

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Facultad de Ciencias de la Vida

Título del trabajo

Capacidad de degradación de un extracto enzimático de aislados microbianos
para la degradación de tintes textiles comerciales

Proyecto Integrador

Previo la obtención del Título de:

Biólogo

Presentado por:

Gabriel Alexander Limones Vélez

Guayaquil - Ecuador

Año: 2024

Dedicatoria

A mis padres, Vinicio Limones y Gabriela Vélez, por ser siempre el pilar sobre el que he construido mis sueños. A Mary Vélez y Belén Saltos, cuyos sabios consejos y apoyo constante han sido una guía valiosa en mi vida.

A mis abuelos y abuelas, fuentes de sabiduría y amor, que me han dado raíces profundas y un legado del cual sentirme orgulloso. En especial, a mi abuela Blanca Lucrecia Dávila Rodríguez (+), quien, junto con mi madre, han sido mi principal motor. Su recuerdo y ejemplo viven en mí, guiando cada decisión y esfuerzo. Este logro también es suyo, porque sin su amor y fortaleza, no sería quien soy hoy.

Gracias a todos por ser la inspiración detrás de cada página de este trabajo.

Agradecimientos

Me gustaría manifestar mi más profundo agradecimiento a mi tutora de tesis, Ph.D. Nardy Diez, por su orientación a lo largo de este proceso. Su dedicación y sabiduría han sido fundamentales para la culminación de este trabajo. A las Biól. Marisa Arias y Nicole López, cuya valiosa ayuda y colaboración directa hicieron posible la realización de este proyecto.

También quiero agradecer a las personas que marcaron mi vida durante mi paso por ESPOL: Judith Loayza, Marisol Duche y Celine Perero, quienes con su apoyo y cariño hicieron de esta experiencia algo inolvidable.

Finalmente, a mis amigos incondicionales, Ing. Bryan Chipantiza, Ing. Bryan Contreras y Lic. Néstor Narváez, por su constante apoyo y lealtad a lo largo de esta travesía.

A todos ustedes, mi más profundo agradecimiento.

Declaración Expresa

Yo Gabriel Alexander Limones Vélez acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me/nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al/los autor/es que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 30 de mayo del 2024


Gabriel Alexander Limones Vélez

Evaluadores

**M. Sc. Diego Arturo Gallardo
Polit**

Profesor de Materia

**Ph. D. Nardy Del Valle Diez
García**

Tutor de proyecto

Resumen

La investigación se centra en evaluar la capacidad de extractos enzimáticos de microorganismos aislados (C6 y K6) para degradar tintes textiles comerciales, planteando la hipótesis de que estos extractos pueden descomponer eficazmente los tintes bajo condiciones controladas. Inicialmente, se realizaron pruebas en medio TSB convencional, pero al observar anomalías, se repitió el experimento en medio TSB diluido. Los tintes evaluados fueron Amarillo ME4G, Naranja RD, Rojo Sam, Negro Jet GDR y Azul HFRL. Los resultados muestran una degradación, especialmente en tintes oscuros como Negro Jet GDR y Azul HFRL, destacando la eficacia de los extractos enzimáticos incluso en medios diluidos. Se concluye que los extractos C6 y K6 tienen un gran potencial para la bioremediación, demostrando resiliencia y adaptabilidad en la degradación de tintes textiles bajo diversas condiciones. Este estudio ofrece una base sólida para la aplicación de estas enzimas en procesos industriales, contribuyendo a la reducción de la contaminación ambiental.

Palabras clave: Biodegradación, Enzimas, Tintes textiles, Bioremediación.

Abstract

The research focuses on evaluating the degradation capacity of enzymatic extracts from isolated microorganisms (C6 and K6) to break down commercial textile dyes. The hypothesis suggests that these extracts can effectively degrade dyes under controlled conditions. Initial tests were conducted in conventional TSB medium, but after observing anomalies, the experiment was repeated in diluted TSB medium. The dyes tested included Amarillo ME4G, Naranja RD, Rojo Sam, Negro Jet GDR, and Azul HFRL. Results showed degradation, particularly in dark dyes like Negro Jet GDR and Azul HFRL, highlighting the enzymatic extracts' effectiveness even in diluted media. It is concluded that the C6 and K6 extracts have strong potential for bioremediation, demonstrating resilience and adaptability in textile dye degradation under various conditions. This study provides a solid foundation for applying these enzymes in industrial processes, contributing to reducing environmental pollution.

Keywords: *Biodegradation, Enzymes, Textile dyes, Bioremediation.*

Índice general

Resumen.....	I
<i>Abstract</i>	II
Índice general.....	III
Abreviaturas.....	V
Simbología.....	VI
Índice de figuras.....	VII
Índice de tablas.....	VII
Capítulo 1.....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Descripción del Problema.....	3
1.3 Justificación del Problema.....	3
1.4 Objetivos.....	4
1.4.1 Objetivo general.....	4
1.4.2 Objetivos específicos.....	4
1.5 Marco Teórico.....	5
Capítulo 2.....	9
2.1 Metodología.....	10
2.1.1 Ubicación del ensayo.....	10
2.1.2 Diseño de la Investigación.....	10
2.1.3 Población.....	10
2.1.4 Muestra.....	10
2.1.5 Instrumentos de Recolección de Datos.....	10
2.1.6 Fase 1: Producción del Caldo Enzimático.....	11
2.1.7 Fase 2: Evaluación de la Degradación de Tintes Textiles.....	13
Capítulo 3.....	17
3.1 Resultados y análisis.....	18

3.1.1	Resultados de Decoloración de Tintes en un Medio TSB a 1:10.....	18
3.1.2	Comparación de los Controles de los Tintes	20
3.1.3	Comparación del Extracto Enzimático C6 en los Tintes	21
3.1.4	Comparación del Extracto Enzimático K6 en los Tintes.....	23
3.2	Discusión.....	25
Capítulo 4	27
4.1	Conclusiones y Recomendaciones	28
4.1.1	Conclusiones	28
4.1.2	Recomendaciones	29
Referencias	30
Anexos	35

Abreviaturas

AN	Agar Nutritivo
DPW	Difco Peptone Water
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
TSB	Tryptic Soy Broth
UV-Vis	Ultravioleta-Visible

Simbología

A	Absorbancia
C-	Control
°C	Grados Celsius
C	Concentración
C6	Microorganismo
D	Día
Da	Dalton
g	Gramos
h	Horas
K6	Microorganismo
L	Litros
min	Minutos
mg	Miligramos
mL	Mililitros
nm	Nanómetros
pH	Potencial de Hidrógeno
rcf	Fuerza Centrífuga Relativa
rpm	Revoluciones por minuto
V	Volumen
μL	Micro litros
% v/v	Porcentaje de volumen en volumen

Índice de figuras

Figura 3.1.1 Degradación de Tintes al Transcurso de los Días	19
Figura 3.1.2 Comparación de la Absorbancia y Decoloración de Diferentes Tintes en el Control (C-).....	20
Figura 3.1.3 Comparación de la Absorbancia y Decoloración de Diferentes Tintes con el extracto C6.....	21
Figura 3.1.4 Comparación de la Absorbancia y Decoloración de Diferentes Tintes con el extracto K6	23
Figura 3.2.1 Degradación de los Tintes en un Medio TSB Diluido al Día 3 por Diferentes Extractos Enzimáticos	25

Índice de tablas

Tabla 2.1.1 Fórmula para 300 ml de agua destilada para TSB.....	11
Tabla 2.1.2 Fórmula para 150 ml de agua destilada	11
Tabla 2.1.3 Fórmula para 125 ml de agua destilada para TSB diluido.....	14
Tabla 2.1.4 Longitudes de onda estándar para cada tinte.....	16
Tabla 3.1.1 Absorbancia y Porcentaje de Decoloración de Tintes Textiles en Diferentes Días de Incubación.....	18
Tabla 3.2.1 Porcentaje de Degradación de Tintes Textiles Comerciales en Medios de Cultivo TSB Diluido.....	25

Capítulo 1

1.1 Introducción

La industria textil es ampliamente reconocida como uno de los sectores productivos más destacados a nivel mundial y es vital para la economía global. Sin embargo, esta actividad conlleva una significativa carga ambiental debido a la liberación de tintes comerciales y otros productos químicos en las aguas residuales.

En la última década, ha habido un notable aumento en la contaminación de las aguas residuales debido al alto consumo de agua en la industria textil. Según datos del Banco Mundial, este sector representa aproximadamente el 20% de las aguas residuales industriales a nivel global, siendo uno de los mayores contaminantes de los recursos hídricos dulces en todo el mundo (Solaiman, Rajamohan, Yusuf, & Kamyab, 2024). En Ecuador, solo se trata el 30% de las aguas residuales generadas por esta industria, mientras que el 70% restante se vierte sin pasar por un tratamiento alguno en cuerpos de agua.

Además, la industria textil figura como uno de los principales contaminantes a nivel mundial en términos de vertidos líquidos, emisiones de gases y gestión de residuos sólidos, contribuyendo significativamente al 10% de las emisiones totales de carbono (Mia, y otros, 2019).

En consecuencia, la industria textil necesita un método de tratamiento que evite los lodos tóxicos, requiera menos energía y siga siendo segura para el medio ambiente. Actualmente se ha demostrado que las aguas residuales pueden ser una fuente de energía renovable varias veces superior a la energía requerida para su tratamiento. (Yadav, y otros, 2022). Por lo tanto, transformar los residuos en energía utilizando tecnologías de gestión de aguas residuales que consuman menos energía sigue siendo la clave para lograr la seguridad energética en las próximas décadas (Pandey, y otros, 2016).

En respuesta a esta problemática, la investigación en biotecnología ambiental ha ganado relevancia al explorar alternativas sostenibles para la eliminación de contaminantes

textiles. En particular, el uso de extractos enzimáticos derivados de microorganismos, como hongos, bacterias, algas y levaduras, ofrece un potencial considerable para degradar eficazmente los tintes textiles (Pandey, Pathak, Navneet, & Rajput, 2024). Estos microorganismos permiten transformar las moléculas de tinte en compuestos menos dañinos, como CO₂ y agua, mitigando así la contaminación ambiental (Khan, y otros, 2023).

Este estudio se enfoca en investigar la capacidad de un extracto enzimático obtenido de aislados microbianos específicos para degradar varios tintes textiles comerciales. A través de un enfoque experimental riguroso, se busca no solo determinar la eficiencia de estos extractos en la degradación de tintes específicos, sino también establecer condiciones óptimas de incubación que maximicen su efectividad.

1.2 Descripción del Problema

Los tintes textiles comerciales, ya sean naturales o sintéticos, son especialmente difíciles de manejar debido a su persistencia y resistencia a los métodos convencionales de tratamiento de aguas residuales. La degradación inadecuada de estos tintes puede tener graves consecuencias, como la toxicidad para organismos acuáticos y la contaminación de cuerpos de agua, lo que constituye un peligro para la salud humana.

El desafío consiste en encontrar una manera de degradar los tintes textiles comerciales utilizando extractos enzimáticos obtenidos de microorganismos aislados. En este caso, se está investigando la capacidad de los extractos enzimáticos de los microorganismos C6 y K6 para descomponer los tintes Amarillo ME4G, Azul HFRL, Naranja RD, Negro Jet GDR y Rojo Sam. La eficacia de estos extractos se analizará según diferentes concentraciones de los tintes y distintos tiempos de incubación.

1.3 Justificación del Problema

La relevancia de este estudio se fundamenta en diversos aspectos esenciales. En primer lugar, la validación de los extractos enzimáticos como agentes efectivos para la

degradación de tintes textiles comerciales podría ofrecer una alternativa más segura y ecológica a los tratamientos tradicionales de aguas residuales, que a menudo son costosos y emplean productos químicos agresivos. Esto no solo ayudaría a reducir la contaminación ambiental, también podría mejorar la calidad de los cuerpos de agua impactados por los efluentes industriales.

Además, el éxito en la implementación de esta biotecnología podría tener repercusiones significativas para la industria textil al ofrecer un método más eficiente y rentable para cumplir con las normativas ambientales cada vez más rigurosas. La reducción de los costos operativos asociados con el tratamiento de aguas residuales también podría beneficiar económicamente a las empresas textiles, promoviendo prácticas de producción más respetuosas y sostenibles con el medio ambiente.

Asimismo, este estudio podría contribuir al avance científico al profundizar en nuestro entendimiento sobre las capacidades de biodegradación de microorganismos específicos y la optimización de condiciones de cultivo y producción de enzimas. Esto abriría nuevas oportunidades para la aplicación de la biotecnología en otros sectores industriales y en la gestión de otros tipos de contaminantes orgánicos.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

1. Evaluar la capacidad de un extracto enzimático de aislados microbianos incubando los microorganismos C6 y K6 para degradar los tintes textiles comerciales.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Cuantificar los porcentajes de degradación de diferentes tintes textiles mediante la aplicación de extractos enzimáticos, con el fin de establecer el tiempo óptimo de incubación que permita observar el inicio de degradación.

2. Comparar la eficacia de degradación de los tintes en un medio de cultivo convencional y en uno diluido a 1:10, con el objetivo de analizar el comportamiento del extracto enzimático bajo condiciones de carbono limitado.

1.5 Marco Teórico

La amplia utilización de tintes está fuertemente relacionada con el crecimiento de la industria textil. Los compuestos químicos empleados en este sector, esenciales para lograr colores vibrantes y duraderos en las telas (Ardiati, Yanto, Anita, & Watanabe, 2019), presentan serios retos en cuanto a su eliminación segura tras su uso.

Desde una perspectiva química, los tintes textiles se agrupan en diversas categorías según su estructura y su afinidad por las fibras. La estructura química de los tintes puede variar ampliamente, pero generalmente están compuestos por un componente cromóforo que determina el color visible, junto con un auxocromo que modula tanto la solubilidad como la intensidad del color. (Schuhmacher, y otros, 2024). La interacción entre el tinte y la fibra textil es fundamental para lograr una fijación adecuada del color, proceso que puede implicar la formación de enlaces covalentes, interacciones electrostáticas o fuerzas de van der Waals (Song, y otros, 2023), dependiendo del tipo de tinte y de la fibra. Comprender estas interacciones químicas no solo es crucial para obtener colores vibrantes y duraderos en textiles, sino también para desarrollar procesos efectivos de teñido y tratamiento que minimicen el impacto ambiental.

Los tipos más comunes incluyen los tintes de origen natural, derivados de fuentes vegetales y animales, y los tintes sintéticos, producidos mediante procesos industriales que implican compuestos químicos complejos (Yuli Yanto, y otros, 2023). Los tintes empleados en la industria textil pueden categorizarse de la siguiente manera, tintes básicos, ácidos, reactivos y directos (Iqbala, Yusafa, Usmana, Bokharia, & Manshaa, 2023). Todos estos tipos son difíciles de eliminar, es decir, recalcitrantes por naturaleza (Ali, y otros, 2023). Estos

tintes se descomponen en aminas aromáticas peligrosas a través de diversos procesos biológicos y fisicoquímicos en el ambiente (Yadav, y otros, 2022). Por lo general, esta descomposición puede causar daños significativos a la vida marina al reducir la luz y la fotosíntesis, resultando en bajos niveles de oxígeno y la muerte de organismos acuáticos (Lellis, Fávoro-Polonio, Pamphile, & Polonio, 2019). Además, algunos metabolitos anaeróbicos de los colorantes son tóxicos, cancerígenos y mutagénicos, afectando tanto a microorganismos como a seres humanos (Hsueh & Chen, 2008).

La persistencia de estos agregados en las aguas residuales industriales y en los cuerpos de agua ha motivado la búsqueda de métodos eficaces y sostenibles para su degradación, clasificados en físicos, químicos y biológicos (Guadie, y otros, 2017). Los métodos químicos, como la oxidación, precipitación y floculación, son eficaces para la decoloración, pero existen algunos inconvenientes, como ser costosos, producir lodos activados, tener subproductos que necesitan procesamiento adicional y consumo intensivo de energía (Yanto, Auliana, Anita, & Watanabe, 2019). Los métodos físicos como la adsorción y la absorción se centran en remover el color sin alterar la estructura del contaminante, pese a su alta eficiencia (Mohammadifard, Allouss, xVosoughi, Dargahi, & Moharrami, 2022). Por el contrario, los métodos biológicos son ecológicos y económicos, y se usan globalmente para tratar diversas aguas residuales (Ceretta, Vieira, Wolski, Foletto, & Silvestri, 2020). Los métodos biológicos emplean diferentes tipos de microorganismos como levaduras, hongos, bacterias y algas (Ali, Amjad, & Rehman, 2023), siendo las bacterias las más efectivas por su rápido crecimiento, adaptabilidad ambiental y versatilidad bioquímica (Ilyas & Rehman, 2013).

Asimismo, las enzimas degradadoras de tintes son proteínas catalíticas que pueden descomponer los compuestos de los tintes en productos menos complejos y menos tóxicos (Bharathi, Thiruvengadam Nandagopal, Ranjithkumar, Gupta, & Djearamane, 2022). Estas

enzimas, como las lacasas, peroxidasas y azoreductasas, actúan mediante la ruptura de enlaces específicos en las moléculas de los tintes, facilitando su degradación y mineralización (Legerská, Chmelová, & Ondrejovič, 2018). Las lacasas, por ejemplo, actúan como catalizadores en la oxidación de una gran variedad de compuestos, tanto fenólicos como no fenólicos, mientras que las peroxidasas utilizan peróxido de hidrógeno para oxidar los sustratos (R. Ngo & Tischler, 2022). La eficiencia de estas enzimas en la degradación de tintes depende de varios factores, incluyendo la concentración del tinte, las condiciones ambientales como pH y temperatura (Kim Thoa, y otros, 2023).

El aislamiento y la caracterización de microorganismos con capacidad degradadora de tintes son procesos clave en el desarrollo de biotecnologías para el tratamiento de efluentes textiles (Ayed, Mahdhi, Cheref, & Bakhrouf, 2011). Estos microorganismos pueden ser identificados en ambientes contaminados por tintes o a partir de muestras específicas mediante técnicas avanzadas de cultivo y biología molecular (Kim Thoa, y otros, 2023).

La evaluación de la eficacia de estos microorganismos y sus extractos enzimáticos implica la medición precisa de la decoloración de las soluciones tintadas y el análisis de los productos de degradación generados (Yanto, y otros, 2021). Se puede realizar mediante diversas técnicas analíticas, siendo la espectrofotometría UV-Vis una de las más comunes (Kishor, y otros, 2021). Este enfoque consiste en medir la absorbancia de la luz en los rangos ultravioleta y visible, absorbida por las moléculas de tinte en solución (Li, Yu, & Jaroniec, 2016). Cada tinte tiene una longitud de onda de máxima absorbancia (λ_{max}) característica, que corresponde a la transición electrónica en la molécula del tinte (Palmeira, y otros, 2024). Durante el proceso de degradación, los cambios en la absorbancia en la λ_{max} se monitorean para evaluar la extensión de la degradación del tinte (Srinivasan & Sadasivam, 2021). Una disminución en la absorbancia en la λ_{max} indica la ruptura de los enlaces cromóforos y, por lo tanto, la degradación del tinte (Zhang, Xu, & Wei, 2023). Esta técnica proporciona

información cuantitativa sobre la eficiencia del proceso de degradación y es esencial para comparar la actividad de diferentes enzimas o métodos de tratamiento.

En otras palabras, la absorbancia (A) es un parámetro clave utilizado para medir la cantidad de luz que una solución absorbe, siendo proporcional a la concentración de una sustancia en dicha solución. Este principio se fundamenta en la ley de Beer-Lambert, la cual indica que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de las moléculas absorbentes y a la longitud del trayecto óptico (Saksit, Varinrumpai, & Tanakorn, 2022). En estudios de degradación de tintes, como en el caso del presente trabajo, la absorbancia es un indicador directo de la concentración de tinte en el medio de cultivo. A medida que los microorganismos degradan el tinte, la absorbancia disminuye, reflejando una reducción en la concentración de tinte (Cat-Van & Jay, 2020). Además, el porcentaje de decoloración se utiliza como una métrica cuantitativa para evaluar la eficiencia del proceso de degradación, mostrando el porcentaje del tinte original que ha sido eliminado del medio.

En conclusión, la problemática de la contaminación medioambiental por tintes textiles requiere enfoques innovadores y sostenibles para su mitigación. La investigación sobre la capacidad de degradación de un extracto enzimático de aislados microbianos ofrece una solución prometedora para este desafío. Al integrar conocimientos sobre la química de los tintes, los métodos de tratamiento de aguas residuales y las capacidades biodegradadoras de microorganismos específicos, se pueden desarrollar procesos más eficientes y ecológicos. La evaluación de la decoloración y el análisis de los productos de degradación son esenciales para asegurar la efectividad y seguridad de estos métodos.

Capítulo 2

2.1 Metodología

2.1.1 Ubicación del ensayo

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), situado en el campus Gustavo Galindo de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) en un período comprendido desde mayo a agosto del 2024

2.1.2 Diseño de la Investigación

La investigación se diseñó de manera experimental y se desarrolló en dos fases principales: producción del extracto enzimático y evaluación de la degradación de tintes textiles.

2.1.3 Población

La población del estudio consistió en microorganismos aislados con potencial para la producción de enzimas degradadoras de tintes. Los microorganismos seleccionados para este estudio fueron denotados como C6 y K6.

2.1.4 Muestra

La muestra incluyó cinco tintes textiles suministrados por diferentes empresas: Corazol Orange RD, Corafix Yellow ME4G 150% y Corafix Jet Black GD-R de Colourtex; Remazol Red Sam de Dystar; y Drimaren Azul HFRL de Archroma. Estos tintes se utilizaron para evaluar la capacidad de los extractos enzimáticos producidos por los microorganismos seleccionados en la degradación de los mismos.

2.1.5 Instrumentos de Recolección de Datos

Los materiales químicos, reactivos y equipos necesarios para el diseño experimental y los procedimientos fueron proporcionados por el CIBE. Estos incluyen medios de cultivo, autoclave, espectrofotómetro UV-Vis, centrífuga, entre otros instrumentos y materiales esenciales para llevar a cabo la investigación de manera precisa y controlada.

2.1.6 Fase 1: Producción del Caldo Enzimático

1 Selección y Aislamiento de Microorganismos

Se aislaron microorganismos (C6 y K6) con potencial para producir enzimas degradadoras de tintes.

2 Preparación del Medio de Cultivo Líquido

- **Composición del Medio TSB**

Tabla 2.1.1 Fórmula para 300 ml de agua destilada para TSB

Tryptone	5,1g
DPW	4,5g
NaCl	1,26g
K ₂ HPO ₄	0,75g
Glucosa	0,75g

Nota: El extracto se dividió en tres partes: 125 mL para C6, 125 mL para K6 y 50 mL para control

- **Agar Nutritivo**

Tabla 2.1.2 Fórmula para 150 ml de agua destilada

AN	3,45g
----	-------

3 Inoculación y Fermentación

- El medio de cultivo TSB se inoculó con una suspensión celular de los microorganismos seleccionados, C6 y K6, utilizando un inóculo del 3 % v/v (3850 µL).
- Se incubó a 33°C con una agitación constante de 150 rpm durante 96 h.
- Se monitoreó el crecimiento y la producción enzimática cada 12 h.

4 Recolección del Extracto Enzimático

- Después del periodo de incubación, se centrifugó el cultivo a 7500 rpm durante 20 min.
- Se recogió el extracto enzimático.

5 Concentración de Extracto Enzimático

Con el objetivo de asegurarnos de que el extracto enzimático esté libre de microorganismos, ya que el medio de cultivo rico en nutrientes podría favorecer la reproducción de los mismos, se procedió a concentrar el extracto enzimático mediante diálisis. A continuación, se detalla el procedimiento:

- Se utilizaron tubos de membrana de diálisis con un tamaño de poro de 10,000 Da, los cuales fueron remojados previamente en agua destilada para su activación.
- La membrana se selló realizando dos dobleces en cada extremo, utilizando pinzas para asegurar que el contenido no se escape.
- Los diferentes extractos enzimáticos fueron transferidos a la membrana con la ayuda de una pipeta.
- Se secó cuidadosamente la parte exterior de la membrana utilizando papel absorbente para eliminar cualquier residuo líquido.
- La membrana que contenía el extracto enzimático se sumergió en una bandeja con una azúcar.
- El proceso se dejó durante toda la noche a 4°C o, alternativamente, por 2 horas dependiendo del volumen del extracto enzimático.
- El extracto enzimático concentrado fue recogido cuidadosamente y almacenado a 4°C hasta su uso en las pruebas de degradación de tintes textiles.

2.1.7 Fase 2: Evaluación de la Degradación de Tintes Textiles

1 Preparación de Soluciones de Tintes

Se preparó stocks de 30 mL por cada tinte, Amarillo ME4G, Naranja RD, Negro Jet GDR, Rojo Sam y Azul HFRL, a una concentración de 1000 mg/L. Esto se calculó utilizando la ecuación 2.1

$$1 \text{ g} * \frac{30 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 0.03 \text{ g} \times \text{tinte} \quad (2.1)$$

Para que la concentración se exprese en mg/L, se empleó la siguiente ecuación 2.2

$$\frac{0,03 \text{ g}}{30 \text{ mL}} * \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} * \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 1000 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times \text{concentración stock} \quad (2.2)$$

2 Preparación de medios de cultivo

- **Medio TSB 1:10**

Para determinar la cantidad de medio de cultivo que se debe preparar, primero se consideró el inóculo que se iba a utilizar. Si en cada tubo se colocan 10 mL en total, equivalentes al 100%, y se desea inocular con el 20 % v/v de extracto enzimático, se deben añadir 2 mL de inóculo. Esto se calculó usando la ecuación 2.3:

$$10 \text{ mL} * \frac{20}{100} = 2 \text{ mL} \times \text{inóculo} \quad (2.3)$$

A continuación, se aplica la fórmula de dilución 2.4 para calcular la cantidad de tinte a usar, partiendo de una concentración de 50 mg/L.

$$C_i V_i = C_f V_f \quad (2.4)$$

- Extracto de Microorganismos

$$V_i = \frac{(50 \frac{\text{mg}}{\text{L}})(8 \text{ mL})}{1000 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} = 0,4 \text{ mL} \times \text{tinte} \quad (2.5)$$

Entonces:

$$(2.6)$$

$$TSB \ 1:10 \times \text{microorganismos} = 10 \text{ mL} - 2 \text{ mL} - 0,4 \text{ mL} = 7,6 \text{ mL TSB } 1:10 \times \text{micro}$$

Para los 10 tubos (2 microorganismos, C6 y K6, y 5 colores en total):

(2.7)

$$TSB\ 1:10\ x\ microorganismos = 7,6\ mL * 10\ tubos = 76\ mL\ TSB\ 1:10\ x\ micro$$

○ Control

Se prepararon controles con agua destilada y las mismas concentraciones de tinte, pero sin extracto enzimático:

$$Vi = \frac{(50\ \frac{mg}{L})(10\ mL)}{1000\ \frac{mg}{L}} = 0,5\ mL\ x\ tinte \quad (2.8)$$

Entonces:

(2.9)

$$TSB\ 1:10\ x\ control = 10\ mL - 0,5\ mL = 9,5\ mL\ TSB\ 1:10\ x\ micro$$

Para los 5 tubos de control (5 colores en total):

(2.10)

$$TSB\ 1:10\ x\ control = 9,5\ mL * 5\ tubos = 47,5\ mL\ TSB\ 1:10\ x\ micro$$

○ TSB total a preparar

(2.11)

$$TSB\ 1:10\ Total = 76\ mL + 47,5\ mL = 123,5\ mL \approx 125\ mL\ TSB\ 1:10\ Total$$

Tabla 2.1.3 Fórmula para 125 ml de agua destilada para TSB diluido

Tryptone	0,2125g
Difco Peptone Water	0,1875g
NaCl	0,0525g
K ₂ HPO ₄	0,0312g
Glucosa	0,0312g

3 Configuración de Experimentos de Degradación

- Se separaron en alícuotas los diferentes medios en tubos de 50 mL.
- Luego, se agregó el tinte correspondiente a cada medio, tanto para los extractos de microorganismos (según la ecuación 2.5) como para el control (según la ecuación 2.8).
- Después, se autoclavaron los tubos.

Una vez autoclavados, se inocularon los tubos de cada pigmento en cámara con el extracto enzimático de los microorganismos C6 y K6, con un inóculo del 20 % v/v (2000 μ L), según la ecuación 2.3.

4 Incubación

Las muestras se incubaron a 33°C a 150 rpm, durante 3 días.

5 Preparación de las muestras

• Muestreo

- En la cámara se tomaron 3 alícuotas de cada tubo y se colocaron en tubos Eppendorf.
- Se tomaron muestras de 300 μ L (0.3 mL) de cada alícuota a intervalos de 24 horas para su análisis.

• Centrifugación

- Las muestras se centrifugaron a 4°C, 8000 rcf, durante 20 minutos.

• Recogida del sobrenadante

- Se tomó 100 μ L (0.1 mL) del sobrenadante de cada tubo Eppendorf.
- Se colocó el sobrenadante en las placas de lectura para el espectrofotómetro.

• Medición de absorbancia

- Se leyó la absorbancia de cada muestra a las longitudes de onda específicas determinadas previamente.

6 Monitoreo de la Degradación

- **Método Analítico**

- Se midió la absorbancia de las muestras a las longitudes de onda máximas específicas para cada tinte utilizando un espectrofotómetro UV-Vis.

Tabla 2.1.4 Longitudes de onda estándar para cada tinte

Amarillo ME4G	~430nm
Azul HFRL	~610nm
Naranja RD	~490nm
Negro Jet GDR	~600nm
Rojo Sam	~530nm

7 Cálculo del Porcentaje de Degradación

Se utilizó la fórmula:

$$\%Degradacion = \left(\frac{Ci - Cf}{Ci} \right) * 100 \quad (2.12)$$

Donde:

Ci: Concentración inicial

Cf: Concentración final

Capítulo 3

3.1 Resultados y análisis

En un primer ensayo, se utilizó medio TSB concentrado, y se observó que el tiempo máximo de decoloración de los tintes fue de 15 días. Sin embargo, al analizar los resultados, se concluyó que el tanto el porcentaje como el tiempo de decoloración estaban relacionados con un posible crecimiento bacteriano, que no se evidenció en las pruebas iniciales.

Posteriormente, se realizaron pruebas adicionales limitando las fuentes de carbono y utilizando extractos enzimáticos concentrados. Estos ajustes permitieron obtener resultados que se detallarán a continuación.

3.1.1 Resultados de Decoloración de Tintes en un Medio TSB a 1:10

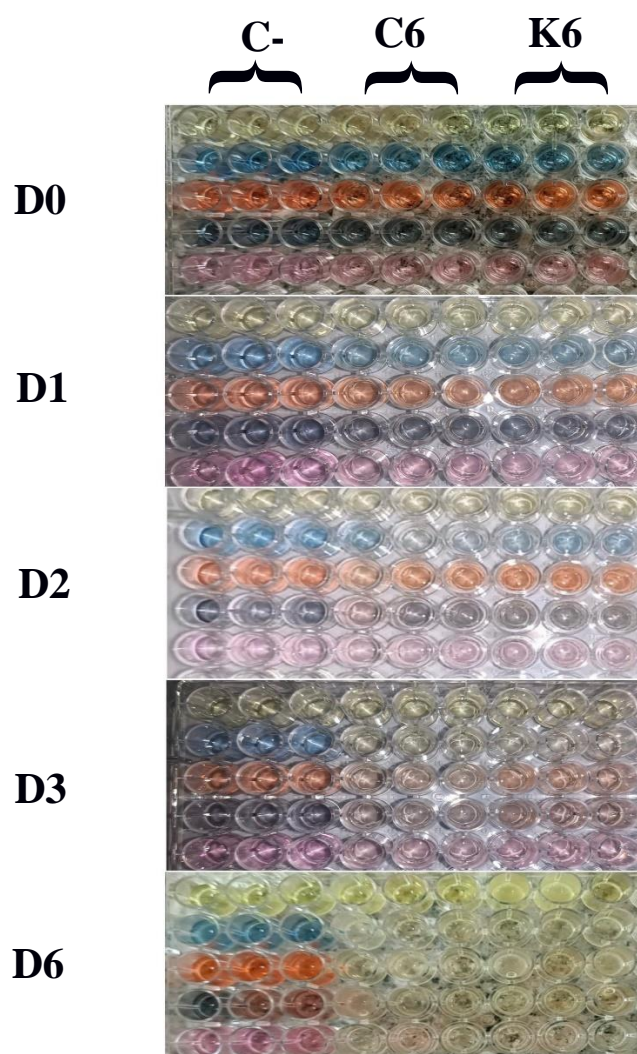
Tabla 3.1.1 Absorbancia y Porcentaje de Decoloración de Tintes Textiles en Diferentes Días de Incubación

Amarillo						
Días	A C-	A C6	A K6	%Decoloración C-	%Decoloración C6	%Decoloración K6
D0	0,204	0,200	0,224	0,000	0,000	0,000
D1	0,196	0,191	0,208	3,764	4,659	7,281
D2	0,190	0,177	0,193	6,710	11,647	13,967
D3	0,192	0,164	0,180	5,728	18,136	19,614
D6	0,187	0,147	0,174	8,183	26,456	22,288
Naranja						
Días	A C-	A C6	A K6	%Decoloración C-	%Decoloración C6	%Decoloración K6
D0	0,329	0,284	0,275	0,000	0,000	0,000
D1	0,326	0,280	0,267	1,012	1,408	3,148
D2	0,323	0,261	0,258	2,024	8,099	6,174
D3	0,310	0,182	0,228	5,769	36,033	17,312
D6	0,301	0,124	0,188	8,603	56,338	31,598
Rojo						
Días	A C-	A C6	A K6	%Decoloración C-	%Decoloración C6	%Decoloración K6
D0	0,165	0,146	0,135	0,000	0,000	0,000
D1	0,162	0,143	0,132	1,815	2,506	2,463
D2	0,158	0,141	0,121	4,637	3,872	10,591
D3	0,156	0,109	0,100	5,645	8,146	13,793
D6	0,155	0,101	0,097	6,250	31,207	28,325
Negro						
Días	A C-	A C6	A K6	%Decoloración C-	%Decoloración C6	%Decoloración K6
D0	0,324	0,271	0,259	0,000	0,000	0,000

D1	0,323	0,267	0,253	0,309	1,355	2,062
D2	0,285	0,183	0,228	11,843	32,512	32,512
D3	0,248	0,120	0,126	9,257	47,529	46,077
D6	0,245	0,109	0,127	24,202	59,852	50,902

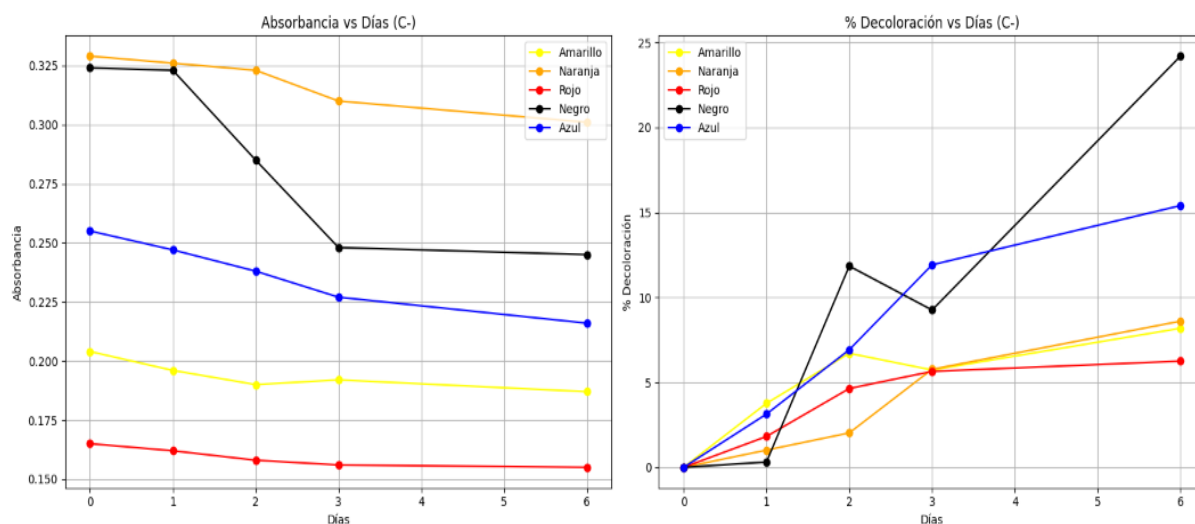
Azul						
Días	A C-	A C6	A K6	%Decoloración C-	%Decoloración C6	%Decoloración K6
D0	0,255	0,210	0,221	0,000	0,000	0,000
D1	0,247	0,202	0,202	3,133	3,651	8,735
D2	0,238	0,135	0,108	6,919	35,714	51,054
D3	0,227	0,068	0,064	11,917	66,935	69,654
D6	0,216	0,065	0,063	15,405	68,889	71,687

Figura 3.1.1 Degradación de Tintes al Transcurso de los Días



3.1.2 Comparación de los Controles de los Tintes

Figura 3.1.2 Comparación de la Absorbancia y Decoloración de Diferentes Tintes en el Control (C-)



Nota. Los datos muestran la absorbancia y el porcentaje de decoloración en función de los días de incubación para diferentes tintes utilizando el control (C-).

En la Figura 3.1.2, el análisis revela tendencias distintas de decoloración en cada tinte durante el período estudiado del control (C-). Para el tinte amarillo, la absorbancia muestra una ligera disminución durante los primeros días, pasando de 0.204 a 0.187 en el día 6, con una decoloración total del 8.183%. La baja tasa de decoloración puede ser atribuida a la estabilidad química del tinte en condiciones normales.

El tinte naranja presenta una tendencia similar, pero con una decoloración algo más pronunciada, alcanzando un 8.603% para el día 6. La absorbancia decrece de 0.329 a 0.301, lo que indica una ligera pero continua degradación, sugiriendo una mayor susceptibilidad a la acción de factores ambientales, posiblemente la fotooxidación, que podría estar contribuyendo a la reducción en la absorbancia.

El tinte rojo muestra una decoloración inicial rápida, con una caída en la absorbancia de 0.165 a 0.155 y un incremento en la decoloración del 6.250% al final del experimento. La

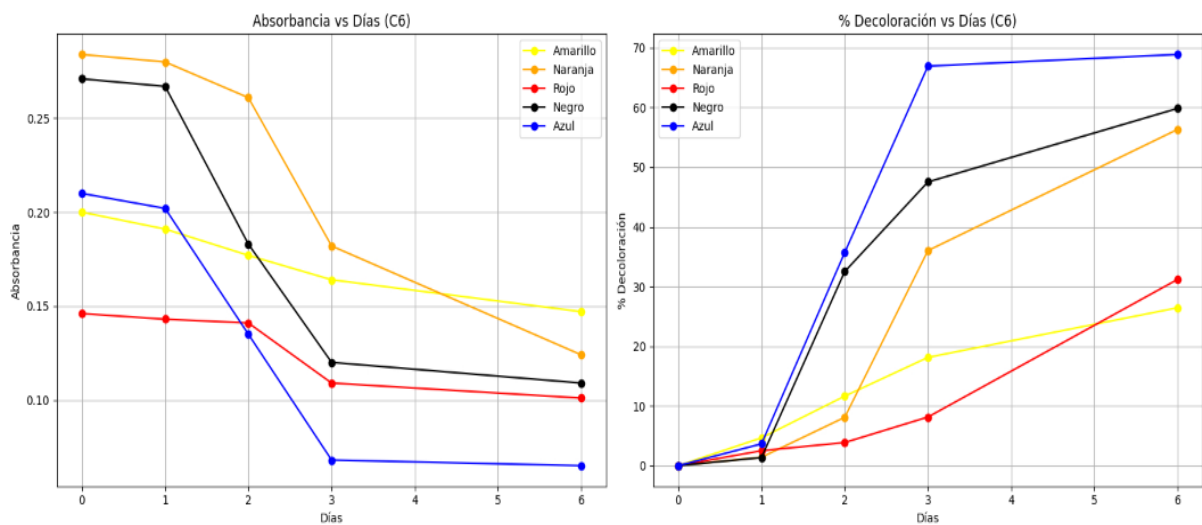
decoloración podría indicar que el tinte rojo tiene una mayor variabilidad en su estabilidad química bajo condiciones de control, posiblemente influenciada por la interacción con componentes del medio o condiciones experimentales.

El tinte negro presenta una caída significativa en la absorbancia, desde 0.324 hasta 0.245, con una decoloración total del 24.202% al día 6. Este alto porcentaje de decoloración sugiere que el tinte negro es el más susceptible a cambios ambientales en el medio de control, lo que podría estar relacionado con su mayor complejidad química y la interacción con la luz, acelerando su degradación a través de procesos como la fotooxidación.

Finalmente, el tinte azul, con una absorbancia inicial de 0.255, muestra una tendencia de decoloración más uniforme y continua, con una disminución a 0.216 y una decoloración del 15.405% al final del experimento. La tendencia sugiere una degradación progresiva pero menos pronunciada en comparación con el negro, indicativa de una estabilidad relativamente alta en condiciones controladas.

3.1.3 Comparación del Extracto Enzimático C6 en los Tintes

Figura 3.1.3 Comparación de la Absorbancia y Decoloración de Diferentes Tintes con el extracto C6



Nota. Los datos muestran la absorbancia y el porcentaje de decoloración en función de los días de incubación para diferentes tintes utilizando en el extracto enzimático C6.

En la Figura 3.1.3, que muestra la absorbancia y el porcentaje de decoloración de los tintes bajo el tratamiento con el extracto enzimático del microorganismo C6, se observan variaciones significativas entre los diferentes tintes a lo largo del tiempo.

El tinte amarillo presenta una absorbancia relativamente alta al inicio del experimento, pero muestra una tendencia clara de disminución en absorbancia y aumento en decoloración a medida que pasan los días, alcanzando una decoloración de aproximadamente 26.456% al día 6. Esto indica que el extracto enzimático tiene una capacidad considerable para degradar el amarillo, pero la degradación es gradual, lo cual puede ser atribuido a la estructura química del tinte y su resistencia a la acción enzimática, que requiere más tiempo para romperse completamente.

El tinte naranja muestra una tendencia similar, aunque con una absorbancia inicial algo menor comparada con el amarillo. A medida que avanzan los días, la decoloración aumenta significativamente, alcanzando aproximadamente 56.338% al día 6. Esto sugiere que el tinte naranja es más susceptible a la acción enzimática en comparación con el amarillo, posiblemente debido a una estructura menos compleja o a una mayor afinidad del extracto enzimático por los compuestos del naranja.

El rojo, en contraste, muestra una absorbancia más baja desde el principio y presenta una decoloración más moderada en comparación con los anteriores, con un máximo de aproximadamente 31.207% al día 6. Esto puede indicar que el tinte rojo es menos reactivo con el extracto enzimático del microorganismo C6, tal vez debido a su estructura química que resulta menos accesible o más resistente a la degradación enzimática.

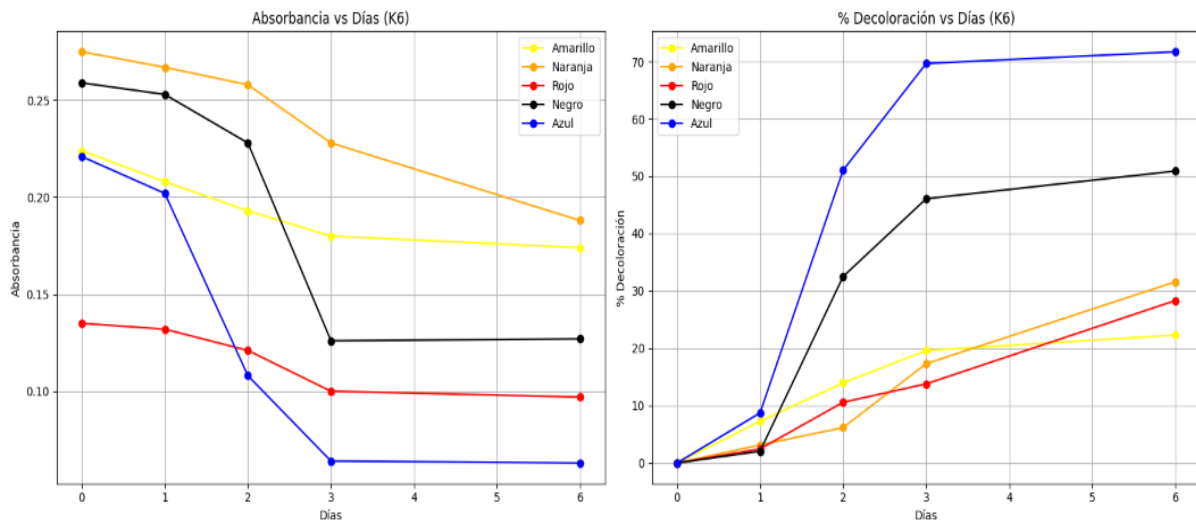
El tinte negro tiene una absorbancia inicial comparable a la de los otros tintes, pero la tasa de decoloración es considerablemente alta, alcanzando alrededor de 59.852% al día 6.

Esta mayor decoloración puede estar relacionada con la complejidad de los compuestos en el tinte negro, que podrían ser más fácilmente degradados por el extracto enzimático debido a una mayor variabilidad en las estructuras químicas presentes en el tinte.

El tinte azul, con la absorbancia más baja desde el principio, alcanza una notable decoloración de 68.889% al día 6. La alta susceptibilidad del azul a la degradación enzimática indica que su estructura química es la más fácilmente descompuesta por el extracto. A pesar de que la decoloración ya es evidente desde el día 3, la medición hasta el día 6 confirma que la eficacia del extracto enzimático es más pronunciada a lo largo del tiempo.

3.1.4 Comparación del Extracto Enzimático K6 en los Tintes

Figura 3.1.4 Comparación de la Absorbancia y Decoloración de Diferentes Tintes con el extracto K6



Nota. Los datos muestran la absorbancia y el porcentaje de decoloración en función de los días de incubación para diferentes tintes utilizando en el extracto enzimático K6.

La Figura 3.1.4 presenta los resultados del análisis de absorbancia y el porcentaje de decoloración de los tintes, empleando el extracto enzimático del microorganismo K6. El

análisis revela diferencias significativas en la eficiencia de decoloración entre los diferentes tintes.

Para el tinte amarillo, la absorbancia disminuye de 0.224 en el día 0 a 0.174 en el día 6. Este cambio corresponde a un aumento en el porcentaje de decoloración desde 0% hasta 22.288%. La rápida reducción en la absorbancia a partir del día 3 y la notable decoloración en el día 6, sugiere una persistente actividad enzimática que sigue descomponiendo el colorante incluso después del día 3.

Para el tinte naranja, la absorbancia se reduce de 0.275 a 0.188, con un aumento en el porcentaje de decoloración de 0% a 31.598%. Desde el día 3, se nota una decoloración significativa, con un porcentaje de 17.312%. La comparación con el amarillo revela que el extracto K6 es más eficiente en la degradación del naranja, posiblemente debido a la estructura química que facilita la acción enzimática.

El tinte rojo muestra una disminución en la absorbancia de 0.135 a 0.097 y un aumento en el porcentaje de decoloración de 0% a 28.325%. En el día 3, el tinte rojo ya presenta un porcentaje de decoloración de 13.793%, destacándose como un color que también responde bien al extracto enzimático, similar al naranja, pero con una eficacia algo menor.

En el caso del tinte negro, la absorbancia baja de 0.259 a 0.127, y el porcentaje de decoloración crece de 0% a 50.902%. A partir del día 3, el tinte negro muestra una decoloración de 46.077%, lo que indica una alta eficiencia del extracto K6 en la degradación de tintes oscuros. Esta capacidad superior sugiere que el extracto enzimático puede descomponer estructuras complejas presentes en tintes oscuros más efectivamente.

Finalmente, el tinte azul presenta la mayor reducción en absorbancia, de 0.221 a 0.063, con un porcentaje de decoloración que aumenta de 0% a 71.687%. A partir del día 3, el porcentaje de decoloración ya es de 69.654%, destacándose como el tinte con la mayor tasa de decoloración.

3.2 Discusión

Tabla 3.2.1 Porcentaje de Degradación de Tintes Textiles Comerciales en Medios de Cultivo

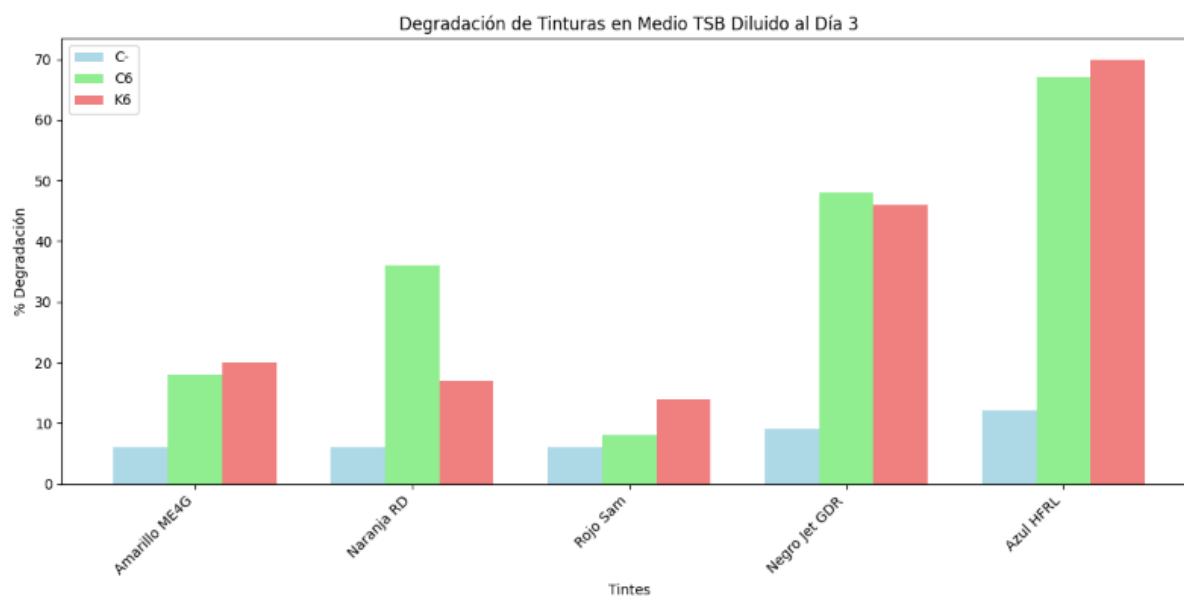
TSB Diluido

Tinte	Medio TSB 1:10		
	% Degradación (C-)	% Degradación (C6)	% Degradación (K6)
Amarillo ME4G	6%	18%	20%
Naranja RD	6%	36%	17%
Rojo Sam	6%	8%	14%
Negro Jet GDR	9%	48%	46%
Azul HFRL	12%	67%	70%

Figura 5

Figura 3.2.1 Degradación de los Tintes en un Medio TSB Diluido al Día 3 por Diferentes

Extractos Enzimáticos



Nota. Los datos reflejan la eficacia de cada extracto enzimático en la degradación de los tintes bajo las condiciones experimentales establecidas.

En la Tabla 3.2.1 y Figura 3.2.1, de degradación mostrada, se observa que los tintes más oscuros, como el Negro Jet GDR y el Azul HFRL, presentan porcentajes de degradación más altos en comparación con los tintes más claros, como el Amarillo ME4G, Rojo Sam y el Naranja RD. Este patrón sugiere que los colores oscuros tienden a ser más susceptibles a la degradación, donde puede explicarse por varias razones relacionadas con la estructura química y la interacción de los tintes con los microorganismos.

Los tintes oscuros, como el negro y el azul, suelen contener moléculas más complejas y extensas que pueden ser más fácilmente atacadas por las enzimas microbianas. Las estructuras más grandes y complejas pueden ser más susceptibles a la acción enzimática porque tienen múltiples sitios activos para la interacción de las enzimas, facilitando así la degradación. Además, los grupos funcionales presentes en los tintes oscuros pueden ser más reactivos o menos estables, lo que podría contribuir a una mayor degradación.

En contraste, los tintes más claros como el amarillo y el naranja tienden a tener estructuras químicas menos complejas y menos grupos funcionales susceptibles a la degradación enzimática. Esto puede resultar en una menor tasa de degradación, ya que las enzimas microbianas pueden tener menos sitios activos disponibles para atacar estos tintes.

En comparación con trabajos anteriores realizados en el CIBE, donde se utilizó el Comassie Blue, los resultados también mostraron una mayor degradación en los tintes oscuros. El Comassie Blue, conocido por su color intenso y estructura compleja, demostró una mayor actividad enzimática y una mayor capacidad de degradación en estudios previos. Esta tendencia refuerza la hipótesis de que los tintes con estructuras químicas más complejas, como los tintes oscuros, son más susceptibles a la degradación enzimática.

Capítulo 4

4.1 Conclusiones y Recomendaciones

4.1.1 Conclusiones

El objetivo de este estudio fue analizar la capacidad de un extracto enzimático derivado de microorganismos aislados para degradar tintes textiles comerciales. Los resultados obtenidos destacan la eficacia de los extractos C6 y K6 en la degradación de tintes, con diferencias en la eficiencia dependiendo del tipo de tinte. A continuación, se presentan las conclusiones más relevantes:

- Los extractos C6 y K6 mostraron una notable capacidad para degradar tintes textiles. Los tintes Azul HFRL y Negro Jet GDR presentaron los mayores porcentajes de decoloración. Es posible que los colores oscuros se degradaran más debido a que el extracto enzimático utilizado en investigaciones anteriores se indujo en Comassie Blue, lo que podría indicar cierta similitud en la estructura química.
- El tiempo necesario para alcanzar una degradación significativa varió según el tinte. Los extractos comenzaron a mostrar actividad degradativa desde el primer día en un medio TSB diluido, con un aumento notable en la tasa de degradación a partir del tercer día. La observación extendida hasta el sexto día permitió obtener una visión completa del proceso de degradación.
- Aunque la degradación fue más alta en el medio TSB concentrado, los extractos enzimáticos en el medio diluido lograron resultados relevantes. Esto indica que los extractos C6 y K6 pueden degradar tintes incluso en condiciones de carbono limitadas.
- Los extractos C6 y K6 tienen una alta resiliencia y adaptabilidad, permitiéndoles degradar tintes textiles bajo diversas condiciones. Esto representa un impacto positivo al reducir la carga contaminante en cuerpos de agua y ofrece la posibilidad de

optimizar procesos en la industria textil para una degradación eficiente de contaminantes en aguas residuales.

4.1.2 Recomendaciones

Para aprovechar al máximo la capacidad de los extractos enzimáticos en la degradación de tintes textiles, es fundamental implementar una serie de estrategias y pasos adicionales. Estas recomendaciones están orientadas a optimizar los procesos de investigación y mejorar la efectividad de la degradación en aplicaciones industriales y futuras investigaciones.

- Para maximizar la degradación de los tintes, es crucial optimizar las condiciones de incubación, como la temperatura, pH y tiempo de incubación. Se sugiere realizar pruebas preliminares para determinar las condiciones óptimas para cada tipo de extracto y tinte.
- Una vez completada las investigaciones respecto a la degradación de los tintes textiles, el siguiente paso serían las pruebas piloto en condiciones que simulen el entorno industrial lo que ayudará a identificar posibles desafíos y ajustar el proceso.
- Después de la revisión general de resultados, se recomienda usar como control positivo el uso de coomasie blue.
- Para futuras investigaciones, se debe considerar la inducción de extractos enzimáticos en pigmentos claros, con el fin de obtener mejoras en la degradación de tintes claros y expandir la aplicabilidad de los extractos enzimáticos a una gama más amplia de tintes textiles.

Referencias

- Ali, E., Amjad, I., & Rehman, A. (2023). *Evaluation of azo dyes degradation potential of fungal strains and their role in wastewater treatment*. Obtenido de Saudi Journal of Biological Sciences: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103734>
- Ardiati, F., Yanto, D., Anita, S., & Watanabe, T. (2019). *Immobilization of Trametes hirsuta D7 in Light Expanded Clay Aggregate for Decolorization of Synthetic Dye*. Obtenido de IOP Science: 10.1088/1755-1315/308/1/012002
- Ayed, L., Mahdhi, A., Cheref, A., & Bakhrouf, A. (2011). *Decolorization and degradation of azo dye Methyl Red by an isolated Sphingomonas paucimobilis: Biototoxicity and metabolites characterization*. Obtenido de Desalination: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.02.024>
- Bharathi, D., Thiruvengadam Nandagopal, J., Ranjithkumar, R., Gupta, P., & Djearamane, S. (2022). *Microbial approaches for sustainable remediation of dye-contaminated wastewater: a review*. Obtenido de Archives of Microbiology: <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02767-3>
- Cat-Van, T., & Jay, R. V. (julio de 2020). *Determination of Specific Absorbance (A') for Six Psychoactive Drugs Encountered in Forensic Toxicology*. Obtenido de Journal of Analytical Toxicology: 10.1093/JAT/BKZ091
- Ceretta, M., Vieira, Y., Wolski, E., Foletto, E., & Silvestri, S. (2020). *Biological degradation coupled to photocatalysis by ZnO/polypyrrole composite for the treatment of real textile wastewater*. Obtenido de Journal of Water Process Engineering: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101230>
- Guadie, A., Tizazu, S., Melese, M., Guo, W., Ngo, H., & Xia, S. (2017). *Biodecolorization of textile azo dye using Bacillus sp. strain CH12 isolated from alkaline lake*. Obtenido de Biotechnology Reports: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.06.007>

- Hsueh, C.-C., & Chen, B.-Y. (2008). *Exploring effects of chemical structure on azo dye decolorization characteristics by Pseudomonas luteola*. Obtenido de Journal of Hazardous Materials: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.10.08>
- Ilyas, S., & Rehman, A. (2013). *Decolorization and detoxification of Synozol red HF-6BN azo dye, by Aspergillus niger and Nigrospora*. Obtenido de Iranian Journal of Environmental Health Sciences & Engineering: <https://doi.org/10.1186/1735-2746-10-12>.
- Iqbala, A., Yusafa, A., Usmana, M., Bokharia, T., & Manshaa, A. (2023). *Insight into the degradation of different classes of dyes by advanced oxidation processes; a detailed review*. Obtenido de International Journal of Environmental Analytical Chemistry: <https://doi.org/10.1080/03067319.2022.2125312>
- Khan, A., Naqvi, S., Ali, I., Farooq, W., Anjum, M., AlMohamadi, H., . . . Liew, R. (2023). *Algal biochar: A natural solution for the removal of Congo red dye from textile wastewater*. Obtenido de Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2023.105312>
- Kim Thoa, L., Phuong Thao, T., Nguyen-Thi, M.-L., Chung, N., Ooi, C., Park, S.-M., . . . Huy, N. (2023). *Microbial biodegradation of recalcitrant synthetic dyes from textile-enriched wastewater by Fusarium oxysporum*. Obtenido de Chemosphere: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138392>
- Kishor, R., Purchase, D., Saratale, G., Romanholo Ferreira, L., Bilal, M., Iqbal, H., & Bharagava, R. (2021). *Environment friendly degradation and detoxification of Congo red dye and textile industry wastewater by a newly isolated Bacillus cohnii (RKS9)*. Obtenido de Environmental Technology & Innovation: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101425>

- Legerská, B., Chmelová, D., & Ondrejovič, M. (2018). *Decolourization and detoxification of monoazo dyes by laccase from the white-rot fungus Trametes versicolor*. Obtenido de Journal of Biotechnology: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.08.011>
- Lellis, B., Fávaro-Polonio, C., Pamphile, J., & Polonio, J. (2019). *Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms*. Obtenido de Biotechnology Research and Innovation: <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>
- Li, X., Yu, J., & Jaroniec, M. (2016). *Hierarchical photocatalysts*. Obtenido de Chemical Society Reviews: <https://doi.org/10.1039/C5CS00838G>
- Mia, R., Selim, M., Shamim, A., Chowdhury, M., Sultana, S., Armin, M., . . . Naznin, H. (2019). *Review on various types of pollution problem in textile dyeing & printing industries of Bangladesh and recommendation for mitigation*. Obtenido de Journal of Textile Engineering & Fashion Technology: 10.15406/jteft.2019.05.00205
- Mohammadifard, A., Allouss, D., Vosoughi, M., Dargahi, A., & Moharrami, A. (2022). *Synthesis of magnetic Fe₃O₄/activated carbon prepared from banana peel (BPAC@Fe₃O₄) and salvia seed (SSAC@Fe₃O₄) and applications in the adsorption of Basic Blue 41 textile dye from aqueous solutions*. Obtenido de Applied Water Science: <https://doi.org/10.1007/s13201-022-01622-6>
- Palmeira, T., Conceição, D., Ferreira, D., Ferreira, C., Vieira Ferreira, L., & Berberan-Santos, M. (2024). *Obtaining triplet-triplet absorption spectra and triplet lifetimes of long-lived molecules with a UV-Visible spectrophotometer*. Obtenido de Journal of Photochemistry and Photobiology: <https://doi.org/10.1016/j.jpap.2024.100226>
- Pandey, A., Pathak, V., Navneet, & Rajput, M. (2024). *A feasible approach for azo-dye (methyl orange) degradation by textile effluent isolate Serratia marcescens ED1 strain for water sustainability: AST identification, degradation optimization and pathway hypothesis*. Obtenido de Heliyon: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32339>

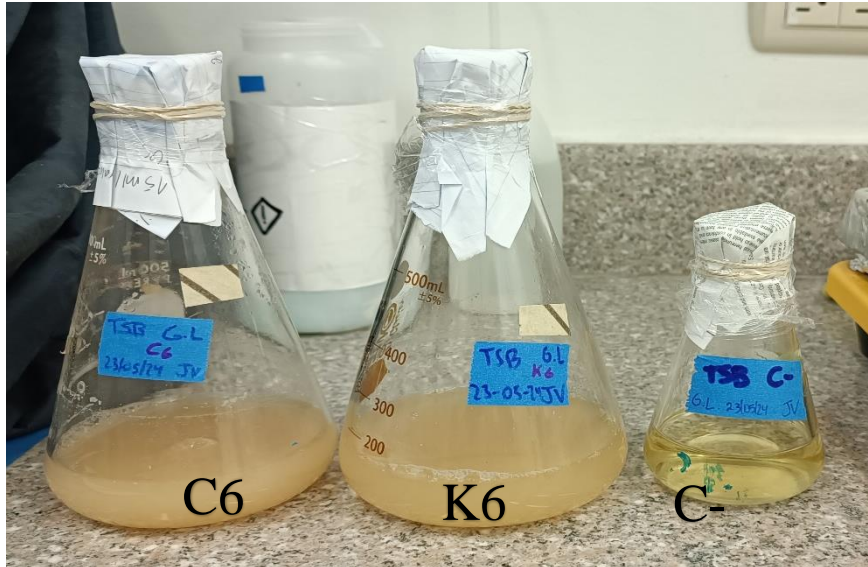
- Pandey, P., Shinde, V., Deopurkar, R., Kale, S., Patil, S., & Pant, D. (2016). *Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery*. Obtenido de Applied Energy: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.01.056>
- R. Ngo, A., & Tischler, D. (2022). *Microbial Degradation of Azo Dyes: Approaches and Prospects for a Hazard-Free Conversion by Microorganisms*. Obtenido de International Journal of Environmental Research and Public Health: <https://doi.org/10.3390/ijerph19084740>
- Saksit, Y., Varinrumpai, S., & Tanakorn, W. (agosto de 2022). *Light Absorbance of Natural Dye Extracted from Local Plants for Dye-Sensitized Solar Cell*. Obtenido de Key Engineering Materials: 10.4028/p-p3z408
- Schuhmacher, L., Heck, S., Pitz, M., Mathey, E., Lamparter, T., Blumhofer, A., . . . Fischer, R. (2024). *The LOV-domain blue-light receptor LreA of the fungus Alternaria alternata binds predominantly FAD as chromophore and acts as a light and temperature sensor*. Obtenido de Journal of Biological Chemistry: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.107238>
- Solaiman, J., Rajamohan, N., Yusuf, M., & Kamyab, H. (2024). *Nanocomposite ceramic membranes as novel tools for remediation of textile dye waste water – A review of current applications, machine learning based modeling and future perspectives*. Obtenido de Journal of Environmental Chemical Engineering: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.112353>
- Song, Y., Wang, L., Qiang, X., Gu, W., Ma, Z., & Wang, G. (2023). *An overview of biological mechanisms and strategies for treating wastewater from printing and dyeing processes*. Obtenido de Journal of Water Process Engineering: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.104242>

- Srinivasan, S., & Sadasivam, S. (2021). *Biodegradation of textile azo dyes by textile effluent non-adapted and adapted Aeromonas hydrophila*. Obtenido de Environmental Research: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110643>
- Yadav, A., Kumar, P., Rawat, D., Garg, S., Mukherjee, P., Farooqi, F., . . . Shyam, R. (2022). *Microbial fuel cells for mineralization and decolorization of azo dyes: Recent advances in design and materials*. Obtenido de Science of The Total Environment: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154038>
- Yanto, D., Auliana, N., Anita, S., & Watanabe, T. (2019). *Decolorization of synthetic textile dyes by laccase from newly isolated Trametes hirsuta EDN084 mediated by violuric acid*. Obtenido de IOP Science: 10.1088/1755-1315/374/1/012005
- Yanto, D., Guntoro, M., Nurhayat, O., Anita, S., Oktaviani, M., Ramadhan, K., . . . Watanabe, T. (2021). *Biodegradation and biodetoxification of batik dye wastewater by laccase from Trametes hirsuta EDN 082 immobilised on light expanded clay aggregate*. Obtenido de 3 Biotech: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02806-8>
- Yuli Yanto, D., Chempaka, R., Nurhayat, O., Argo, B., Watanabe, T., Wibisono, Y., & Hung, Y.-T. (2023). *Optimization of dye-contaminated wastewater treatment by fungal Mycelial-light expanded clay aggregate composite*. Obtenido de Environmental Research: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116207>
- Zhang, L., Xu, Y., & Wei, W. (2023). *Water-soluble organic macrocycles based on dye chromophores and their applications*. Obtenido de Chemical Communications: <https://doi.org/10.1039/d3cc04159j>

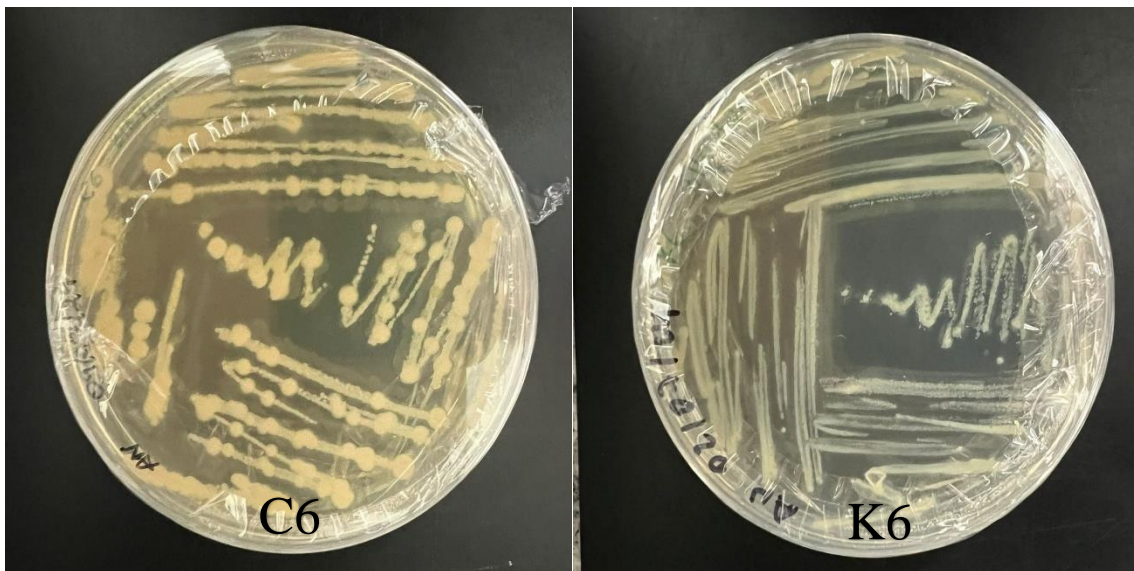
Anexos

Anexo a. Crecimiento de Microorganismos C6 y K6 en Medio TSB, con su respectivo control

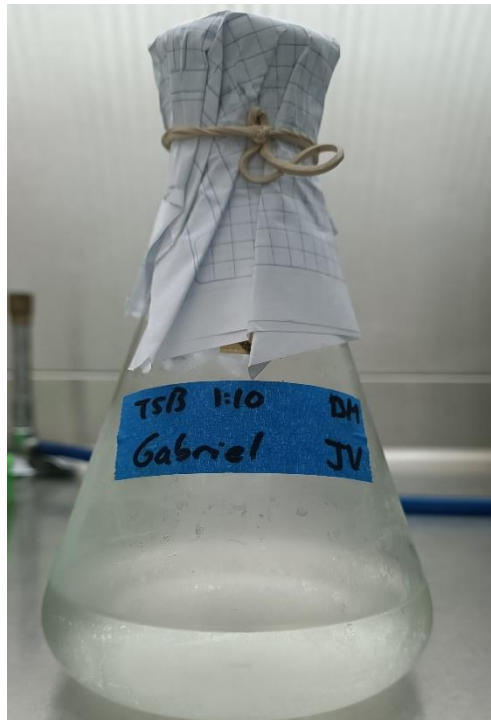
(C-)



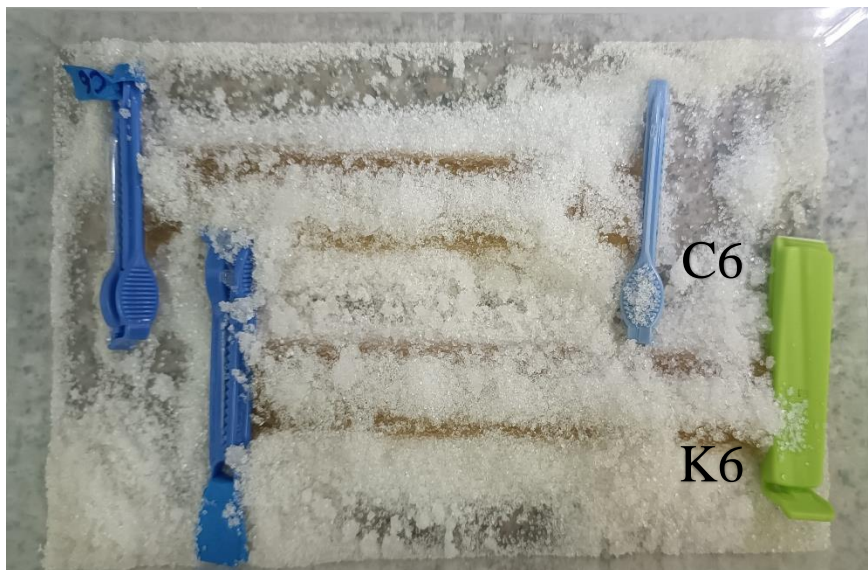
Anexo b. Crecimiento de Microorganismos C6 y K6 en AN



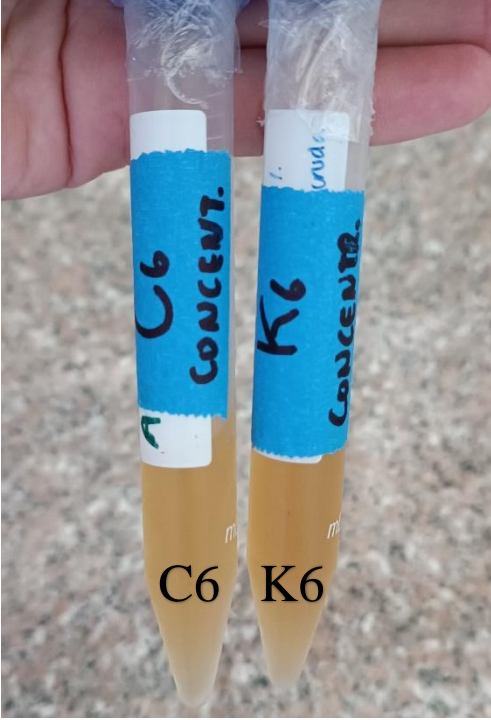
Anexo c. Medio TSB Diluido a 1:10



Anexo d. Concentración del Extracto Enzimático de los Microorganismos C6 y K6 Mediante el Proceso de Diálisis



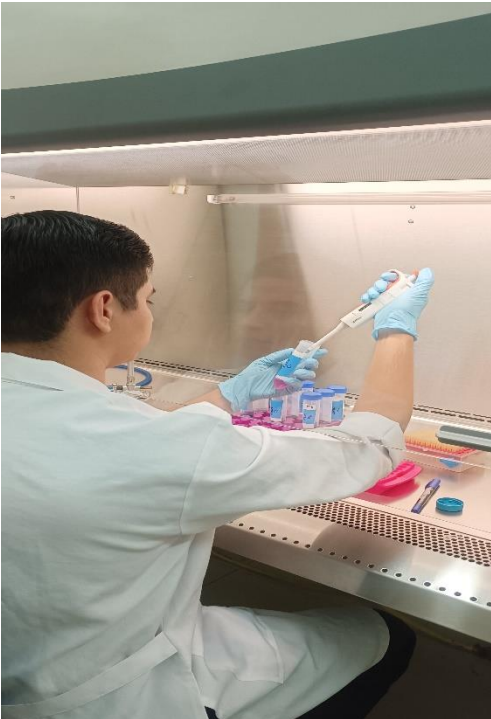
Anexo e. Extractos C6 y K6 concentrados



Anexo f. Observación de los Extractos Concentrados



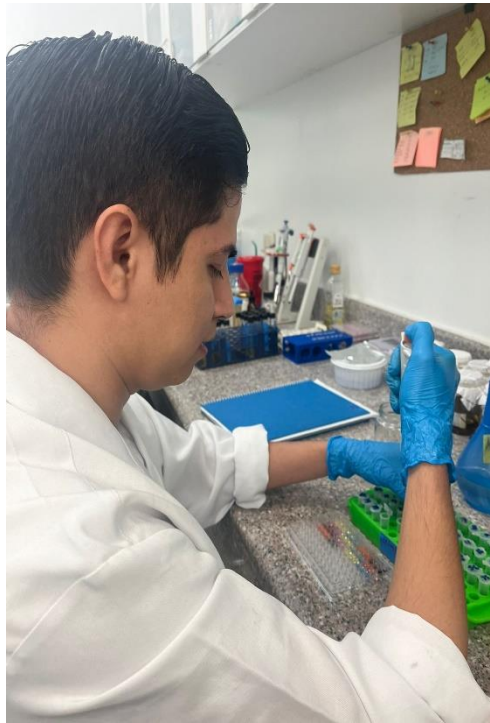
Anexo g. Inoculación del Medio TSB Diluido, con Tintes y Extractos



Anexo h. Centrifugación de Alícuotas Tomadas



Anexo i. Colocación de Alícuotas Centrifugadas en Placa de 96 Pocillos



Anexo j. Lectura de la Placa en el Espectrofotómetro UV-Vis



Anexo k. Incubación



Anexo l. Diseño Gráfico Experimental

