

BIODEGRADACIÓN DE CRISTAL VIOLETA POR HONGOS LIGNOCELULOLÍTICOS AUTÓCTONOS DE SANTANDER, COLOMBIA

Jesús Rueda ^a, Olga Saavedra ^a, Inés Hernández ^a, Andrés Rueda ^a, Giovanna Rincón ^a, Ruth Martínez ^a, Daniel Molina ^b Clara Sánchez ^a, Universidad Industrial de Santander, ^a Escuela de Microbiología, ^b Escuela de química, Bucaramanga, 680002, Colombia, jeda1206@gmail.com

Palabras clave: Enzimas lignocelulolíticas, degradación enzimática, lacasa.

Introducción. El cristal violeta (Tris (4-(dimetilamino) fenil) metil cloruro) ha sido empleado en técnicas biológicas de identificación bacteriana, a nivel industrial se usa en el procesamiento plásticos, gasolina, barniz, grasa, aceite, ceras, pinturas, entre otros. Su presencia en aguas residuales representa un problema para el medio ambiente, ya que puede ocasionar I) daño de la flora y fauna acuática, II) irritación ocular grave en córnea y conjuntiva, III) insuficiencia renal y respiratoria. Además, tiene potencial carcinogénico y clastogénico, debido a que posee estructuras aromáticas tipo cromóforos que les confieren estabilidad a agentes oxidantes, luz y calor; haciéndolo difícil de degradar o eliminar por métodos físicos o químicos convencionales. Una alternativa biotecnológica para el tratamiento de colorantes es el uso de hongos lignocelulolíticos debido a su capacidad de mineralizar compuestos recalcitrantes como dioxinas, plaguicidas, polifenoles, entre otros. Teniendo en cuenta el impacto ambiental negativo que generan los colorantes en su disposición final y aprovechando la diversidad fúngica colombiana, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de biodegradación que poseen seis hongos de la colección biológica UIS-F del museo de historia natural de la Universidad Industrial de Santander sobre el colorante cristal violeta.

Metodología. Se evaluó el potencial de biodegradación de *Aspergillus* sp., *Beauveria* sp., *Trichoderma* sp., *Pleurotus* sp., *Byssomerulius* sp. y *Dictyopanus* sp., sobre concentraciones de 50, 100 y 500 ppm de cristal violeta (CV) por la técnica dilución en placa¹, usando como variable de respuesta la formación de un halo de decoloración y la relación de eficiencia de decoloración². Se obtuvieron extractos enzimáticos del aislamiento fúngico con mayor capacidad para degradar cualitativamente CV mediante fermentación sólida (FSS), utilizando raquis de palma como sustrato. La extracción enzimática se realizó con Buffer fosfato pH 7 (50 mM)^{3,4}. El análisis cuantitativo se realizó utilizando extractos enzimáticos con 200, 300 y 400 UI de actividad lignocelulolítica y 100 ppm de CV, obteniendo como variable de respuesta porcentaje de degradación de CV⁵. Se hizo el análisis con ANOVA, utilizando el software *Statgraphics*® Centurion XVI.I. Se realizó identificación de los metabolitos producto de la degradación de CV

mediante análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Resultados. En la **Tabla 1** se evidencia la degradación cualitativa de CV, resultados que permitieron seleccionar a *Dictyopanus* sp. y *Pleurotus* sp., los cuales degradaron 80.45 % y 41.35 % de CV respectivamente.

Tabla 1. Degradación cualitativa de cristal violeta por *Aspergillus* sp., *Beauveria* sp., *Trichoderma* sp., *Pleurotus* sp., *Byssomerulius* sp., y *Dictyopanus* sp.

Cepa	Días evaluados	Concentración de cristal violeta									
		Control (0 ppm)	50 ppm			100 ppm			500 ppm		
		CC	FH	ED	CC	FH	ED	CC	FH	ED	
<i>Aspergillus</i> sp.	26	33 ± 4	31 ± 1	12 ± 1	0,39 ± 0,01	24 ± 2	10,3 ± 0,6	0,43 ± 0,01	16,1 ± 0,5	-	-
<i>Beauveria</i> sp.	26	46,1 ± 0,2	24 ± 1	-	-	20 ± 1	-	-	16,2 ± 0,6	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.	10	87,70 ± 0,02	14,2 ± 0,3	-	-	13,1 ± 0,5	-	-	12,1 ± 0,6	-	-
<i>Pleurotus</i> sp.	26	38 ± 2	59 ± 2	51 ± 3	0,889 ± 0,005	32 ± 3	37,2 ± 0,3	1,2 ± 0,1	15 ± 1	22 ± 3*	1,5 ± 0,1
<i>Byssomerulius</i> s	8	87,71 ± 0,01	41 ± 4	32 ± 2	0,78 ± 0,03	21 ± 3	19 ± 2	0,91 ± 0,02	12 ± 6	-	-
<i>Dictyopanus</i> sp.	26	59 ± 3	51 ± 3	57 ± 6	1,1 ± 0,1	27 ± 3	41 ± 3	1,54 ± 0,06	17 ± 2	28 ± 5*	1,6 ± 0,1

CC= Crecimiento de la colonia en mm (± SD, n=3)

ED= Relación eficiencia de decoloración en mm (± SD, n=3)

FH= Formación del halo de decoloración en mm (± S

* Degradación parcial del colorante

Con el extracto enzimático obtenido a partir de *Dictyopanus* sp se realizó degradación de CV y se identificó N,N,N,N-tetrametil-*p*-rosanilina y fenol en el análisis por CG-MS de los metabolitos.

Conclusiones. Se evidenció el potencial de biodegradación de extractos enzimáticos lignocelulolíticos de *Dictyopanus* sp. sobre CV, así como la identificación de metabolitos menos tóxicos producto de la degradación enzimática. En nuestro conocimiento este es el primer trabajo que evalúa la degradación de CV por extractos enzimáticos de *Dictyopanus* sp., sugiriendo la posibilidad de aplicar enzimas lignocelulolíticas de *Dictyopanus* sp. para los procesos de degradación de colorantes.

Agradecimientos. Al proyecto interno 2363 de la Universidad Industrial de Santander "Degradación de cristal violeta Tris (4-(dimetilamino)fenil)metil cloruro por extractos enzimáticos con actividad lacasa".

Bibliografía.

- He, L., Liu, Y. & Mengshi Lin, A. (2011). *Am J Microbiol Res.*, 166, 207-215.
- Ang, T. N., Ngoh, G. C., & Chua, A. S. M. (2011). *Asia-Pac. J. Chem. Eng.*, 6(4), 589-595.
- Singh, A., Abdullah, N. & Vikineswary, S. (2003). *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 78:743-752
- Lim, S., Lee, Y., & Kang, H. (2013). *Mycobiology.* 41(4): 214-220.
- Parshetti, G. K., Telke, A. A., Kalyani, D. C., & Govindwar, S. P. (2010). *J Hazard Mater.* 176(1-3), 503-509.

