: 4.004  
 Lin. Base: 17/01/2017 12:10:15



ROJO 195...dsp

Picos	Umbral: 0,01 A
1 204 nm;	3,791 A
4 212 nm;	3,697 A
7 379 nm;	0,329 A
10 543 nm;	0,783 A
2 207 nm;	3,814 A
5 289 nm;	1,482 A
8 383 nm;	0,307 A
3 209 nm;	3,739 A
6 375 nm;	0,318 A
9 397 nm;	0,289 A

Espectro realizado al colorante Rojo Reactivo 195

**Anexo 8.** Límites de descarga de efluentes de acuerdo al TULSMA Libro VI

Límites de descarga al sistema de alcantarillado público

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	100
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Acidos o bases que puedan causar contaminación, sustancias explosivas o inflamables.		mg/l	Cero
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Carbonatos	CO <sub>3</sub>	mg/l	0,1
Caudal máximo		l/s	1.5 veces el caudal promedio horario del sistema de alcantarillado.
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/l	1,0
Cobalto total	Co	mg/l	0,5
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo (ECC)	mg/l	0,1



Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cromo Hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg/l	0,5
Compuestos fenólicos	Expresado como fenol	mg/l	0,2
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O <sub>5</sub> .	mg/l	250
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	500
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg/l	1,0
Fósforo Total	P	mg/l	15
Hierro total	Fe	mg/l	25,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	20
Manganeso total	Mn	mg/l	10,0
Materia flotante	Visible		Ausencia
Mercurio (total)	Hg	mg/l	0,01
Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/l	40
Plata	Ag	mg/l	0,5
Plomo	Pb	mg/l	0,5
Potencial de hidrógeno	pH		5-9
Sólidos Sedimentables		ml/l	20
Sólidos Suspendidos Totales		mg/l	220
Sólidos totales		mg/l	1 600
Selenio	Se	mg/l	0,5
Sulfatos	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	mg/l	400
Sulfuros	S	mg/l	1,0

Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y Grasas.	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Aldehídos		mg/l	2,0
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	2,0
Boro total	B	mg/l	2,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/l	0,1
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo ECC	mg/l	0,1
Cloruros	Cl <sup>-</sup>	mg/l	1 000
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes Fecales	Nmp/100 ml		Remoción > al 99,9 %
Color real	Color real	unidades de color	* Inapreciable en dilución: 1/20
Compuestos fenólicos	Fenol	mg/l	0,2
Cromo hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg/l	0,5

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O <sub>5</sub> .	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	250
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg/l	1,0
Estaño	Sn	mg/l	5,0
Fluoruros	F	mg/l	5,0
Fósforo Total	P	mg/l	10
Hierro total	Fe	mg/l	10,0
Hidrocarburos	TPH	mg/l	20,0
Totales de Petróleo			
Manganeso total	Mn	mg/l	2,0
Materia flotante	Visibles		Ausencia
Mercurio total	Hg	mg/l	0,005
Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitratos + Nitritos	Expresado como Nitrógeno (N)	mg/l	10,0

Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/l	15
Organoclorados totales	Concentración de organoclorados totales	mg/l	0,05
Organofosforados totales	Concentración de organofosforados totales.	mg/l	0,1
Plata	Ag	mg/l	0,1
Plomo	Pb	mg/l	0,2
Potencial de hidrógeno	pH		5-9
Selenio	Se	mg/l	0,1
Sólidos Sedimentables		ml/l	1,0
Sólidos Suspendidos Totales		mg/l	100
Sólidos totales		mg/l	1 600
Sulfatos	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	mg/l	1000
Sulfitos	SO <sub>3</sub>	mg/l	2,0
Sulfuros	S	mg/l	0,5

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Temperatura	°C		< 35
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	0,5
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg/l	1,0
Tricloroetileno	Tricloroetileno	mg/l	1,0
Vanadio		mg/l	5,0
Zinc	Zn	mg/l	5,0

Límites de descarga a un cuerpo de agua marina

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y Grasas		mg/l	0,3
Arsénico total	As	mg/l	0,5
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Bario	Ba	mg/l	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,2
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/l	0,2
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes Fecales	nmp/100 ml		<sup>88</sup> Remoción > al 99,9 %
Color real	Color real	unidades de color	* Inapreciable en dilución: 1/20
Cromo hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg/l	0,5
Compuestos fenólicos	Expresado como fenol	mg/l	0,2
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O <sub>5</sub> .	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	250
Fósforo Total	P	mg/l	10

<sup>88</sup> Aquellos regulados con descargas de coliformes fecales menores o iguales a 3 000 quedan exentos de tratamiento

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Fluoruros	F	mg/l	5,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo.	TPH	mg/l	20,0
Materia flotante	Visibles		Ausencia
Mercurio total	Hg	mg/l	0,01
Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitrógeno Total kjedahl	N	mg/l	40
Plata	Ag	mg/l	0,1
Plomo	Pb	mg/l	0,5
Potencial de hidrógeno	pH		6-9
Selenio	Se	mg/l	0,2
Sólidos Suspendidos Totales		mg/l	100
Sulfuros	S	mg/l	0,5
Organoclorados totales	Concentración de organoclorados totales	mg/l	0,05

Límites de descarga a un cuerpo de agua marina

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Organofosforados totales	Concentración de organofosforados totales	mg/l	0,1
Carbamatos totales	Concentración de carbamatos totales	mg/l	0,25
Temperatura	°C		< 35
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	0,5
Zinc	Zn	mg/l	10