



## Inmovilización de Hongos Productores de Lacasas para la Bioremediación de Colorantes Textiles

Laura Lizeth Vázquez Jaime<sup>1</sup> y Divanery Rodríguez Gómez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Coordinación de Ingeniería Bioquímica, lauravazqz@hotmail.com

<sup>2</sup>Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Coordinación de Ingeniería Bioquímica, divanery.rodriguez@itesi.edu.mx

### Resumen

La inmovilización de microorganismos es un proceso que resulta beneficioso para la reutilización y aprovechamiento de su mecanismo enzimático, ya que confina a la biomasa en un área determinada sobre un material (soporte); sin dañar o impedir el metabolismo de esta, con la finalidad de que pueda ser recuperada y posteriormente reutilizada una vez concluido el proceso para el cual ha sido destinada. Una de las ventajas que provee esta técnica es la utilización de la actividad catalítica de los microorganismos como agentes para la bioremediación de sitios contaminados. Este trabajo tiene como finalidad encontrar el mejor soporte para la inmovilización de hongos productores de lacasas y que a su vez propicie la degradación de colorantes textiles, para evaluar esta hipótesis se seleccionaron las cepas 43 (*Trametes spp.*) y 38POT (*Pleurotus ostreatus*) del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana (LDIM) en el Instituto Tecnológico Superior de Irapuato; las cuales según estudios previos (Martínez et al, 2017) presentaron altos porcentajes de actividad lacasa, que fueron inmovilizadas sobre un soporte sintético y un soporte orgánico y posteriormente expuestas a una concentración de colorante textil. Se demostró que ambas cepas colonizaron los dos diferentes soportes, siendo mayor el crecimiento en el soporte



orgánico; así mismo este resulta ser un mayor adsorbente del colorante y a su vez potencializa su degradación, ya que se obtuvieron porcentajes de degradación superiores (90%) en comparación con el soporte sintético (85%). Además, la degradación resulta ser más rápida cuando la biomasa se encuentra inmovilizada puesto que se da en un tiempo de 3 días, mientras que los hongos que no se encuentran inmovilizados tardan aproximadamente 20 días. Los resultados sugieren que estos hongos pueden ser de interés para su uso posterior en el tratamiento de aguas residuales provenientes de industrias textiles.

### **Objetivo general**

Inmovilizar los hongos productores de lacasas en diversos soportes e incrementar la remoción de colorantes textiles en agua respecto a los no inmovilizados.

### **Objetivos específicos**

1. Seleccionar los hongos productores de lacasas de manera cualitativa.
2. Inmovilizar los hongos en medios inertes y/o residuos agroindustriales.
3. Evaluar la capacidad de remoción de colorantes textiles.

### **Justificación**

Los colorantes artificiales provenientes de industrias textiles están clasificados como compuestos xenobióticos, lo cual hace referencia a su dificultad para ser degradados, al ser recalcitrantes y muy estables su periodo de permanencia en el ecosistema es largo, además de que presentan actividad biológica al interactuar con otros componentes; convirtiéndose en una amenaza para el ambiente y la salud pública. En un medio líquido la complejidad para degradar estos contaminantes aumenta por lo cual una de las estrategias en el tratamiento de efluentes industriales ha sido la retención de los contaminantes mediante el uso de materiales inertes como agentes de retención, para su posterior tratamiento de una forma más sencilla, eficiente y menos costosa. Los residuos agroindustriales



presentan una alta porosidad, la cual les confiere propiedades adsorbentes, además de su bajo costo y gran accesibilidad, por esta razón dichos materiales representan una alternativa interesante para su utilización dentro de los sistemas de filtrado en el tratamiento de aguas residuales; además de que estos materiales pueden ser empleados como soportes para el crecimiento de biomasa en donde posteriormente el contaminante podría ser biodegradado.

## Metodología

Se sembraron las cepas 43 y 38 POT provenientes de la colección LDIM en medio agar papa dextrosa (PDA) con incubación de 7 días a temperatura ambiente (28-30°C) para su reactivación y se realizó observación macroscópica para constatar que eran cultivos axénicos. Se adicionaron 30 ml de solución de colorante textil 604- Rojo escarlata de la marca Mariposa® (500, 1000 y 1500 ppm) que contenía además Extracto de Malta (2 g/L) en tubos Falcon de 50 ml y posteriormente se inocularon con dos círculos de micelio con diámetro de 9mm de las cepas crecidas en PDA, pasados 20 días de incubación a 30°C y 130 rpm, se tomaron muestras del sobrenadante.

Para realizar la inmovilización se cortaron cubos de aproximadamente 1  $cm^3$  de los dos tipos de soportes, se colocaron 0.5g de soporte sintético y 1.5g de soporte orgánico (la relación está dada de acuerdo al área que ocupaba cada uno de los soportes) por separado en matraces Erlenmeyer de 125ml y finalmente se esterilizaron en autoclave, ambos tratamientos se realizaron por triplicado. Posteriormente a cada uno de los soportes se le adicionó medio líquido con extracto de malta de acuerdo a la siguiente formulación (g/L): Extracto de Malta, 2;  $(NH_4)SO_4$ , 3.5;  $K_2HPO_4$ , 3;  $MgSO_4$ , 0.5;  $CaCl_2$ , 0.5;  $MnSO_4$  0.5; para el caso del soporte sintético se adicionaron 10 ml de medio por cada gramo de soporte y para el soporte orgánico fueron 20ml de medio por gramo, cada uno de los tratamientos se inoculó con 4 círculos de micelio (9mm) de cada una de las cepas crecidas en medio PDA y se incubaron a temperatura ambiente durante 20 días. Una vez que las cepas colonizaron los soportes se trasladaron a frascos de vidrio estériles con capacidad de entre 250 y 300ml, acumulando los tres tratamientos de cada una de



las cepas con su respectivo soporte y se adicionaron 100ml de una solución de colorante textil 604- Rojo escarlata de la marca Mariposa® a una concentración de 1500ppm, con una recirculación cada 24 horas de la misma solución, se tomaron muestras de cada recirculación. Todas las muestras del sobrenadante tanto con biomasa inmovilizada como no inmovilizada se analizaron por espectrofotometría (Thermo scientific) para calcular el porcentaje de degradación con base en la ecuación de la recta de una curva de calibración del colorante realizada a 540 nm, para la cual previamente se realizó un barrido de longitud de onda de dicho compuesto.

## Resultados

En la figura 1 se muestra el crecimiento de las cepas 43 (derecha) y 38POT (izquierda), en el cual se observa que dichos microorganismos no presentaron ninguna contaminación.

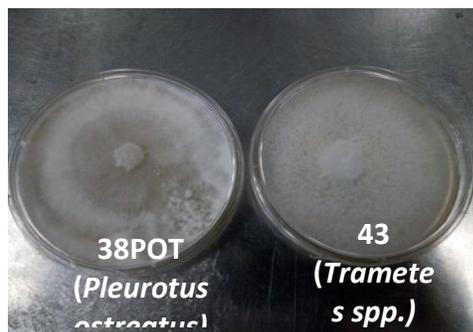
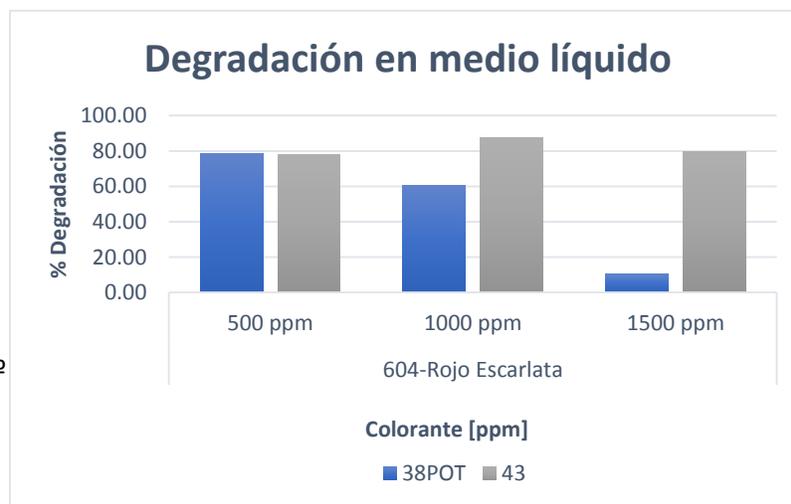


Figura 1. Crecimiento de las cepas en medio PDA después de 7 días de incubación.

Para el caso de la degradación en medio líquido con biomasa no inmovilizada se pueden observar en la figura 2 los porcentajes de remoción a distintas concentraciones de colorante alcanzados por cada una de las cepas.



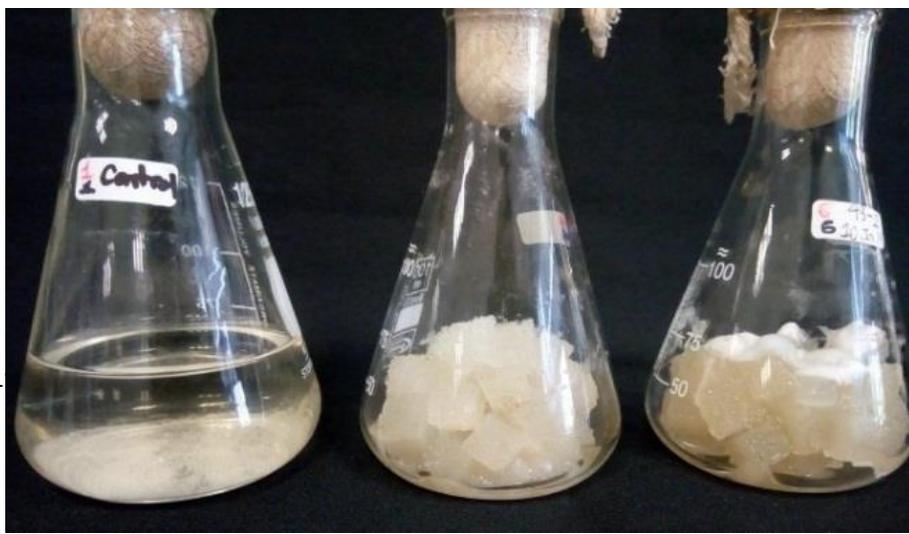


**Figura 2.** Porcentajes de degradación obtenidos después de 20 días de incubación.

Constatando las observaciones anteriores, de acuerdo a los porcentajes de degradación obtenidos se muestra que ambas cepas lograron degradar tanto el colorante a las diferentes concentraciones expuestas, difiriendo en cada una la efectividad en la degradación, por lo cual se eligió trabajar a la mayor concentración (1500 ppm) los experimentos de degradación en medio líquido con biomasa inmovilizada, para ésta misma solución la cepa 43 mostró una mayor eficacia de degradación con un valor estimado del 80%.

La efectividad de la degradación que mostró cada una de las cepas podría estar relacionada a la actividad enzimática que presentan, sin embargo para constatar este razonamiento se necesitan realizar pruebas específicas para la cuantificación de dicha actividad.

Durante los experimentos de inmovilización ambas cepas mostraron crecimiento tanto en el soporte sintético (figura 3) como en el soporte orgánico (figura 4), siendo más notable la colonización en este último. Sin embargo, la cepa 43 mostró crecimiento más rápido en ambos soportes, para el caso del soporte sintético con tan solo 3 días de incubación y en el soporte orgánico después de 1 día, en comparación con 38POT que comenzó la colonización hasta el día 5 y 2 respectivamente para cada soporte.



Contro 38POT 43

Figura 3. Inmovilización de cepas en soporte sintético con 20 días de incubación.

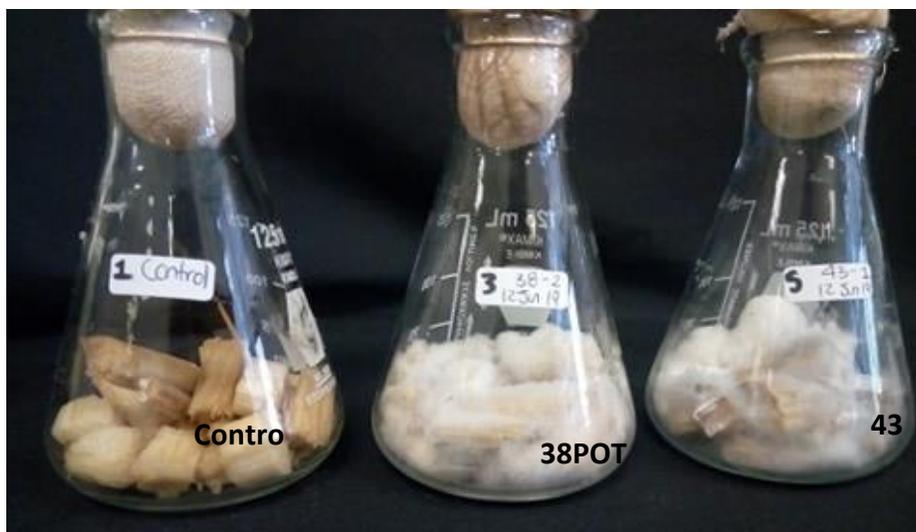
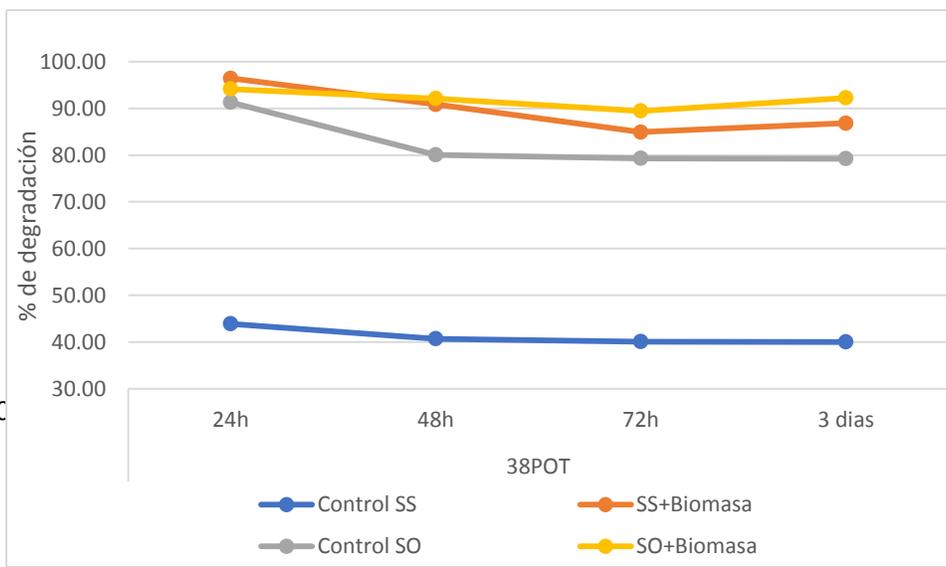


Figura 4. Inmovilización de cepas en soporte orgánico con 20 días de incubación.

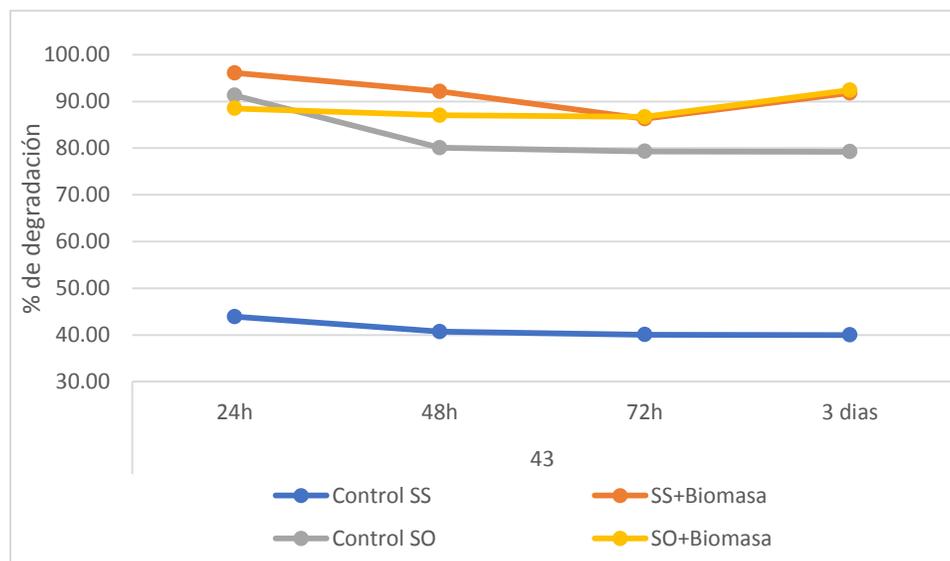
En el caso de los experimentos de remoción de colorante con las cepas inmovilizadas como se observa en la figura 5 la cepa 38POT a las 72 h superó el 80% de degradación al estar inmovilizada en el soporte sintético y en el soporte orgánico alcanzó casi el 90%, posteriormente a los 3 días sin recircular nuevamente solución de colorante la degradación se vio beneficiada en ambos casos con porcentajes superiores a 80 y 90% respectivamente.





**Figura 5.** Degradación de colorante obtenida con la cepa 38POT inmovilizada (SS: soporte sintético y SO: soporte orgánico).

Por otro lado 43 (figura 6) logró porcentajes similares en ambos soportes aún después de 3 recirculaciones con casi 90% de remoción, superando este valor después de 3 días sin recirculación. Para ambos casos, tanto la cepa 38POT como 43 superaron el porcentaje de retención que presentaron los soportes por separado y sin biomasa, por lo cual presumiblemente podríamos deducir que el colorante no solo queda adsorbido en los soportes sino que está ocurriendo una degradación.



**Figura 6.** Degradación de colorante obtenida con la cepa 43 inmovilizada (SS: soporte sintético y SO: soporte orgánico).

## Conclusiones

Las cepas que no se encuentran inmovilizadas no solo logran tolerar concentraciones altas de colorante sino que también son capaces de degradarlas. El crecimiento de las cepas inmovilizadas se ve beneficiado debido a que utilizan



el soporte orgánico como sustrato y este potencializa la colonización, por el contrario, el soporte sintético, al ser un material inerte, únicamente proporciona sustento para retener a la biomasa. Tanto el soporte sintético como el soporte orgánico por si solos son capaces de adsorber el colorante, sin embargo al estar unidos a la biomasa no solo lo retienen sino que también lo degradan, además de que al ser inmovilizadas; las cepas aceleran la degradación, puesto que en las cepas no inmovilizadas el porcentaje máximo de remoción alcanzado fue de casi 80% después de 20 días de incubación, en cambio una vez que se encuentran unidas a un soporte estas superan dicho porcentaje en tan solo 3 días.

## Referencias

Dávila Gustavo y Vázquez Rafael. (2006). “*Enzimas Ligninolíticas Fúngicas Para Fines Ambientales*” en *Mensaje Bioquímico*, No. 30, pp. 29-55.

Martínez G, Martínez L, et al. (2017). “*Evaluación Cualitativa De La Producción De Lacasas Y Peroxidasas En Cepas De Hongos Aislados De Suelo De Diferentes Ambientes*” en *Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*, Vol XVII, Junio.

Murcia M.D., Gómez M., Ortega S., Hidalgo A.M., Gómez E., Gómez J.L. (2014). “*Degradación De Rojo Congo En Un Fotorreactor Tubular De Tecnología Excimer*”. Estudio Cinético.

Wingard, L.B. (1972) *Enzyme Engineering, Interscience Publishers, New York. Inmovilización De Enzimas: Fundamentos, Métodos Y Aplicaciones.*