Biodegradación del colorante textil A19 con *Pleurotus djamor*, en un sistema de columnas empacadas

Cindy Yaritza Wittong-Zambrano[1], Gabriel Alfonso Burgos-Briones[1], Ernesto Alonso Rosero-Delgado[1] y Julio César Dustet-Mendoza[2]
1. Universidad Técnica de Manabí. Maestría en Ingeniería Química. Portoviejo, Ecuador.
* cwittong7036@utm.edu.ec
2. Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría. Avenida 114 # 11901 entre Ciclovía y Rotonda, Marianao. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Los hongos de podredumbre blanca de la madera tienen la capacidad de producir un sistema enzimático con actividad oxidativa contra una amplia variedad de sustancias tóxicas recalcitrantes que contaminan suelos y cuerpos de agua. El objetivo del trabajo fue demostrar la efectividad de la cepa Pd318 de *Pleurotus djamor* para la degradación de un colorante textil, durante el crecimiento en un sistema de columnas de FES empacadas con bagazo de caña de azúcar. Mediante un sistema continuo se evaluó la biodegradación del colorante textil azul 19 (A19). Se determinó la generación de dióxido de carbono durante 27 días de fermentación, a partir de la cual se calculó y modeló la cinética de crecimiento del hongo mediante los modelos logísticos y de Gompertz, para estimar los parámetros cinéticos. El sistema de columnas de FES permitió alcanzar un 46 % ± 0.5 % de biodegradación del colorante A19 con la cepa Pd318, con la utilización de un flujo de aire de 5.6 vvm y una densidad de empaque (ρ_s) de 367.8 kg Mss/m^3. Se obtuvo el mejor ajuste del crecimiento de la cepa Pd318 con el modelo logístico modificado (R^2 = 0.987), la velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}) fue de 0.0832 h^{-1}, con una fase latencia (λ) de 12.7 días y una cantidad máxima de biomasa (A) de 0.956 gramos. Los resultados de biodegradación muestran que el sistema de columnas empacadas FES brinda una alternativa efectiva para la eliminación de colorantes de tipo antraquinona como el A19, presentes en aguas residuales industriales. El modelo logístico modificado logra definir el crecimiento de la cepa Pd318 de manera adecuada.
Palabras clave: *Pleurotus djamor*, fermentación en estado sólido, colorantes industriales, cinética de crecimiento.

ABSTRACT

White rot fungi in wood have the ability to produce an enzyme system with oxidative activity against a wide variety of recalcitrant toxic substances which contaminate soils and bodies of water. The objective of this work was to demonstrate the effectiveness of the *Pleurotus djamor* strain Pd318 for the degradation of a textile dye during growth in a system of FES columns packed with sugarcane bagasse. Biodegradation of blue 19 (A19) textile dye was evaluated using a continuous system. The generation of carbon dioxide was determined during 27 days of fermentation, from which the growth kinetics of the fungus was calculated and modeled using the logistic and Gompertz models to estimate the kinetic parameters. The FES column system allowed achieving 46 % ± 0.5 % biodegradation of the A19 dye with the Pd318 strain, using airflow of 5.6 vvm and a packing density (ρs) of 367.8 kg MSS/m^3. The best growth fit of the Pd318 strain was obtained with the modified logistic model (R2 = 0.987), the maximum specific growth rate (μmax) was 0.0832 h^{-1}, with a latency phase (λ) of 12.7 days and a maximum amount of biomass (A) of 0.956 grams. The biodegradation results show that the FES packed column system provides an effective alternative for the removal of anthraquinone-type dyes such as A19 present in industrial wastewater. The modified logistic model manages to adequately define the growth of the Pd318 strain.
Key words: *Pleurotus djamor*, solid-state fermentation, industrial dyes, growth kinetics.

INTRODUCCIÓN

Es conocido que los residuos lignocelulósicos presentan una oportunidad si se aprovechan la celulosa, hemicelulosa y lignina, componentes que pueden servir como fuentes de carbono para el crecimiento de biomasa fúngica y la obtención de metabolitos de interés como las enzimas lignolíticas (1) en un sistema de FES. *Pleurotus djamor* (ostra rosada), es un hongo que ha sido reconocido por sus excelentes propiedades medicinales (2), sus contribuciones medioambientales (3) y también nutricionales (4), este es un hongo de pudrición blanca que produce enzimas lignolíticas oxidativas como las lacasas (p-diphenol: dioxygen: oxide-reductase) (5), que tienen la capacidad de reducir el oxígeno molecular a dos moléculas de agua y simultáneamente oxidar una variedad de sustratos aromáticos. La gama de sustratos oxidables es amplia, entre ellos se incluyen pentaclorofenol, 2.6-dimetoxifenol, aminas aromáticas, otros compuestos aromáticos fácilmente oxidables, así como colorantes azoicos (6).

La eliminación de contaminantes con sistemas biológicos (biodegradación) es un proceso en el cual se utiliza la posibilidad de los microrganismos para mineralizar o descomponer materiales contaminantes a dióxido de carbono, metano y agua (7). Esta capacidad se presenta como una potencial alternativa para mitigar el impacto ambiental que ocasionan diversos contaminantes o sustancias tóxicas como los colorantes industriales. En este escenario, se han informado los resultados de la biorremediación de suelos contaminados con compuestos organofosforados (8), la biodegradación de hidrocarburos con la utilización *Aspergillus niger* (9), así como la adsorción de metales pesados presentes en aguas residuales textiles con *Pleurotus ostreatus* (10).

El estudio de la cinética de un proceso de fermentación permite determinar parámetros importantes como la velocidad específica de crecimiento μ, los coeficientes de rendimiento y mantenimiento, así como establecer el tiempo del proceso fermentativo, con los cuales se puede diseñar un biorreactor para FES, la estrategia de operación (11), así como la utilidad del bioproceso; por ejemplo, para fines ambientales. Para describir el comportamiento de la cinética de crecimiento o generación de metabolitos en sistemas de FES, se han utilizado varios modelos matemáticos, entre los que se encuentran el modelo lineal, el exponencial y el logístico (12-14).

En función del objetivo para el cual se diseña el proceso, ya sea para la producción de biomasa celular o el uso de sus cualidades en procesos de biorremediación, es importante conocer la cinética de crecimiento del agente biológico utilizado en el proceso de FES (15) y, sobre todo, el efecto que tienen los parámetros de configuración del proceso FES, como aireación (16, 17), luminosidad y concentración de CO_2 en el sistema (18), densidad de empaque y tamaño de partícula (19, 20) entre otros parámetros sensibles para el proceso de FES. Sin embargo, la información es escasa, lo cual puede deberse principalmente a la complejidad misma del sistema sólido (21) o a la amplia variedad de géneros que conforman los hongos basidiomicetos, que son utilizados generalmente para estos bioprocesos (22).

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto del flujo de aire (vvm) y la densidad de empaque (ρ_s), sobre la degradación del colorante textil azul 19 (A19) con *Pleurotus djamor* Pd318 en un sistema de FES en columnas empacadas con bagazo de caña de azúcar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo fúngico

Se utilizó un hongo de pudrición blanca recolectado en la costa ecuatoriana, del que se obtuvo una cepa que fue codificada como Pd318, perteneciente a la especie *Pleurotus djamor*. Para realizar la identificación molecular de la cepa, se solicitó el servicio a los laboratorios IdGen de Ecuador

y MacroGen de Corea (Certificado BSI ISO 9001:2015). Los cultivos puros se mantuvieron en tubos con agar papa dextrosa (PDA) a 4 °C.

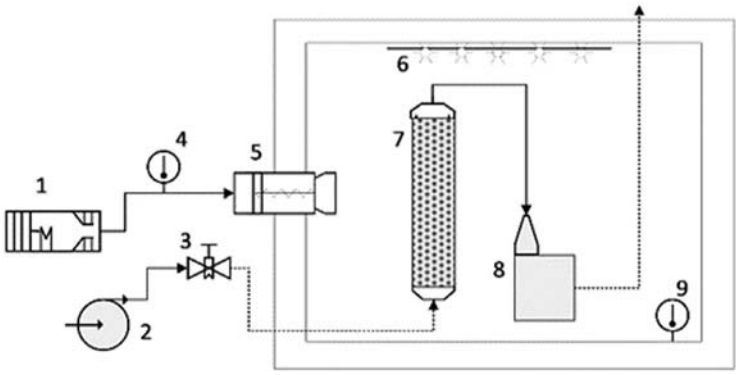
Pretratamiento del sustrato lignocelulósico

El sustrato bagazo de caña fue desinfectado con una solución de hipoclorito de sodio al 10 % (v/v) y se eliminó el exceso de agua en un esterilizador *MEMMERT 53 L SNE-400* a 82 °C, durante 24 horas para, posteriormente, reducir su tamaño de partícula. El medio de cultivo estuvo constituido con un tamaño de partícula de Ø ≤ 20 mm. El sustrato fue enriquecido con una solución de K_2HPO_4 (0.1 g/L), $(NH_4)_2SO_4$ (1.0 g/L) y $C_{12}H_{22}O_{11}$ (4.8 g/L). El pH del medio fue de 6.5 (23).

Fermentación en estado sólido

El proceso se desarrolló en un módulo de fermentación en el cual se establecieron nueve unidades experimentales (UEx), con tres réplicas cada una, para un total de 27, que consistían en columnas plásticas tipo Raimbault (figura 1), con un volumen efectivo de 160 mL. Cada columna fue configurada con diferentes densidades de empaque (ρ_s) que fueron evaluadas, D1=360, D2=440 y D3=520 kg MSS/m^3. Las columnas con los sustratos fueron selladas y esterilizadas a 121 °C y 202.6 kPa durante 15 minutos, en una autoclave *BIOBASE BKQ-B75 II*. Cuando el sustrato alcanzó la temperatura ambiente se realizó la inoculación con un bucle de agar de 1 cm^2, proveniente de placas obtenidas de la cepa en estudio, según lo establecido por Sandhya *et al*. (24).

Durante el tiempo de FES, se mantuvieron constantes la temperatura y la humedad relativa (HR) en 26.5 °C ± 0.5. y 65.0 % ± 5, respectivamente. Además, se evaluó la dosificación de diferentes flujos de aire seco estéril a cada UEx: A1=3.3, A2=6.7 y A3=10 vvm después de la colonización completa de la columna. Las columnas se sometieron a períodos de iluminación de 12 horas, con una intensidad igual a 500 Lux ± 50 (25) a lo largo de 27 días de FES.



1. Sistema de generación de calor (~220v)
2. Nebulizador de aire (10 L min^{-1})
3. Válvula de regulación de aire
4. Termómetro de control
5. Placa de distribución del calor
6. Sistema de iluminación (max 2000Lux)
7. Columna de fermentación sólida (cap. 60g)
8. Trampa de gases
9. Termómetro de control interno
10. Estructura del módulo de fermentación

Figura 1. Esquema del módulo de fermentación utilizado en el proceso.

Ensayos de biodegradación del colorante A19

Finalizado el proceso de colonización del sustrato, (26), se dosificó una solución (matriz acuosa) de colorante A19 (200 ppm) a un flujo de 0.6 L/h a cada columna, durante un tiempo de 30 min. Los cambios en la intensidad del color (absorbancia) fueron evaluados mediante un espectrofotómetro *THERMO SCIENTIFIC – EVOLUTION 60S* a una longitud de onda de 595 nm. Así, los valores de degradación (% D) de la solución fueron calculados a partir de los valores de absorbancia (abs), según la Ec. 1.

$$\% D = \frac{(abs_{inicial} - abs_{final}) - abs_{adsorci\,ón}}{abs_{inicial}} x\ 100 \qquad \text{Ec. 1}$$

Generación de biomasa y formación de CO_2

Cada columna fue conectada a una trampa con hidróxido de potasio (0.5 mol/L), para retener y determinar cada 3 días, mediante titulación (volumetría), los gramos de CO_2 producidos hasta el momento en que fue desconectada. Los gramos de CO_2 producidos en cada columna son referidos a los gramos de sólido seco transformado ($Y_{CO2/S}$) durante el proceso de fermentación (27). La producción de CO_2 fue utilizada para el cálculo de la curva de crecimiento. A partir de los gramos de CO_2 producidos y, en función de la estequiometría de la reacción, se calcularon los gramos formados de biomasa en cada tiempo, según lo establecido por (28-30). Este cálculo se llevó a cabo con las ecuaciones Ec. 2 y Ec. 3, así como los parámetros termodinámicos asociados al sistema detallados en la tabla 1.

Tabla 1. Expresiones matemáticas y coeficientes termodinámicos utilizados en el cálculo de la biomasa generada en el proceso de FES

a) Estimación de la biomasa generada en cada intervalo de tiempo	b) Estimación del coeficiente de rendimiento biomasa-CO_2
$X_t = t_n = X_{t_{n-1}} + \left[Y_{X/CO_2} * \Delta CO_2\right]$ Ec. 2	$Y_{X/CO_2} = \dfrac{\frac{3\eta}{2\sigma_b \gamma_b}}{\dfrac{1.375(1 - \frac{\gamma_s}{\gamma_b}\eta - \varepsilon_p \frac{\gamma_s}{\gamma_b})}{\frac{\gamma_s}{4}}}$ Ec. 3
Pleurotus djamor (Pd318)	σ_b=0.453 γ_b= 4.42
Bagazo de caña de azúcar	σ_b=0.420 γ_b= 4.09

Modelación matemática de la cinética de crecimiento

Para describir la cinética de crecimiento de *Pleurotus djamor* (Pd318) sobre bagazo de caña de azúcar, fueron evaluados los datos experimentales optimizados, mediante los modelos: logístico modificado (31) y De Gompertz modificado (32) (tabla 2). Modelos que han sido utilizados en la descripción del crecimiento de cepas de hongos de pudrición blanca, cuyos sistemas enzimáticos están involucrados en el rompimiento oxidativo de lignina y un gran número de compuestos aromáticos (33-35).

Tabla 2. Modelos matemáticos evaluados

Ecuación	Modelo
$Y = \dfrac{a}{1 + \exp\,[-k * (T - c)]}$	Logístico modificado
$Y = a * \exp[-\exp(k - c * T)]$	De Gompertz modificado

Tratamiento de datos

El ajuste matemático de los modelos para el cálculo de los parámetros cinéticos fue realizado en el software *STATISTICA 12*, se trazaron las curvas de ajuste del crecimiento de la biomasa para am-

bos modelos y se calcularon los parámetros biológicos de crecimiento: velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}), tiempo de latencia (λ) y cantidad de biomasa máxima (A).

Mediante el paquete estadístico *STATGRAPHICS CENTURION XVI* se realizó el análisis de los resultados y la optimización del ensayo de biodegradación por medio de un diseño factorial multinivel 3^2 (Factor A = flujo de aire vvm; Factor B = densidad de empaque ρ_s).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Generación de biomasa y CO_2 durante el proceso FES, en columnas empacadas

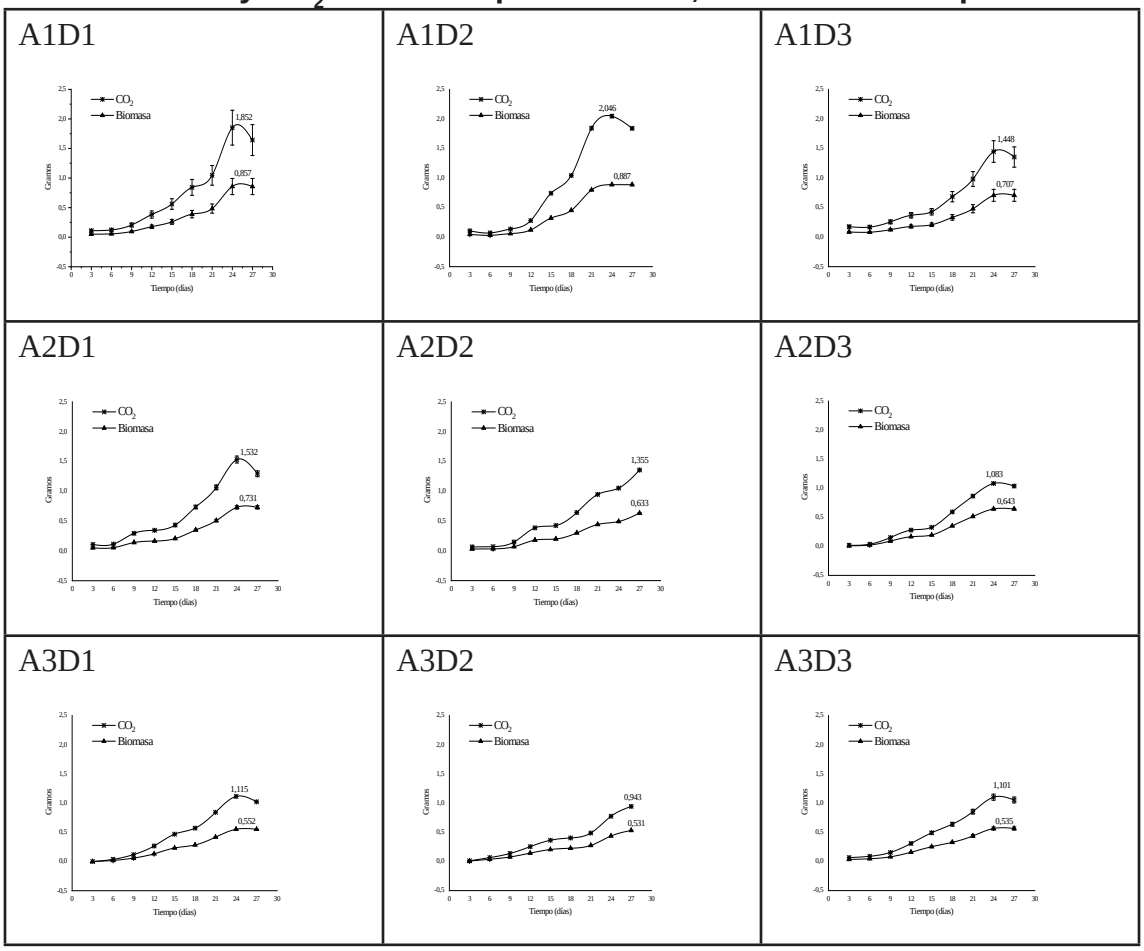


Figura 2. Biomasa y CO_2 generados durante el proceso de FES, a diferentes condiciones de flujo de aire y densidad de empaque (T= 25 °C, Hi= 65 %, Ø ≤ 20 mm).

En la figura 2 se observa que la producción de biomasa presentó un comportamiento similar en todos los casos evaluados, en cada combinación se muestra un crecimiento de biomasa acelerado, a partir de los 15 días de iniciado el proceso, igual a lo observado por Valmaseda *et al.*(36) para hongos de este género; sin embargo, los mayores valores de biomasa alcanzados fueron para las combinaciones con el menor flujo de aire evaluado A1 (vvm=3.3). Se puede observar un efecto importante del flujo de aire ya que a medida que se incrementa, el crecimiento de la biomasa disminuye.

La densidad de empaque también podría representar un parámetro de influencia sobre el crecimiento de biomasa durante el proceso, ya que se observaron considerables diferencias en los valores de biomasa para cada nivel de empaque evaluado (D1=360, D2=440 y D3=520 kg MSS m^3).

Sobre esto Membrillo *et al.* (37) encontraron que, a menores densidades de empaque del medio sólido en la columna de FES, el crecimiento de biomasa y también la generación de CO_2 disminuyeron.

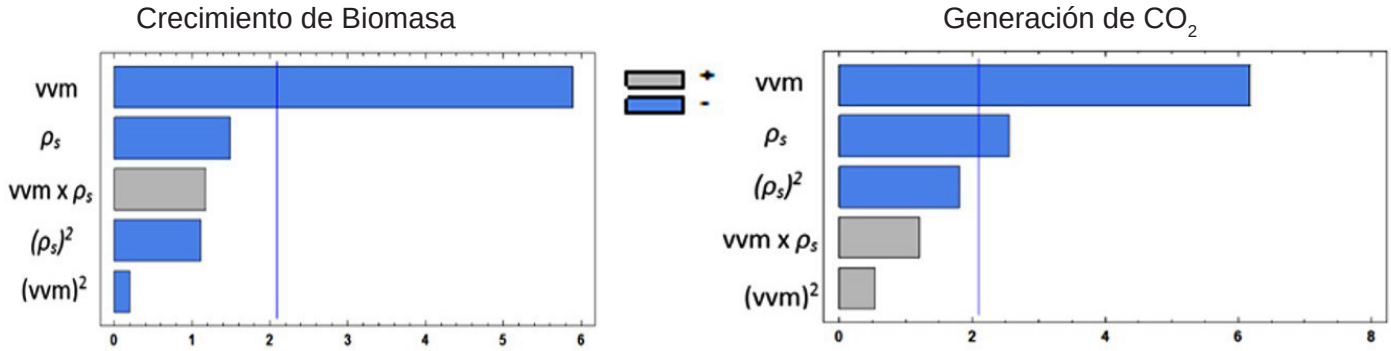


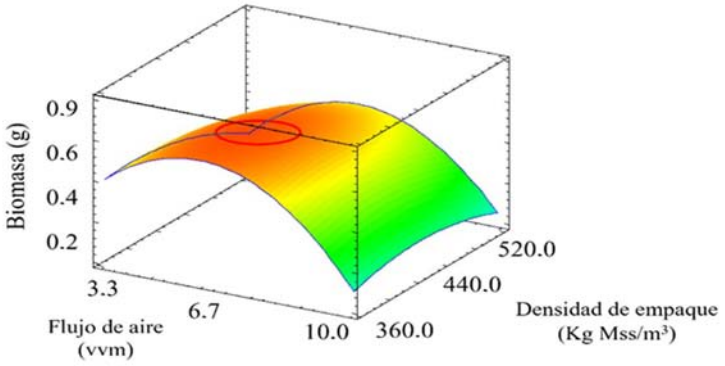
Figura 3. Diagrama de Pareto para efectos del flujo de aire y densidad de empaque en la generación de CO_2 y crecimiento de biomasa en el proceso de FES.

En el diagrama de Pareto (figura 3), se observa que el efecto más importante para el crecimiento de biomasa es el flujo de aire dosificado por minuto a la columna (vvm); sin embargo, y contrario a lo informado por Haddadin *et al.* (38), en la presente investigación se determinó que el aumento en el flujo de aire no incrementa la producción de biomasa en un sistema de FES con bagazo de caña de azúcar. No obstante, los resultados de la presente investigación coinciden con lo informado por Vivekanand *et al.* (39), quienes observaron que, a mayores flujos de aire dosificado a la columna, la producción de biomasa disminuyó.

Por otro lado, también se observó un efecto significativo de la densidad de empaque (ρ_s) sobre la generación de CO_2 (a menor ρ_s mayor generación de CO_2), lo cual es razonable debido a que normalmente el crecimiento de la biomasa está relacionado directamente a la generación de subproductos como CO_2 y agua (40). Sin embargo, a pesar de que generalmente el objetivo de la FES no es necesariamente la generación de CO_2, el conocimiento del comportamiento de este gas durante el crecimiento, condiciona el diseño de los bioprocesos (41), así como el manejo y control de los biorreactores utilizados para FES (42).

Modelación de la cinética de crecimiento

En la figura 4 se identifica la zona del óptimo, a partir de la cual se obtienen los valores más adecuados para las variables flujo de aire (vvm) y densidad de empaque (ρ_s) para el crecimiento de la cepa Pd318 de *Pleurotus djamor*, en un sistema FES de columnas empacadas con bagazo de caña de azúcar pretratado.



$$X_{(gramos)} = 0{,}79 - 0{,}058vvm - 0{,}028\rho_s - 0{,}16vvm^2 + 0{,}021vvm*\rho_s - 0{,}035*\rho_s^2$$

Figura 4. Superficie de respuesta para el crecimiento de biomasa a diferentes condiciones de flujo de aire (vvm) y densidad de empaque (ρ_s) en un sistema FES.

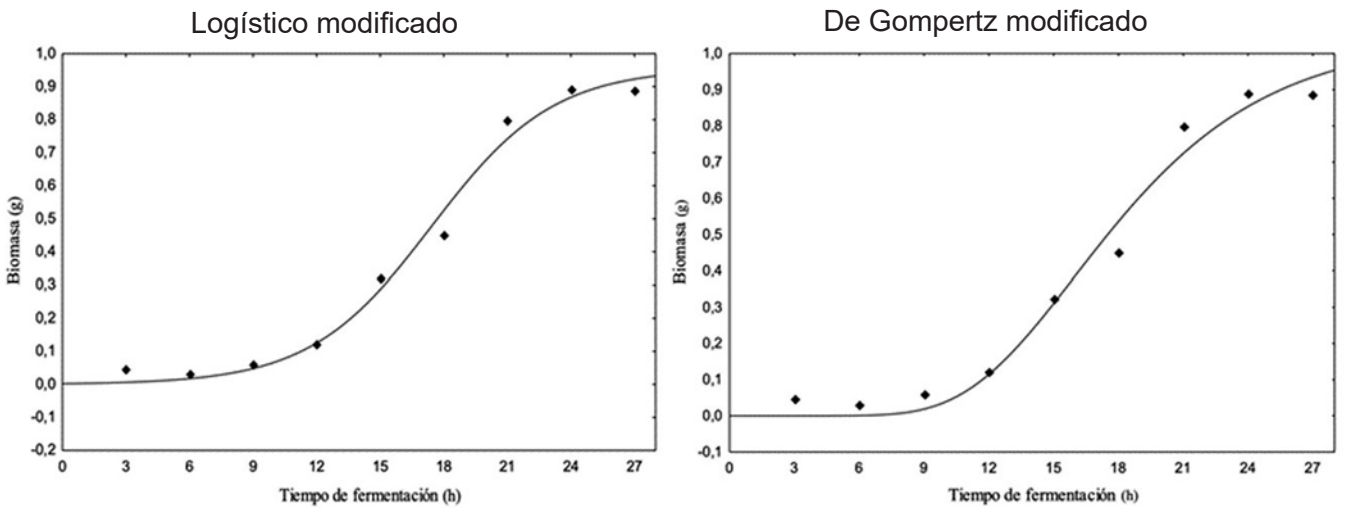


Figura 5. Ajuste de los modelos de crecimiento logístico y de Gompertz modificados para el crecimiento de *Pleurotus djamor* Pd318 sobre bagazo de caña (T=26.5 °C; H_i=65 %; $pH_{inicial}$= 6.5; Luz=500 Lux; Ø ≤ 20 mm).

El resultado del proceso de optimización determina que el valor adecuado para la variable densidad de empaque sea de 368.0 kg Mss/m^3 y para la variable flujo de aire, 5.6 vvm; valores con los que se alcanza un máximo de biomasa de 0.804 gramos.

Para el crecimiento de la cepa Pd318 sobre el sustrato bagazo de caña de azúcar se encontraron coeficientes de correlación de R^2 = 0.987 para el modelo logístico y de R^2 = 0.981 para el modelo de Gompertz. Los modelos predicen la fase de crecimiento exponencial (entre los 11 y 21 días) con un error relativo de 7.45 % y de 7.86 % para el modelo logístico y de Gompertz, respectivamente.

Con el modelo logístico modificado, el valor de velocidad específica de crecimiento (μ_{max}) fue 0.0832 h^{-1}, el valor máximo de crecimiento (A) fue de 0.956 gramos y la fase latencia (λ) fue 12.7 días, valor ligeramente mayor al observado durante el desarrollo del experimento (aproximadamente 11 días). Sobre esto, Hamidi *et al*. (43) mencionan que, aunque el modelo logístico se ajusta al perfil de crecimiento de muchos géneros de hongos en sistemas de FES, en algunos casos este presenta una desviación sistemática de la información experimental, especialmente durante las primeras etapas de crecimiento. En el caso del modelo de Gompertz modificado, el valor de velocidad específica de crecimiento (μ_{max}) fue 0.0767 h^{-1}, con un valor máximo de crecimiento (A) de 1.044 gramos y una fase de latencia (λ) de 11 días, siendo este último, el valor similar al observado en la experimentación. Sin embargo, el error relativo fue mayor para este modelo. La presencia de la fase de latencia fue demostrada por Andrino *et al.* (44), para un hongo de la especie *P. eryngii*, quienes determinaron un tiempo de 8 días, valor cercano a los predichos por el modelo para la cepa Pd318.

Degradación del colorante textil A19

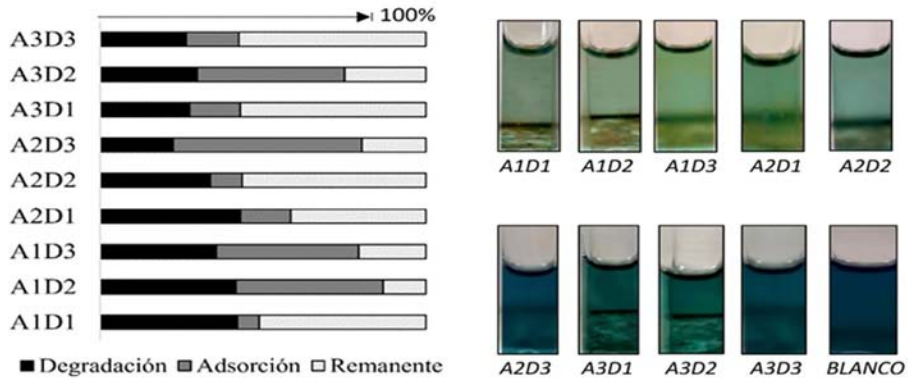


Figura 6. Biodegradación del colorante A19 durante el proceso de FES, a diferentes condiciones de flujo de aire y densidad de empaque (T= 25 °C, Hi= 65 %; Ø ≤ 20 mm).

En la figura 6 se muestra que los mayores valores de biodegradación se alcanzaron con las combinaciones A1D2, A1D1 y A2D1 con 41.6 %, 42.1 % y 43.0 %, respectivamente. Es importante recalcar que, por el efecto de adsorción del colorante en el bagazo de caña de azúcar, existe una disminución en la intensidad del color, fenómeno de adsorción también observado en el blanco utilizado para el análisis (figura 6). Coincidentemente, los mayores valores de crecimiento de biomasa fueron observados para las mismas combinaciones. La intensidad del colorante textil A19 en la matriz acuosa fue notablemente reducida con todas las combinaciones (figura 6); sin embargo, de ellas se destacan las combinaciones A1D2 y A1D1, en las que se observó claramente que la presencia de *Pleurotus djamor* Pd318 en la columna, ocasionó la degradación del colorante.

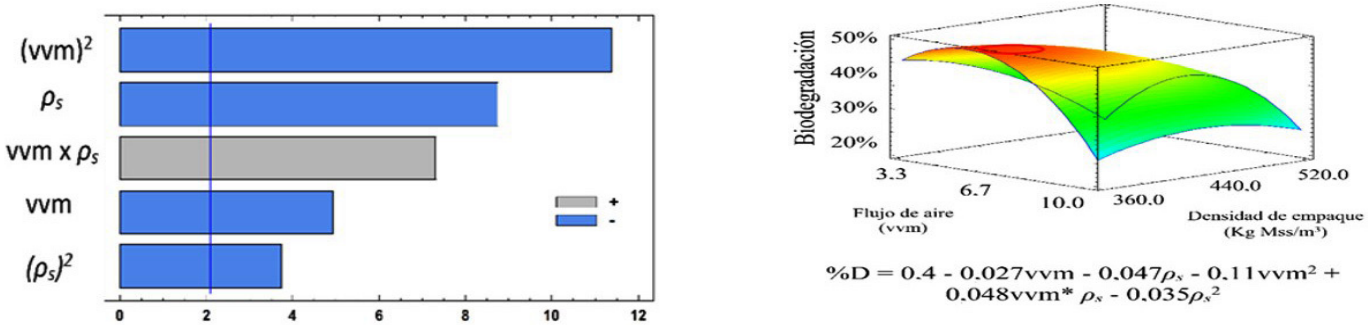


Figura 7. Diagrama de Pareto y superficie de respuesta de la biodegradación (%D) del colorante A19, a diferentes condiciones de flujo de aire (vvm) y densidad de empaque (ρ_s) en un sistema FES.

En la figura 7 se observa el efecto que tiene cada variable en estudio (vvm y ρ_s) sobre la biodegradación del colorante A19, en un sistema de columnas de fermentación en estado sólido, el análisis muestra que las dos variables evaluadas presentan un efecto significativo, por su parte la interacción entre estas dos variables también genera un efecto sobre la biodegradación; sin embargo, en un sentido diferente.

Por su parte, el proceso de optimización muestra un óptimo cercano a los valores más bajos evaluados, es así que los niveles adecuados de las variables en estudio fueron 5.6 vvm y 367.8 kg Mss/m^3; niveles con los que se alcanza un valor óptimo del 46 % de biodegradación del colorante textil A19.

Describir la cinética de crecimiento de este tipo de hongos, en función de utilizar su capacidad de expresión de enzimas oxido-reductasas es necesaria para el diseño del proceso de remediación de contaminantes como los colorantes industriales, esto debido a que el crecimiento de este tipo de hongos está asociado directamente a la expresión de metabolitos como las enzimas lignolíticas (45, 46). Los modelos de Gompertz y logístico modificados satisfacen notablemente la cinética de crecimiento de la cepa Pd318 de *Pleurotus djamor* y, aunque generalmente con los dos se obtienen valores de las variables biológicas cercanos a los observados de manera experimental, existe una desviación sistemática entre ellos. En función de los resultados, se puede mencionar que el modelo logístico modificado predice de mejor forma el crecimiento de la cepa de Pd318 sobre bagazo de caña, en un sistema de fermentación sólida en columnas empacadas.

La cepa Pd318 de *Pleurotus djamor* presenta una clara adaptación al crecimiento en un sistema de fermentación en estado sólido en columnas empacadas con bagazo de caña de azúcar. El proceso de biodegradación se inicia cuando el hongo coloniza todo el sustrato y se encuentra en el punto más alto de actividad enzimática, como lo mencionan salmones y Mata (5). La cepa Pd318 disminuye la concentración del colorante textil A19 desde 200 ± 0.5 ppm hasta valores entre 114 y 155 ppm; es decir, valores de biodegradación de hasta 46 % ± 0.5 %, que están condicionados por el efecto de la densidad de empaque y del flujo de aire que se dosifica a la columna. Sin embargo, es importante

recalcar que el efecto de la adsorción del colorante en el sustrato lignocelulósico incrementa la reducción del contaminante, alcanzando valores de disminución colaborativo (degradación-adsorción) de hasta el 86 % ± 0.9 %. La oxidación de sustancias con estructuras fenólicas, como los colorantes, es característico de este tipo de hongos que producen enzimas oxido-reductasas (47); no obstante, varios autores coinciden en que la eficiencia de estos procesos biológicos se incrementa si es combinada con otros sistemas biológicos (48) o físico-químicos (49).

En la literatura se informan valores de biodegradación; Casieri *et al.* (50) por ejemplo, alcanzaron porcentajes de biodegradación del 49 % de un colorante tipo antraquinona similar al A19; sin embargo, los mencionados autores también informaron valores de hasta un 90 % de decoloración utilizando varios ciclos de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* dentro de la misma columna. Por su parte, Pérez Cadena *et al*. (51) alcanzaron valores alrededor del 80 % de biodegradación del colorante rojo E123 en un biorreactor de columna aireada (airlift), sus resultados demostraron que la eficiencia en la decoloración está directamente relacionada con el flujo de aire que se dosifica a las columnas. En los niveles estudiados en la presente investigación para vvm y ρ_s esta tendencia se manifiesta, cuando se obtienen los mayores valores de crecimiento, producción de CO_2 y degradación de colorante A19 a bajos flujos de aire y bajas densidades de empaque; pero, es importante recalcar que esta tendencia no se cumple para sistemas de FEL, como lo demuestran Vairavel y Murty (52). En los sistemas de FES, uno de los parámetros importantes para el control es la humedad del medio, la cual puede verse afectada por la dosificación de aire seco y generar un efecto de deshidratación (53). Por su parte, los efectos de la densidad de empaque asociados con el tamaño de partícula del sustrato sólido dentro de las columnas, se ven reflejados directamente en la expresión de enzimas oxido-reductasas como la lacasa, manganeso peroxidasa, lignina, entre otras (54), ya que la compactación excesiva del sustrato en la columna genera problemas en la transferencia de oxígeno; mientras que, por una parte, los tamaños de partículas muy grandes y densidades de empaque bajas favorecen la transferencia de oxígeno; aunque, por otra parte, aumentan la pérdida de agua de la matriz sólida.

CONCLUSIONES

Se mostró la utilidad clara que tienen los sistemas enzimáticos de los hongos para ser utilizados en procesos de biorremediación, como es el caso de la degradación del colorante textil industrial A19.

El proceso de FES en columnas empacadas con sustratos lignocelulósicos como el bagazo de caña de azúcar, demostró ser una alternativa adecuada para el crecimiento de la cepa Pd318 del hongo *Pleurotus djamor*, sistema en el que se alcanza una μ_{max} de 0.0832 h^{-1} y una acumulación máxima de biomasa de 0.956 g de biomasa.

Las variables flujo de aire (vvm) y densidad de empaque (ρ_s) son factores importantes tanto para el crecimiento del hongo como para la degradación del colorante, los valores óptimos de estas variables para la cepa en estudio fueron 5.6 vvm y 367.8 kg Mss/m^3, respectivamente.

La eficiencia de la decoloración del medio acuoso utilizado (colorante A19 a 200 ppm) aumenta, en función del crecimiento de la cepa en el sustrato empacado.

Después del tratamiento, la intensidad del colorante en el medio desaparece debido a la acción biológica ocasionada por el hongo y al fenómeno de adsorción ocasionado por la porosidad del bagazo de caña de azúcar. La eficiencia máxima de degradación biológica del colorante fue del 46 % ± 0.5 % y del proceso de adsorción del 40 % ± 0.5 %.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Romero, H., Gadvay, K., & Castillo, A. (2017). Potencial biotecnológico y bioeconómico de residuos lignocelulósicos de la agroindustria del banano. *Conference Proceedings*, *1*.
2. Raaman, N., Jegadeesh, R., Hariprasath, L., Kumaresan, K., Srikumar, R., & Ayyappan, S. R. (2011). Effect of Pleurotus djamor var. Roseus, an edible mushroom on neutrophil functions. *Food and Agricultural Immunology*, *22*(3), 229-234. https://doi.org/10.1080/09540105.2011.556712
3. Cruz-Ornelas, R., Sánchez-Vázquez, J. E., Amaya-Delgado, L., Guillén-Navarro, K., & Calixto-Romo, A. (2019). Biodegradation of NSAIDs and their effect on the activity of ligninolytic enzymes from Pleurotus djamor. *3 Biotech*, *9*(10), 1-8.
4. Lechner, B. E., Wright, J. E., & Albertó, E. (2004). The genus Pleurotus in Argentina. *Mycologia*, *96*(4), 845-858. https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832931
5. Salmones, D., & Mata, G. (2015). Laccase production by Pleurotus djamor in agar media and during cultivation on wheat straw. *Revista mexicana de micología*, *42*, 17-23.
6. Bıyık, H., Kalyoncu, F., Oryasin, E., Azbar, N., Kalmış, E., & Başbuuml, G. (2009). Akpinar, M., & Ozturk Urek, R. (2020). Decolorization and degradation potential of enhanced lignocellulolytic enzymes production by Pleurotus eryngii using cherry waste from industry. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, *67*(5), 760-773.
7. Ccallo Arela, M., & Sacaca Masco, F. (2020). Una revisión de la biodegradación de plásticos por Pseudomonas. *Universidad Peruana Unión*. https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/3333
8. Huaylla Soria, S. M., & Melendez Torres, M. A. (2020). Biodegradación de compuestos organofosforados utilizando microorganismos en suelos agrícolas. *Repositorio Institucional - UCV*. https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/52286
9. Contreras, H., & Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, *1*(1), 27-33. https://doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269
10. Gomez Delgado, N. M., & Sánchez Cuesta, T. C. (2020). Revisión de eficiencia de hongos ligninolíticos en la biodegradación y adsorción de los metales pesados en aguas residuales textiles. *Universidad Peruana Unión*. https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/3258
11. El-Naggar, N. E.-A., Haroun, S. A., Owis, E. A., & Sherief, A. A. (2015). Optimization of β-Glucosidase Production by Aspergillus terreus Strain EMOO 6-4 Using Response Surface Methodology Under Solid-State Fermentation. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, *45*(6), 568-587. https://doi.org/10.1080/10826068.2014.940968
12. Prabhu, M. V., Karthikeyan, R., & Shanmugaprakash, M. (2016). Modeling and optimization by response surface methodology and neural network–genetic algorithm for decolorization of real textile dye effluent using Pleurotus ostreatus: A comparison study. *Desalination and Water Treatment*, *57*(28), 13005-13019. https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1059372
13. Pineda-Alegría, J. A., Sánchez-Vázquez, J. E., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., López-Arellano, M. E., Cuevas-Padilla, E. J., Mendoza-de-Gives, P., & Aguilar-Marcelino, L. (2017). The edible mushroom Pleurotus djamor produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode Haemonchus contortus. *Journal of medicinal food*, *20*(12), 1184-1192.
14. Rosero-Delgado, E. A., & Dustet-Mendoza, J. C. (2017a). Cinética de la fermentación en estado sólido de cascarilla de arroz y bagazo de caña con Auricularia auricula. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, *51*(1), 28-38.
15. Zervakis, G., Philippoussis, A., Ioannidou, S., & Diamantopoulou, P. (2001). Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia microbiologica*, *46*(3), 231-234.

16. Cho, E. J., Oh, J. Y., Chang, H. Y., & Yun, J. W. (2006). Production of exopolysaccharides by submerged mycelial culture of a mushroom Tremella fuciformis. Journal of biotechnology, 127(1), 129-140.
17. Melikoglu, M., Lin, C. S. K., & Webb, C. (2015). Solid state fermentation of waste bread pieces by Aspergillus awamori: Analysing the effects of airflow rate on enzyme production in packed bed bioreactors. Food and Bioproducts Processing, 95, 63-75.
18. Letti, L. A. J., Vítola, F. M. D., de Melo Pereira, G. V., Karp, S. G., Medeiros, A. B. P., da Costa, E. S. F., Bissoqui, L., & Soccol, C. R. (2018). Solid-state fermentation for the production of mushrooms. En Current Developments in Biotechnology and Bioengineering (pp. 285-318). Elsevier.Alouache, A.,
19. He, Q., Peng, H., Sheng, M., Hu, S., Qiu, J., & Gu, J. (2019). Humidity control strategies for solid-state fermentation: Capillary water supply by water-retention materials and negative-pressure auto-controlled irrigation. Frontiers in bioengineering and biotechnology, 7, 263.
20. Sangsurasak, P., & Mitchell, D. A. (1998). Validation of a model describing two□dimensional heat transfer during solid□state fermentation in packed bed bioreactors. Biotechnology and bioengineering, 60(6), 739-749.
21. Leite, P., Sousa, D., Fernandes, H., Ferreira, M., Costa, A. R., Filipe, D., Gonçalves, M., Peres, H., Belo, I., & Salgado, J. M. (2021). Recent advances in production of lignocellulolytic enzymes by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry, 27, 100407.
22. Yang, J., Zhao, J., Yu, H., Wang, Y., Wang, R., & Tang, L. (2013). Mathematical Study of the Effects of Temperature and Humidity on the Morphological Development of Pleurotus Eryngii Fruit Body. En D. Li & Y. Chen (Eds.), Computer and Computing Technologies in Agriculture VI (pp. 312-323). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-36124-1_38
23. Daza, V., & Vera, P. (2019). Diseño de un medio de cultivo para la producción de metabolitos con aplicación práctica en la biodegradación de colorantes industriales. [Tesis Investigativa previo a la obtención del título Ingeniero Químico.]. Universidad Técnica de Manabí.
24. Sandhya, C., Sumantha, A., Szakacs, G., & Pandey, A. (2005). Comparative evaluation of neutral protease production by Aspergillus oryzae in submerged and solid-state fermentation. Process biochemistry, 40(8), 2689-2694.
25. Luo, X. C. (1993). Biology of artificial log cultivation of Auricularia mushroom. Chang, ST, Buswell JA, Siu-wai Chiu (eds) Mushroom Biology and Mushroom Cultivation. Chinese University Press, Hong Kong, 370.
26. Savoie, J.-M., Salmones, D., & Mata, G. (2007). Hydrogen peroxide concentration measured in cultivation substrates during growth and fruiting of the mushrooms Agaricus bisporus and Pleurotus spp. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87(7), 1337-1344.
27. Briassoulis, D., & Degli Innocenti, F. (2017). Standards for soil biodegradable plastics. En Soil Degradable Bioplastics for a Sustainable Modern Agriculture (pp. 139-168). Springer.
28. Doran, P. M., & García Labiano, F. J. (1995). Bioprocess engineering principles. Principios de ingeniería de los bioprocesos.
29. Rosero-Delgado, E. A., & Dustet-Mendoza, J. C. (2017b). Cinética de la fermentación en estado sólido de cascarilla de arroz y bagazo de caña con Auricularia auricula. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 51(1), 28-38.
30. Sarikaya, A., & Ladisch, M. R. (1999). Solid-state fermentation of lignocellulosic plant residues from Brassica napus by Pleurotus ostreatus. Applied biochemistry and biotechnology, 82(1), 1-15.
31. Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & Van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. Appl. Environ. Microbiol., 56(6), 1875-1881

32. Valbuena, E., Barreiro, J., Sánchez, E., Castro, G., Bríñez, W., & Tovar, A. (2005). Modelos cinéticos aplicados al crecimiento de Lactococcus lactis subsp. Lactis en leche. Revista Científica, 15(5), 464-475.
33. Han, W., Ye, M., Zhu, A. J., Huang, J. G., Zhao, H. T., & Li, Y. F. (2016). A combined bioprocess based on solid-state fermentation for dark fermentative hydrogen production from food waste. Journal of Cleaner Production, 112, 3744-3749.
34. Sadañoski, M. A., Velázquez, J. E., Fonseca, M. I., Zapata, P. D., Levin, L. N., & Villalba, L. L. (2018). Assessing the ability of white-rot fungi to tolerate polychlorinated biphenyls using predictive mycology. Mycology, 9(4), 239-249. https://doi.org/10.1080/21501203.2018.1481152
35. Zhi, Z., & Wang, H. (2014). White-rot fungal pretreatment of wheat straw with Phanerochaete chrysosporium for biohydrogen production: Simultaneous saccharification and fermentation. Bioprocess and biosystems engineering, 37(7), 1447-
36. Valmaseda, M., Martínez, M. J., & Martinez, A. T. (1991). Kinetics of wheat straw solid-state fermentation with Trametes versicolor and Pleurotus ostreatus—Lignin and polysaccharide alteration and production of related enzymatic activities. Applied microbiology and biotechnology, 35(6), 817-823.
37. Membrillo, I., Sánchez, C., Meneses, M., Favela, E., & Loera, O. (2011). Particle geometry affects differentially substrate composition and enzyme profiles by Pleurotus ostreatus growing on sugar cane bagasse. Bioresource Technology, 102(2), 1581-1586.
38. Haddadin, M. S., Abdulrahim, S. M., Al□Khawaldeh, G. Y., & Robinson, R. K. (1999). Solid state fermentation of waste pomace from olive processing. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 74(7), 613-618.
39. Vivekanand, V., Dwivedi, P., Pareek, N., & Singh, R. P. (2011). Banana peel: A potential substrate for laccase production by Aspergillus fumigatus VkJ2. 4.5 in solid-Zhang, R., Li, X., & Fadel, J. G. (2002). Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. Bioresource technology, 82(3), 277-284.
40. Zhang, et al. (2002). Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. Bioresource technology, 82 (3), 277-284.
41. Doran, P. M. (1995). Bioprocess engineering principles. Elsevier.
42. Mitchell, D. A., Krieger, N., & Berovi˘c, M. (2006). Solid-state fermentation bioreactors. Springer, Heidelberg, 19.
43. Hamidi-Esfahani, Z., Shojaosadati, S. A., & Rinzema, A. (2004). Modelling of simultaneous effect of moisture and temperature on A. niger growth in solid-state fermentation. Biochemical Engineering Journal, 21(3), 265-272.
44. Andrino, A., Morte Gómez, M., & Honrubia García, M. (2011). Caracterización y cultivo de tres cepas de Pleurotus eryngii (Fries) Quélet sobre sustratos basados en residuos agroalimentarios. Anales de Biología.
45. Chen, K. C., Huang, W. T., Wu, J. Y., & Houng, J. Y. (1999). Microbial decolorization of azo dyes by Proteus mirabilis. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 23(1), 686-690.
46. Riegas-Villalobos, A., Martínez-Morales, F., Tinoco-Valencia, R., Serrano-Carreón, L., Bertrand, B., & Trejo-Hernández, M. R. (2020). Efficient removal of azo-dye Orange II by fungal biomass absorption and laccase enzymatic treatment. 3 Biotech, 10(4), 1-10.
47. Akpinar, M., & Ozturk Urek, R. (2020). Decolorization and degradation potential of enhanced lignocellulolytic enzymes production by Pleurotus eryngii using cherry waste from industry. Biotechnology and Applied Biochemistry, 67(5), 760-773.

48. Šlosarčíková, P., Plachá, D., Malachová, K., Rybková, Z., & Novotnỳ, Č. (2020). Biodegradation of Reactive Orange 16 azo dye by simultaneous action of Pleurotus ostreatus and the yeast Candida zeylanoides. Folia microbiologica, 65(4), 629-638.
49. Alouache, A., Selatnia, A., Sayah, H. E., Khodja, M., Moussous, S., & Daoud, N. (2021). Biosorption of hexavalent chromium and Congo red dye onto Pleurotus mutilus biomass in aqueous solutions. International Journal of Environmental Science and Technology, 1-16.
50. Casieri, L., Varese, G. C., Anastasi, A., Prigione, V., Svobodova, K., Marchisio, V. F., & Novotný, Č. (2008). Decolorization and detoxication of reactive industrial dyes by immobilized fungi Trametes pubescens and Pleurotus ostreatus. Folia microbiologica, 53(1), 44-52.
51. Pérez-Cadena, R., García-Esquivel, Y., Castañeda-Cisneros, Y. E., Serna-Díaz, M. G., Ramírez-Vargas, M. R., Muro-Urista, C. R., & Téllez-Jurado, A. (2020). Biological decolorization of Amaranth dye with Trametes polyzona in an airlift reactor under three airflow regimes. Heliyon, 6(12), e05857.
52. Vairavel, P., & Murty, V. R. (2020). Decolorization of Congo red dye in a continuously operated rotating biological contactor reactor. Desalin. Water Treat, 196, 299-314.
53. Ribani, R. H., Ávila, S., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Júnior, A. M., Hornung, P. S., Bellettini, M. B., & Teixeira, G. L. (2019). Factors affecting mushroom Pleurotus spp. Saudi Journal of Biological Sciences.
54. Gómez, S. Q., Cuenca, A. A., Flores, Y. M., Rodríguez, J. N. G., & Jurado, A. T. (2012). Effect of particle size and aeration on the biological delignification of corn straw using Trametes sp 44. BioResources, 7(1), 0327-0344.