

Evaluación de la remoción de color en efluentes de floricultura, por medio de la inmovilización del hongo Orellana (*Pleurotus pulmonarius*) en reactores airlift.

***Álvaro Eliecer Noreña Acevedo**

***Carlos Andrés Osorio Cortes**

Resumen

La exportación de flores ha sido una alternativa económica muy importante dentro de las actividades comerciales de Colombia, llevándolo a ocupar el segundo lugar a nivel mundial en producción y exportación de flores, sin embargo, algunas de las empresas productoras de flores usan colorantes para teñir sus flores. En muchos casos, el manejo de estos residuos no se dispone adecuadamente, por lo que se generan aguas residuales coloreadas, las cuales, representan una gran problemática ambiental cuando no se tratan de forma eficiente, debido a que son vertidas a los ríos y quebradas, generando posibles afectaciones a la biota acuática. Para el tratamiento de aguas coloreadas existen tratamientos físicos, químicos y biológicos, algunos pueden ser muy costosos; por tanto, en esta investigación se quiere evaluar la remoción de color de efluentes de la industria floricultura, por medio del hongo Orellana (*Pleurotus pulmonarius*) inmovilizado en reactores airlift o lecho fluidizado. Para dicha evaluación, en primera instancia se cultivó el hongo en tres sustratos, lo cuales fueron ripio de café, salvado de trigo, y salvado de maíz, luego se seleccionó el medio de cultivo que favoreció el crecimiento del hongo en el menor tiempo, siendo en este caso el sustrato ripio de café el más exitoso. Finalmente, para el proceso de degradación del colorante se utilizaron tres formas diferentes de inmovilización de la biomasa del hongo; ripio de café, estropajo y alginato de sodio, con los cuales, se obtuvieron remociones de color del 96.28%, 87.85% y

80.54% respectivamente. Evidenciándose, que el tratamiento con hongo inmovilizado en ripio de café y estropajo fueron más eficientes, puesto que estos medios de inmovilización aportan a la remoción de color mediante el proceso de adsorción, lo cual, se cuantifico al usarse el ripio de café y estropajo como tratamientos testigos. Durante esta investigación, se produjo datos muy útiles que pueden ser usados por las industrias de flores, lo que les permitirá producir efluentes con menor impacto a las fuentes hídricas receptoras.

Palabras claves: Flores; colorantes; Hongos; *Pleurotus pulmonarius*; Sustratos; inmovilización; Enzimas.

Abstract

The export of flowers has been a very important economic alternative within the commercial activity of Colombia, taking it to occupy the second place worldwide in the production and export of flowers, however, some of the flower producing companies use dyes to dye their flowers. These dyes are not used efficiently, therefore colored wastewater is generated, which, if not properly treated, represents a major environmental problem because they are discharged into rivers and streams, generating possible damages to the aquatic biota. For the treatment of colored waters, there are physical, chemical and biological treatments, some can be very expensive, therefore, in this research, we want to evaluate the color removal of effluents from the floriculture industry, through the immobilized Orellana fungus (*Pleurotus pulmonarius*) in airlift or fluidized bed reactors. For this evaluation, in the first instance, the fungus was grown in three substrates, which were coffee gravel, wheat bran, and corn bran, then the culture medium that favored the growth of the fungus in the shortest time was selected, being in this case, the gravel coffee substrate is the most successful. Finally, for the dye degradation process, three different forms of immobilization of the fungus biomass were

used; coffee gravel, scouring pad and sodium alginate, with which the color removals were 96.28%, 87.85% and 80.54% respectively. Evidencing that the treatment with fungus immobilized in coffee gravel and scouring pad was more efficient, since these means of immobilization contribute to the removal of color through the adsorption process, which was quantified when using the coffee gravel and scouring pad as witness treatments. During this research, very useful data was produced that can be used by the flower industries, which will allow them to produce effluents with less impact on the receiving water sources.

Keywords: Flowers; dyes; Mushrooms; *Pleurotus pulmonarius*; Substrates; immobilization; Enzymes.

Introducción

El origen de la industria de flores en Colombia data de la década de los 60, donde en 1965, se exportó el primer cargamento de flores hacia EE. UU (Marin & Rangel, 2000), desde entonces, las actividades relacionadas con exportación de flores se han convertido en uno de los principales generadores de divisas para el país, luego de la minería, el café e hidrocarburos (Torres, 1993). Según el Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE, (2019) esta actividad generó 1470,6 millones de dólares, producto de la exportación de flores en el año 2018 , lo cual, ha llevado a Colombia a ocupar el segundo lugar a nivel mundial en el escalafón de los países productores y exportadores de flores (Sánchez & Quintero, 2010), esto debido a la gran demanda de países como los Estados Unidos, al cual se dirige el 80% de la flores producidas en Colombia (Mesa, 2015).

Colombia cuenta con 7290 ha de cultivos de flores que se dedican a la cosecha de flores frescas para exportación, de esta área el 79% se encuentra ubicada en la Sabana de Bogotá, el 17% en Antioquia y 4% en otros departamentos (DANE 2019). Para el caso de Antioquia, se encuentran inscritos ante el ICA 270 empresas para la exportación de flores (ICA, 2019). En donde, el Oriente Antioqueño representa el epicentro de las empresas destinadas a la producción de flores, distribuidas en un 94% en la subregión del valle de San Nicolás y un 6% en la subregión de Páramos, donde la mayoría de las empresas se dedican al cultivo de hortensia (Cornare, 2016) y crisantemos (Cárdenas & Rodríguez, 2011).

Sin embargo, la exigencia en calidad de los mercados internacionales ha impulsado desde el inicio el desarrollo de tecnologías y procesos en la etapa de post-cosecha, tales como técnicas de coloración de flores (Quirós, 2001; Montero & Quintero, 2010), esto con el fin de otorgarle un valor agregado a la flor y así satisfacer la demanda de colores que desean los mercados internacionales (Mesa, 2015). Uno de los métodos más usados en los procesos de tinción es el de absorción, en donde se sumerge la zona basal del tallo en un recipiente con colorante, y por principios de capilaridad y de requerimientos hídricos de la planta, esta absorbe el colorante (Giraldo, 2017). No obstante, la flor no absorbe el total de los colorantes, convirtiéndose este en un residuo a tratar, el cual podría llegar a los cuerpos de agua naturales (Montero & Quintero, 2010).

Los colorantes sintéticos más usados en este proceso de tinción son colorantes reactivos, azo, diazo y antraquinona (Rani *et al.*, 2014); la producción anual de estos tintes es aproximadamente 7×10^5 toneladas y hay una variedad de 100000 tintes comerciales y pigmentos sintéticos en las industrias textiles, curtiembres, floricultoras, papeleras, alimentarias, de laboratorio, entre otros (Ramos 2010), de los cuales, cerca del 50% llegan a

los efluentes industriales y por consiguiente a los cuerpos de aguas naturales (Rani *et al.*, al 2014). La presencia de los colorantes en los sistemas de aguas superficiales genera cambios en las propiedades físicas y químicas del agua, como déficit de penetración de luz, bajos niveles de oxígeno, cambios en color y olor, afectando las comunidades biológicas, lo cual, conlleva a un desequilibrio ecológico y deterioro de los cuerpos de agua (Dellamatrice *et al.*,2016). Y según Rodríguez (2018), las concentraciones de colorantes en los efluentes industriales son de alrededor de 300 mg/L, sin embargo, se establece que a partir de 1 mg/L el color comienza a ser notable en los sistemas hídricos, lo que genera, cambios en la percepción del paisaje y en la calidad de vida de las personas aledañas a los cuerpos de agua contaminados.

Colombia, cuenta con una amplia normativa en pro de conservar los recursos naturales, destacándose: el Decreto 1594 de 1984, la Constitución política de Colombia de 1991, la Ley 99 del 1993, el Decreto 1449 de 1997, el Decreto 3930 de 2010 y la Resolución 0631 del 2015 (Cobo, 2016). Sin embargo, aunque toda esta leyes busca la preservación de los recursos naturales, en ninguna de ellas se establece un limitante para el vertimiento de los colorantes o se exige un rango de remoción de color, solo en la Resolución 0631 del año 2015 se pide realizar un análisis y reporte de lo que se está vertiendo (Minambiente, 2015); (Ministerio de Agricultura, 1984) ; razón por la cual, las empresas no realizan una eficiente remoción de este parámetro.

Según Ramos (2010), algunos de los métodos para el tratamiento de aguas coloreadas pueden ser procesos fisicoquímicos o biológicos. Dentro de los procesos fisicoquímicos se encuentran las membranas de filtración, neutralización, coagulación, destrucción electroquímica, ozonización, adsorción por carbón, entre otros. Cabe resaltar, que el

tratamiento de adsorción por carbón activado es reconocido a nivel mundial como una de las tecnologías más eficientes en remoción de colorantes. Sin embargo, estas tecnologías no están al alcance de muchas empresas debido a su complejidad de uso y costo, dado a esto, se han realizado múltiples investigaciones sobre otros métodos de tratamientos, como procesos de biorremediación, usando bacterias y hongos (Rojas & Hormaza, 2015). En el caso de los hongos, estos poseen enzimas ligninolíticas tales como las lacasas, las peroxidasas de lignina, manganeso peroxidasas, las cuales, han dado importantes resultados en la degradación de contaminantes recalcitrantes, debido a que dichas enzimas oxidan los diferentes sustituyentes y los anillos aromáticos de los colorantes (Pearce, Lloyd, & Guthrie, 2003) & (Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez, 2009).

Por tanto, las alternativas biológicas para el tratamiento de aguas coloreadas han demostrado a nivel investigativo ser viables para la remoción de colorantes, los cuales, no son posible tratarlos en una planta de tratamiento de agua residual convencional, puesto que dichos colorantes son diseñados para ser resistentes a la radiación, la oxidación por parte de algunos compuestos químicos y la acción de los microorganismos típicos de tales sistemas de tratamientos (Martínez *et al*, 2010). Es así, como la presente investigación, se quiere evaluar la capacidad del hongo Orellana (*Pleurotus pulmonarius*) en la remoción de color en efluentes de la industria floricultora en reactores airlift.

Metodología

Propagación del hongo. Para la multiplicación del micelio de Orellana (*Pleurotus pulmonarius*), inicialmente se clonó el hongo de manera *in vitro* en cajas Petri con extracto de

malta, luego de la colonización total de la caja Petri (Figura 1), se cultivó de forma *ex vitro* en tres sustratos, ripio de café, salvado de maíz y de trigo, con el fin de identificar qué sustrato permitiría un mayor crecimiento del hongo en el menor tiempo. Para lo cual, se utilizó 200 g de cada sustrato con una humedad del 50% en bolsas de polipropileno, luego se esterilizaron en autoclave a una temperatura de 120 °C y una presión de 103 kPa. Posteriormente, se adicionó micelio de la clonación *in vitro* a los tres sustratos y se incubaron a una temperatura de 24 °C; el tiempo de incubación dependió del periodo de tiempo que le tomaba al hongo colonizar los diferentes sustratos y así determinar que sustrato era el más adecuado, de manera que, permitiera el desarrollo del hongo en un menor tiempo (Ríos-Ruiz, 2017).

Inmovilización del hongo en los reactores airlift. Con el micelio obtenido del mejor sustrato, se realizó la inmovilización del hongo en el reactor con el efluente, implementado tres tratamientos diferentes:

- El primer tratamiento es la inmovilización en el sustrato que favorece el crecimiento del hongo, dado a que los hongos están adheridos al sustrato, esto se considera ya una inmovilización (Gómez Bertel *et al.*, 2008), para este caso se utilizó 150 g de micelio.
- El segundo tratamiento, consta de inmovilizar el hongo en estropajo para garantizar un mayor contacto hongo-efluente debido a la porosidad de este material lignocelulósico (Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez, 2009), para esta inmovilización, se cultivó el hongo en el mejor sustrato junto a el estropajo y una vez colonizado se utilizó en el reactor, garantizando que se tengan 150 g de micelio, restando del peso total el peso del estropajo seco.
- El tercer método, es un proceso de inmovilización usando alginato de sodio, el cual consiste en preparar dos soluciones, la primera solución consta de una

mezcla de ácido algínico con agua destilada a una concentración del 4%, y la segunda solución se prepara con Cloruro de Calcio (CaCl_2) en agua destilada a una concentración del 2 % (Khoo & Ting, 2001). Para la inmovilización del hongo en alginato, se sumergió el micelio en la solución de ácido algínico, posteriormente se retiró y se repitió el procedimiento con la segunda solución de CaCl_2 , al sacar el hongo de la última mezcla éste estaría inmovilizado en esferas de alginato; dicho procedimiento se repitió hasta obtener un peso de 150 g de hongo para cada uno de los reactores.

Diseño experimental. Se trabajó con un diseño completamente al azar, con el fin de conocer cuál era el mejor sustrato para el cultivo del hongo y que tratamiento de inmovilización favorecía la remoción de color.

Para determinar el mejor sustrato, se implementaron tres tratamientos y tres réplicas, donde los tratamientos fueron los tres tipos de sustratos, y la variable de respuesta fue el tiempo de colonización de este.

Así mismo, para determinar el mejor método de inmovilización del hongo, se utilizaron tres tratamientos (alginato de sodio, ripio de café y estropajo), en donde cada uno contaba con tres réplicas; dichos tratamientos se usaron en los reactores en presencia del colorante, y se evaluó el porcentaje de remoción de color de cada uno.

Además, se evaluaron dos tratamientos control dentro de los reactores con el colorante: el ripio de café y el estropajo; los cuales, no contaban con la presencia del micelio del hongo. Cabe resaltar que todos los ensayos en el reactor duraron 6 días.

Obtención y análisis de datos. se tomaron muestras diarias de los tratamientos de inmovilización antes mencionados, con el propósito de cuantificar la medida de absorbancia

(Abs) usando el espectrofotómetro. Mientras, que para determinar la longitud de onda se estableció el espectro de absorción del colorante y se eligió la longitud de onda del pico máximo de absorbancia.

Para determinar el porcentaje de remoción se cuantificó por medio de la ecuación 1, de acuerdo con la metodología utilizada por Sukumar (1)

Los datos fueron analizados estadísticamente a partir de un análisis de varianzas (Anova) y una comparación por grupos homogéneos en el software estadístico R Wizard versión 4.3, en donde si el valor p era menor a 0.05 se aceptaba que había diferencias significativas entre los tratamientos comparados, siempre y cuando los supuestos de la Anova se cumplieran, es decir que presentara un valor p mayor a 0.05. Y en caso de que los datos no cumplieran los supuestos de Normalidad (Shapiro wilk), igualdad de varianzas (Breusch-Pagan) e independencia de lo residuales (Durbin-Watson), los cuales son los necesarios para validar la Anova, se realizaría transformaciones de los datos mediante las funciones como $\ln(x)$, x^2 , \sqrt{x} , $1/x$ (Martín, Cabero & Rosario de Paz Santana, 2007). Consecuentemente, si los datos aun con transformación no cumplían los supuestos mencionados, sería necesario aplicar una prueba no paramétrica como la de Kruskal-Wallis, para establecer si existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

Resultados

La clonación del hongo Orellana (*Pleurotus pulmonarius*) de forma *in vitro*, demoró una semana en colonizar el agar extracto de malta en las cajas de Petri, tal como se observa en la figura 1.



Figura 1. Micelio de la Orellana, clonado e incubado por una semana

A partir de este micelio, se realizó el cultivo de forma *ex vitro*, en los diferentes sustratos, en la figura 2 se puede evidenciar que el sustrato que favoreció el crecimiento del hongo en menor tiempo fue el ripio de café, debido a que el hongo para llevar a cabo la colonización total de los 200 g de este sustrato que contenía un 50% de humedad, tomó máximo 25 días, dicho sustrato colonizado se puede observar en la figura 3. Mientras que el sustrato salvado de maíz y salvado de trigo resultaron ser los menos factibles en cuanto a tiempo para realizar este proceso, debido a que requieren hasta 35 y 38 días respectivamente para que el hongo colonice los sustratos.

Adicionalmente, se confirmó que existen diferencias estadísticas significativas en los tiempos de colonización de los sustratos, donde el sustrato ripio de café presenta diferencias con el salvado de trigo y maíz, puesto que la prueba ANOVA presenta un valor $p= 0.00143$.

Además, los supuestos Shapiro-Wilk, Breusch-Pagan y Durbin-Watson se cumplen con valores p igual a 0.2621, 0.7295 y 0.5331 respectivamente.

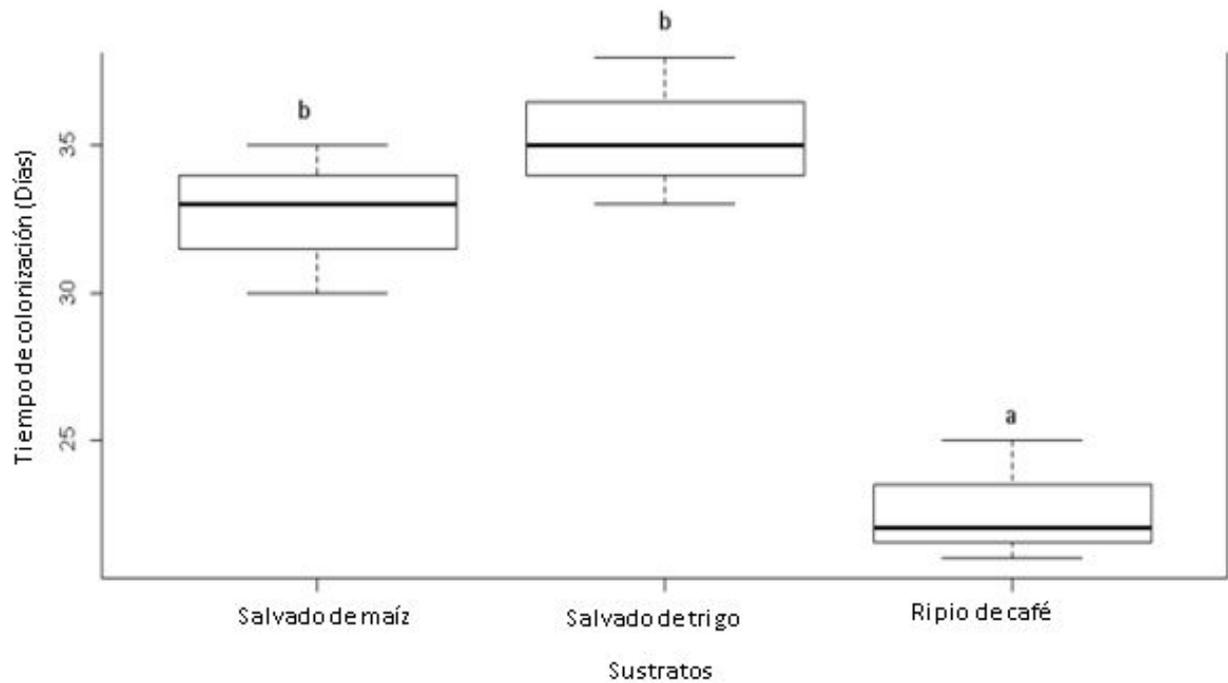


Figura 2. Tiempo de colonización de los sustratos salvado de maíz, trigo y ripio de café por parte del micelio de *Orellana*. Comparación por grupos homogéneos.



Figura 3. Colonización del hongo en ripio de café.

El micelio obtenido a partir del ripio de café, el cual fue el sustrato más exitoso se utilizó para las inmobilizaciones en estropajo, alginato y los montajes en el reactor airlift junto al colorante, tal y como se puede observar en la figura 4 y 5 respectivamente.

A

B

Figura 4. A) Inmovilización del micelio en alginato, B) Inmovilización del micelio en Estropajo





Figura 5. Reactores airlift con el agua coloreada y la biomasa listos para iniciar la biodecoloración

Además, se resalta que el agua residual con la que se realizó esta investigación, es proveniente de actividades de tinturado de una industria floricultura, y es una mezcla de varios colorantes, los cuales no se caracterizaron. Sin embargo, al efluente se le realizó un espectro de absorción (figura 6), donde se eligió la longitud de onda de 630 nm, con un pico de absorbancia, cuyo valor inicial fue de 2.858, y con el cual, se determinó el porcentaje de remoción.

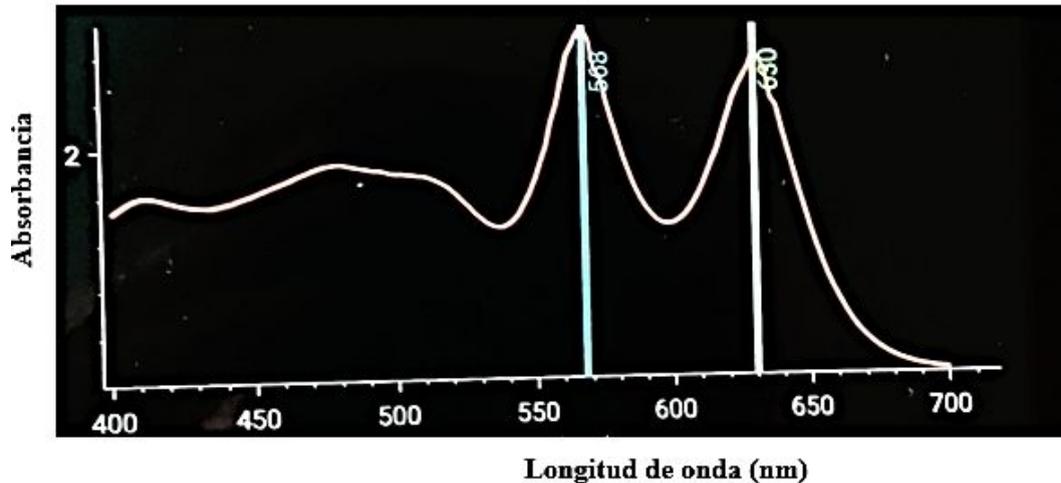


Figura 6. Espectro de absorción para el efluente.

En la Figura 7, se observa la capacidad que tiene el hongo orellana (*Pleurotus pulmonarius*) bajo los tres métodos de inmovilización en la remoción de color durante un periodo de tiempo de 6 días. Además, se puede observar cómo los tratamientos testigos usando estropajo y ripio de café, ambos sin presencia de hongo, logran generar remoción de color probablemente por el proceso de adsorción que generan los sustratos.

Adicionalmente, se observa porcentajes significativos de remoción de color en el día uno, con valores hasta de 92.43 % para el caso del ripio de café, lo que representa tiempos de residencia bajos en el reactor para lograr una alta remoción; dicha remoción mediante la inmovilización en ripio de café puede visualizarse en la figura 7.

A medida que se incrementa el tiempo de exposición, la remoción de color por parte del hongo estando inmovilizado tanto en ripio de café y en estropajo, tiende a volverse constantes (figura 7), debido, a que las variaciones con respecto al porcentaje de remoción inicial son mínimas. Sin embargo, se observan porcentajes finales de remoción considerables con cifras cercanas a 96.28 % para el tratamiento con ripio de café y 87.85% en el tratamiento con estropajo; por su parte, la remoción mediante la inmovilización del hongo en alginato aumenta para el día 6 cerca de un 33 % por encima del valor obtenido en el día uno,

permitiendo obtener una remoción final del 80.54 %. Además, los tratamientos testigos estropajo y ripio de café, influyen de forma positiva en la remoción de color, con porcentajes de remociones de 4.53% y 26.68% respectivamente.

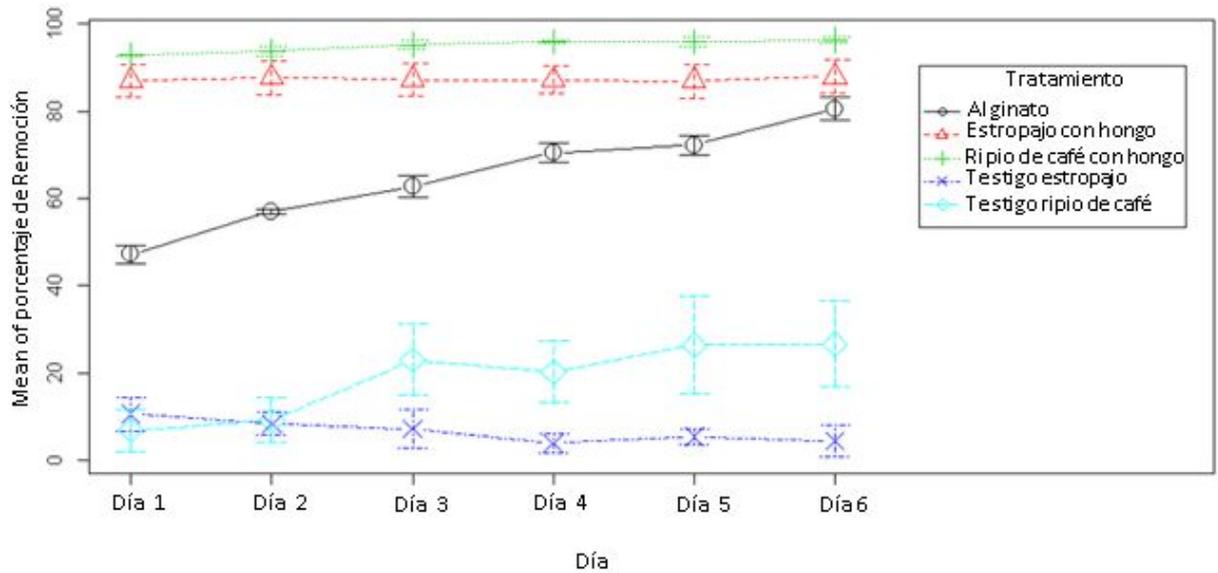


Figura 7. Remoción del color bajo los diferentes tratamientos.

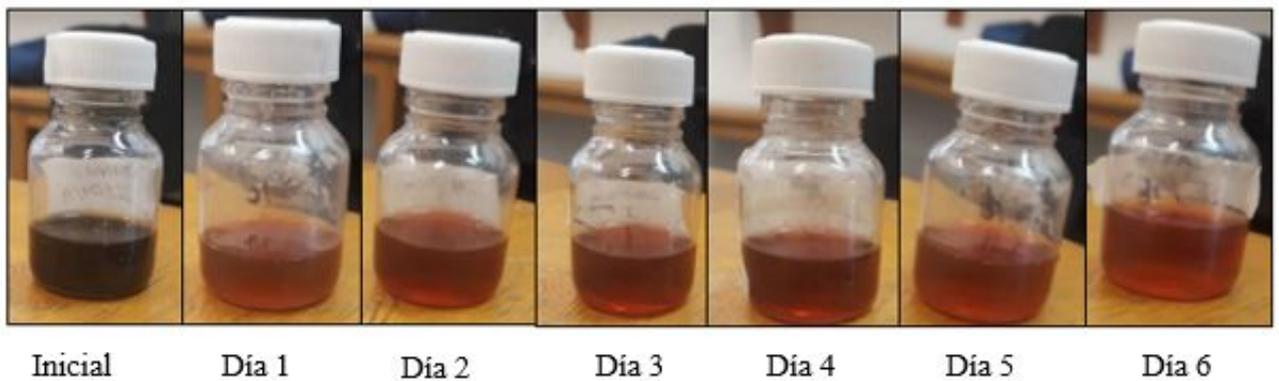


Figura 8. Remoción de color mediante la inmovilización en ripio de café.

En la figura 9, se puede observar que existen diferencias estadísticas significativas en los tratamientos, puesto que la prueba Kruskal-Wallis presenta un valor $p < 2.2^{-16}$, el cual es

menor a 0.05. En el anexo 2 se puede observar que para este caso la ANOVA no se cumple para los datos ni para las transformaciones, por lo que se usó la prueba Kruskal-Wallis, sin embargo, se puede identificar que no existen diferencias estadísticas en los tratamientos de hongo inmovilizado en ripio de café y el hongo inmovilizado en estropajo (d).

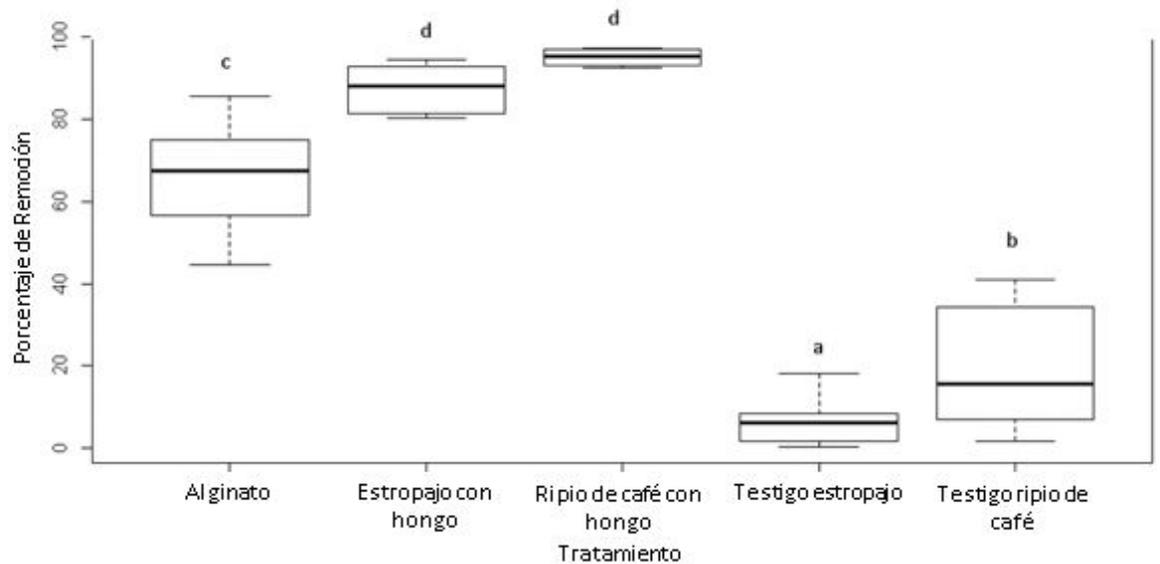


Figura 9. Porcentaje de remoción de color mediante los diferentes tratamientos. Comparación por grupos homogéneos.

En la tabla 1, se puede observar el comportamiento inicial y final de algunas variables fisicoquímicas como pH, O₂, saturación de O₂, conductividad y Sólidos disueltos de los diferentes tratamientos, con el fin de identificar las variaciones en sus valores producto de la actividad enzimática del hongo durante la remoción de colorante y así determinar, si después del tratamiento del efluente, este es óptimo para la descarga a los cuerpos de agua naturales y cumple con la normativa legal vigente en tema de vertimientos o se debe realizar otros tratamientos para cumplir dichas normas.

Tabla 1. variables fisicoquímicas para los diferentes tratamientos empleados para remover el color.

Tratamientos	pH		O2 mg/l		% saturación		conductividad us/cm		SD mg/l	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Ripio de café con hongo	6.1 ± 0.1	4.16 ± 0.18	5.55 ± 0.1	5.8 ± 0.85	80.1 ± 0.1	84 ± 12.35	392 ± 0.1	667.67 ± 128.70	209.1 ± 0.1	358.67 ± 51.43
Alginato	6.1 ± 0.1	4.33 ± 0.42	5.55 ± 0.1	6.74 ± 1.56	80.1 ± 0.1	91.35 ± 15.86	392 ± 0.1	1903.67 ± 235.30	209.1 ± 0.1	1088 ± 122.05
Estropajo con hongo	6.1 ± 0.1	5.16 ± 0.49	5.55 ± 0.1	6.26 ± 1.24	80.1 ± 0.1	91.33 ± 17.21	392 ± 0.1	748 ± 191.80	209.1 ± 0.1	394 ± 104.99
Testigo estropajo	6.1 ± 0.1	6.81 ± 0.69	5.55 ± 0.1	8 ± 0.89	80.1 ± 0.1	112.33 ± 11.35	392 ± 0.1	613.33 ± 47.06	209.1 ± 0.1	328 ± 25.24
Testigo ripio de café	6.1 ± 0.1	6.03 ± 0.07	5.55 ± 0.1	7.19 ± 0.19	80.1 ± 0.1	103.47 ± 3.13	392 ± 0.1	863.33 ± 5.77	209.1 ± 0.1	468.33 ± 4.73

Las reacciones por parte de la actividad enzimática del hongo para llevar a cabo la remoción de color en los tres métodos de inmovilización, contribuyó a acidificar el medio, a comparación de los tratamientos testigos como estropajo y ripio de café, los cuales, no modificaron significativamente el valor de pH. Por su parte, en cada uno de los tratamientos se presenta un aumento de las variables conductividad y sólidos disueltos, incluso en los tratamientos testigos.

Discusión

En esta investigación el sustrato que favorece al crecimiento del hongo, es el ripio de café, puesto que el hongo colonizó todo el sustrato en un periodo de tiempo de 25 días, siendo el menor tiempo comparado con los demás sustratos, como se observa en la figura 2, lo cual coincide con el estudio de Cárdenas (2017), donde el ripio de café presentó el menor tiempo de colonización por parte del hongo *Pleurotus Ostreatus* en un tiempo de 28 días, en dicho estudio el ripio de café fue comparado con los sustratos bagazo de caña de azúcar, hoja

de plátano y tallo de maíz. Esto se debe, a que los hongos de podredumbre blanca como el *Pleurotus spp* en su fase de crecimiento prefieren los carbohidratos, la celulosa y la lignina, dichos compuestos le permiten al hongo obtener el carbono para la formación de biomasa (Cárdenas, 2017). Además, según Ramos (2010) el ripio de café o borra de café está compuesto principalmente por ácidos grasos, proteínas, ácidos clorogénicos, carbohidratos y pequeñas trazas de cafeína, favoreciendo el crecimiento del hongo. Mientras que, la composición de los otros dos sustratos evaluados en esta investigación, es principalmente fibra insoluble lignificada, proteínas y en menor proporción lípidos (Chaquilla-Quilca *et al*, 2018), por lo que, no se encuentran los nutrientes que prefieren este tipo de hongos para su crecimiento.

Además Diaz & Carvajal (2014) en un cultivo del hongo *pleurotus ostreatus* plantean, que los hongos en el proceso de descomposición aeróbica de la materia orgánica requieren mayor presencia de carbono que de nitrógeno, sin embargo los sustratos de salvado de trigo y maíz presenta una alta concentración de nitrógeno, lo que genera una competencia en el crecimiento del hongo, debido a que esto favorece la contaminación del medio de cultivo, por la proliferación de bacterias que se ven favorecidas por el nitrógeno y las proteínas, puesto que, la concentración aproximada de proteínas en el salvado de trigo y de maíz es de 17.6 % y 23.3% respectivamente (Obando *et al*, 1983).

Por otro lado, en el proceso de remoción de color pueden presentarse diferentes fenómenos tales como adsorción y transformación por parte de las enzimas producidas por el hongo (Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez, 2009). En este sentido, la producción de la biomasa influye directamente en la remoción de color, puesto que Kapoor & Viraraghavan

(1995), indican que estos tipos de microorganismo de forma independiente a su metabolismo puede llevar a cabo este proceso por medio de bioadsorción gracias a que la pared celular del hongo contiene quitina, quitosano y glucanos, que debido a su carga negativa se pueden unir por intercambio iónico a muchos tipos de colorantes. Por tanto, la eficiencia de la biomasa va a depender del medio y de las condiciones del cultivo, lo cual permitirá que la biomasa de hongo pueda ser empleada como bioadsorbente natural y fácil de obtener (Coulibaly, Gourene, & Agathos 2003).

Kapoor & Viraraghavan (1995) y Gómez-Bertel *et al*, (2008) en sus investigaciones determinaron que los colorantes de las aguas residuales son removidos por procesos de adsorción, lo cual, permite establecer que posiblemente los altos valores de remoción que se obtuvieron en la figura 7, se deba a la influencia de la adsorción por la biomasa del hongo.

Mientras, en investigaciones realizadas por Medina (2018) & Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez (2009) establecen, que los hongos lignolíticos permiten remover colorantes (azo, trimetilmetano, antraquinona) provenientes de diferentes industrias con porcentajes de remoción entre el 90% y 100%, en un periodo de tiempo entre 7 y 20 días, lo cual depende de las condiciones del medio, el colorante y la concentración. Por tanto, a pesar de que en la figura 7 se observa que al cabo del sexto día se lograron obtener porcentajes de remoción de 96,28%, 87,85 % y de 80,54% con el hongo inmovilizado en ripio de café, estropajo y alginato respectivamente, dichos valores hubieran sido un poco mayor si los montajes se hubieran dejado por mayor tiempo. Debido a que los autores antes mencionados, en sus investigaciones observaron que los mayores porcentajes de remoción se presentaron durante el día décimo usando hongos ligninolíticos debido a la acción de las enzimas oxidativas.

Por otro lado, en las figuras 7 y 9 se evidencian unos tratamientos blancos o controles, usando ripio de café y estropajo sin presencia de hongo. En el blanco con estropajo se alcanzó un porcentaje de remoción máximo del 4.53%, sin embargo Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez (2009) encontraron remociones del 53% para el séptimo día en un proceso de remoción con estropajo sin presencia de hongo, de igual manera se menciona que esta remoción se da por medio de la adsorción, donde las moléculas del colorante son retenidos en la superficie porosa del estropajo; además, en dicho estudio se indica que el proceso de adsorción puede ser afectado por la aireación puesto que las burbujas pueden causar la desorción del colorante, es decir que se desprendan las moléculas de las superficie del estropajo. De esta manera, se puede decir que la baja remoción por parte del blanco de estropajo en esta investigación se debe posiblemente a la aireación, la cual tenía un caudal de 0.018 L/s.

Por su parte, el blanco con ripio de café obtuvo un porcentaje de remoción máxima del 26.68 % , el cual es bajo, comparado con los resultados de Ramos (2010) donde obtuvieron remociones de hasta 98% de los colorantes azul de metileno y verde malaquita, dado a que la borra o ripio de café funciona como un biosorbente, es decir que por diferentes mecanismos como el intercambio iónico atrapa el colorante, removiéndolo así del efluente; sin embargo en dicho estudio se hace el experimento a escalas pequeñas y con ambientes controlados, lo que puede justificar la alta remoción.

En cuanto a la remoción eficiente que se obtuvo con el hongo inmovilizado en estropajo, según Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez (2009) el uso de este material como mecanismo de inmovilización permite aumentar la eficiencia de la remoción de color, debido

a que la biomasa del hongo es retenida dentro y alrededor del estropajo, facilitando que este material poroso permita el desarrollo de las hifas del hongo y funcione como una fuente de carbono para simular las condiciones ligninolíticas, lo que a su vez favorece la remoción de color por actividad enzimática y por adsorción.

Hernández-Terán, *et al* (2009) en su investigación sobre inmovilización de hongos ligninolíticos, se establece, que la inmovilización en redes poliméricas permite incrementar la actividad y estabilizar los sistemas enzimáticos en hongos basidiomicetos que producen enzimas como lacasa para degradar la lignina, y establece que la actividad de la lacasa depende de la capacidad del hongo para colonizar la red polimérica. Lo anterior, permite explicar el comportamiento que presentó el hongo *Pleurotus pulmonarius* inmovilizado en esferas de alginato en la remoción de color durante el sexto día de evaluación, donde se aumenta la remoción de este parámetro, debido a que la actividad de las enzimas responsables de su degradación, estaban siendo estabilizadas por la inmovilización en alginato de sodio. Lo cual, se relaciona con la investigación de Sossa-Urrego, *et al* (2008) donde se dice que la presencia de calcio al realizar la inmovilización en alginato de sodio puede estabilizar y activar la enzima, favoreciendo de esta manera la producción enzimática.

Aunque en este trabajo no se realizó un proceso de caracterización de las enzimas del hongo de podredumbre blanca Orellana (*Pleurotus Pulmonarius*) que interviene en el proceso de remoción de color, Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez (2009) establecen, que gracias a que algunos colorantes tienen similitud estructural con las subunidades de fenilpropano que conforman el polímero de lignina, las enzimas de estos tipos de hongos como lacasas, Manganese Peroxidasa, lignino Peroxidasa, versatil Peroxidasa, cresolasas, catecol oxidasas, glioxal oxidasas, Aril-alcohol oxidasas y tirosinasas permiten degradar la

lignina, oxidar sus diferentes sustituyentes y los anillos aromáticos de los colorantes. Lo anterior permite establecer el por qué el hongo Orellana (*Pleurotus Pulmonarius*) implementado en esta investigación permitió remover con valores significativos la presencia de color en el efluente, puesto que la remoción se da mediante un proceso de oxido-reducción asociado a las enzimas de hongo, tal y como lo establecen Gómez-Bertel *et al*, (2008) quienes aseguran que el complejo enzimático de los hongos de podredumbre blanca permite remover concentraciones de color y algunos metales pesados en industrias curtiembres y textiles.

Luego de aplicar los tres tratamientos de inmovilización del hongo para remover el color, se presentan una acidificación del medio al final de dicho tratamiento tal y como se puede observar en la tabla 1, puesto que según Fernández & Henao (2007) se debe a las enzimas cresolasas, catecol oxidasas, glioxal oxidasas, Aril-alcohol oxidasas y tirosinasas de los hongos de podredumbre blanca, las cuales permiten degradar sustratos más sencillos gracias a sus radicales catiónicos que dependiendo del tipo de compuesto de colorante forma CO₂, agua, iones y ácidos orgánicos. Por su parte Fernández, Henao, & Pedroza-rodríguez (2009) indicaron que cuando se tiene un rango de acidez que oscila entre 3,5 y 5,2 favorece la presencia de la enzima lacasa para llevar a cabo la biotransformación de colorante en respuesta a sus anillos aromáticos.

En cuanto a los valores de oxígeno disuelto y su porcentaje de concentración presentes antes y después de los diferentes tratamientos contenidos en la tabla 1, su aumento se debe por el sistema de aireación con el que se instaló los reactores para llevar a cabo la remoción de color. Sin embargo, Medina (2018) encontró que al final del tratamiento de la remoción de colorante negro reactivo 5 usando *Pleurotus ostreatus*, *Aspergillus niger* y un medio de control, las medias de las mediciones de Oxígeno disuelto presentaban una menor

concentración, pasando de tener un valor inicial de 10 mg/l de oxígeno disuelto a 7,26, 7,77 y 9,73 mg/l respectivamente debido al metabolismo aeróbico de estos organismos.

Al comparar los parámetros fisicoquímicos finales de la tabla 1, especialmente el parámetro de pH con la Resolución 0631 de 2015 que en su capítulo VI, menciona los parámetros fisicoquímicos y sus valores máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas (ARND) a cuerpo de aguas superficiales, se tiene que para el sector de agroindustria y especialmente para el procesamiento de flores, se indica que el valor de pH con el que el agua debe ser vertida, deberá estar en un rango de 6,00 a 9,00 unidades de pH. Con base en lo anterior, las aguas tratadas bajo la metodología que se aplicó en este trabajo deben tener un tratamiento posterior para corregir el pH con el fin de que tienda a la neutralidad.

Finalmente, con respecto a la conductividad y a los sólidos, estos parámetros en todos los casos aumentan, debido a los medios de inmovilización, por lo que posterior al tratamiento con los hongos se podría realizar otros métodos como la filtración para la reducción de estos parámetros (Medina, 2018).

Conclusiones.

- El sustrato ripio de café permite el óptimo crecimiento del hongo *Orellana* en el menor tiempo, puesto que posee nutrientes que el hongo prefiere como fuente de carbono para su crecimiento, por lo que es una excelente alternativa como medio de cultivo, dado que este sustrato es un residuo y no tiene costo alguno.
- En esta investigación se pudo determinar que efectivamente el hongo *Pleurotus Pulmonarius* tiene la capacidad de realizar una remoción de color de efluentes

provenientes de las actividades de tinturado de flores, por lo que este tipo de tratamientos a una mayor escala podrían ser una alternativa viable para el tratamiento de colorantes, puesto que los porcentajes de remoción son altos y los tiempos de residencia son bajos.

- Los métodos de inmovilización que más favorecen a la remoción del color son el ripio de café y seguidamente el estropajo, puesto que además de la acción del hongo, estos medios pueden retener las moléculas de color mediante el proceso de adsorción, lo que implica una mayor remoción del colorante.
- Algunos parámetros físico-químicos del efluente obtenido después del tratamiento con el hongo, según la norma colombiana, no son los adecuados para verter a un cuerpo de agua natural, por lo que es necesario establecer tratamientos posteriores para su respectiva corrección.

Referencias

Bayramoğlu, G., Çelik, G., Yalçın, E., Yılmaz, M., & Arica, M. Y. (2005). Modification of surface properties of *Lentinus sajor-caju* mycelia by physical and chemical methods: evaluation of their Cr⁶⁺ removal efficiencies from aqueous medium. *Journal of Hazardous Materials*, 119(1-3), 219-229.

Cardenas, R. C. A. (2017). Valoración y crecimiento del cultivo de *pleurotus ostreatus* en cuatro sustratos generados a partir de procesos productivos agropecuarios, en el municipio de Malaga Santander. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 4, 15-23.

- Cárdenas Poveda, L. M., Rodríguez Espejo, M. Y., & Internacionales, N. (2012). *Estudio de la agroindustria de las flores en Colombia y la creación de una empresa productora de flores* (Bachelor's thesis, Universidad de La Sabana).
- Chaquilla-Quilca, G., Balandrán-Quintana, R. R., Mendoza-Wilson, A. M., & Mercado-Ruiz, J. N. (2018). Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo. *CienciaUAT*, 12(2), 137-147.
- Cobo Romero, S. (2016). Análisis y recopilación del consumo de agua en algunos cultivos de flores de la sabana de Bogotá.
- Coulibaly, L., Gourene, G., & Agathos, N. S. (2003). Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 620-630.
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística. (2019). Boletín Técnico Exportaciones (EXPO) diciembre 2018. Retrieved from https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/exportaciones/bol_exp_dic18.pdf.
- Dellamatrice, P. M., Silva-Stenico, M. E., de Moraes, L. A. B., Fiore, M. F., & Monteiro, R. T. R. (2017). Degradation of textile dyes by cyanobacteria. *brazilian journal of microbiology*, 48(1), 25-31.
- Díaz, C. C., & Carvajal, E. R. (2014). Eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado en fibra de palma de aceite. @ *limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 12(1).

Duran-Rivera, B., Moreno-Suarez, J.R., García-Ramírez, S. (2018). Decolorization of a textile effluent and methylene blue by three white rot fungi (WRF), at pilot and laboratory scal. *Bionatura*, 11.

Fernández, J. A., Henao, L. M., & Pedroza-rodríguez, A. M. (2009). Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5 Immobilising lignilolytic fungus for removing reactive black 5 dye. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XI(1), 59–72.

Fernández-González, J. y Henao-Jaramillo, L. 2007. Hongos de la podredumbre blanca y fotocatalisis homogénea nanoestructurada con TiO₂ como alternativa biotecnológica para la remoción del negro reactivo 5. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. 164 pg

Gómez-Bertel, S., Amaya-Bulla, D., Maldonado-Saavedra, C., Martínez-Salgado, M. M., Quevedo-Hidalgo, B., Soto-Guzmán, A. B., & Pedroza-Rodríguez, A. M. (2008). Evaluación de tres hongos lignolíticos y de *Aspergillus niger* como alternativa para el tratamiento de aguas residuales del curtido de pieles. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 24(3), 93-106.

Giraldo Raigoza, M. (2017). Remoción de colorantes de aguas residuales resultantes del tinturado de flores (Bachelor's thesis, Universidad EAFIT).

Hernández Terán, F., Rojas Verde, M. G., Flores Gonzáles, M., & Arévalo Niño, K. (2009). INMOVILIZACIÓN DE HONGOS LIGNINOLÍTICOS NATIVOS EN REDES

POLIMÉRICAS DE QUITOSAN-PECTINA. México: Universidad Autónoma de Nuevo León.

Kapoor, A., & Viraraghavan, T. (1995). Fungal biosorption—an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. *Bioresource technology*, 53(3), 195-206.

Khoo, K. M., & Ting, Y. P. (2001). Biosorption of gold by immobilized fungal biomass. *Biochemical Engineering Journal*, 8(1), 51-59.

Marín, M. J., & Rangel, J. E. (2000). Comercialización internacional de flores: antecedentes y evolución: 1990–1999.

Martín, Q. M., & de Paz Santana, Y. D. R. (2007). Tratamiento estadístico de datos con SPSS prácticas resueltas y comentadas. Editorial Paraninfo.

Medina Moreno, J. G. (2018). *Evaluación del porcentaje de remoción de colorante negro reactivo 5, en aguas residuales del curtido de pieles, utilizando 2 hongos lignolíticos* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

Mesa Correa, A.(2015). *Estudio de la deshidratación por convección forzada en flores de crisantemo del Oriente antioqueño y su efecto en el proceso de tinturado* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia–Sede Medellín).

Mario, C., Gómez, Z., Zapata, D. M., Barrera, M. X., Naranjo, L. G., Zuleta, C. M., ... directora, E. (2016). Anexo 4. Actividad económica actual en el Oriente Antioqueño y

perspectivas de crecimiento verde y desarrollo compatible con el clima, 55. Retrieved from

https://www.cornare.gov.co/Plan-crecimiento-verde/Anexo4.Economia-actual-y-perspectivas-CV&DCC_OrienteAntioquena.pdf.

Minambiente. (2015). Resolución 631 De 2015. Diario Oficial No. 49.486 de 18 de abril de 2015, RESOLUCIÓN (Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones. EL), 73.

Ministerio de Agricultura. (1984). Decreto 1594 de 1984. 26 de Junio de 1984, Decreto (Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 9 de 1979, así como el Capítulo II del Título VI-Parte III-Libro II y el Título III de la Parte III-Libro I-del Decreto-Ley 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos.), 45.

Martínez, A. C., Olivares, C. C., Lozada, A. E., & Ramírez, C. G. (2010). Contaminación generada por colorantes de la industria textil.

Obando, A.E., Cardenas, C. J., & Mahecha, G. (1993). Caracterización de algunas materias primas nacionales empleadas en alimentos para animales. *Revista Colombiana de Química*, 12(2), 17-28.

Pearce, C. I., Lloyd, J. R., & Guthrie, J. T. (2003). The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. *Dyes and pigments*, 58(3), 179-196.

- Quirós, M. L. (2001). La floricultura en Colombia en el marco de la globalización: aproximaciones hacia un análisis micro y macroeconómico. *Revista universidad EAFIT*, 37(122), 59-68.
- Ramos, J. (2010). Estudio del proceso de biosorción de colorantes sobre borra (cuncho) de café. *Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias*.
- Rani, B., Kumar, V., Singh, J., Bisht, S., Teotia, P., Sharma, S., & Kela, R. (2014). Bioremediation of dyes by fungi isolated from contaminated dye effluent sites for bio-usability. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(3), 1055-1063..
- Ramos, J. (2010). Estudio del proceso de biosorción de colorantes sobre borra (cuncho) de café. *Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias*.
- Ríos-Ruiz, W. F., Valdez-Nuñez, R. A., & Jiménez-Flores, J. P. (2017). Aislamiento, propagación y crecimiento de hongos comestibles nativos en residuos agroindustriales. *Scientia Agropecuaria*, 8(4), 327-335.
- Rodriguez, S. (2009). Dye removal by immobilised fungi. *Biotechnology advances*, 27(3), 227-235.
- Rojas, J., & Hormaza, A. (Junio de 2015). EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DEL COLORANTE AZUL BRILLANTE UTILIZANDO HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA Y SUS CONSORCIOS. Medellín, Colombia: Rev. U.D.C.A. Act. & Div. Cient. .

Sánchez Montero, H. F., & Quintero Cardoso, J. (2010). *Guía De Buenas Prácticas Para Cultivos De Flores Y Ornamentales.*

Sossa-Urrego, D., Navarro-Acevedo, M. A., Villamil, A. M., Mercado-Reyes, M., Quevedo-Hidalgo, B., & Pedroza-Rodríguez, A. M. (2008). Inmovilización de *Bacillus licheniformis* y *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de etanol a partir de almidón de papa. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 149-161.

Sukumar, M., Sivasamy, A., & Swaminathan, G. (2009). *In situ biodecolorization kinetics of Acid Red 66 in aqueous solutions by Trametes versicolor.* *Journal of hazardous materials*, 167(1-3), 660-663.

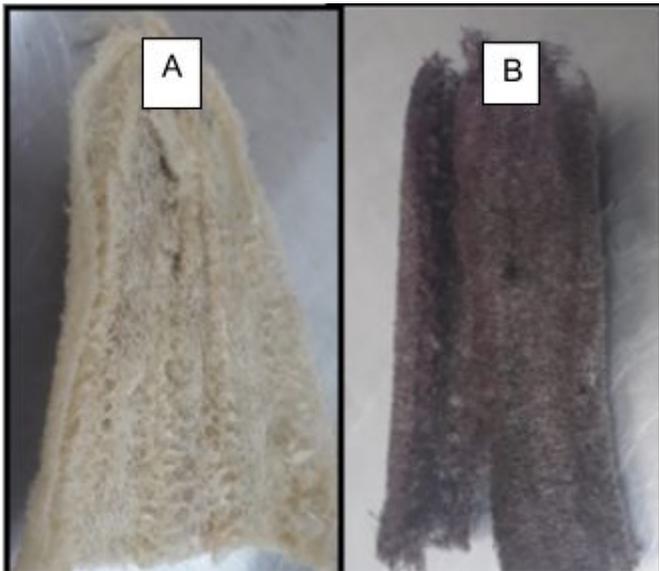
Torres, G. A. (1993). La floricultura colombiana de exportación. *Agronomía Colombiana*, 10(1), 5-11.

Anexos

Anexo 1. Tabla de verificación de la Anova y transformación de datos.

TRANSFORMACIÓN	ANOVA	Normalidad (Shapiro-Wilk)	Igualdad de varianzas (Breush-Pagan)	Independencia de las mediciones
-----------------------	--------------	----------------------------------	---	--

				(Durbin-Watson)
Sin transformación	P-value <2e-16	p-value = 0.0000000185 3	p-value = 0.004028	p-value = 0.0000005547
ln x	P-value <2e-16	p-value = 5.49e-10	p-value = 8.163e-15	p-value = 0.2186
1/x	P-value=0.000 029	p-value < 2.2e-16	p-value < 2.2e-16	p-value = 0.6721
x ^{1/2}	P-value <2e-16	p-value = 0.0000000148 5	p-value = 0.00000000813 4	p-value = 0.003158
x ²	P-value <2e-16	p-value = 0.0000000115 3	p-value = 0.3184	p-value = 3.223e-11

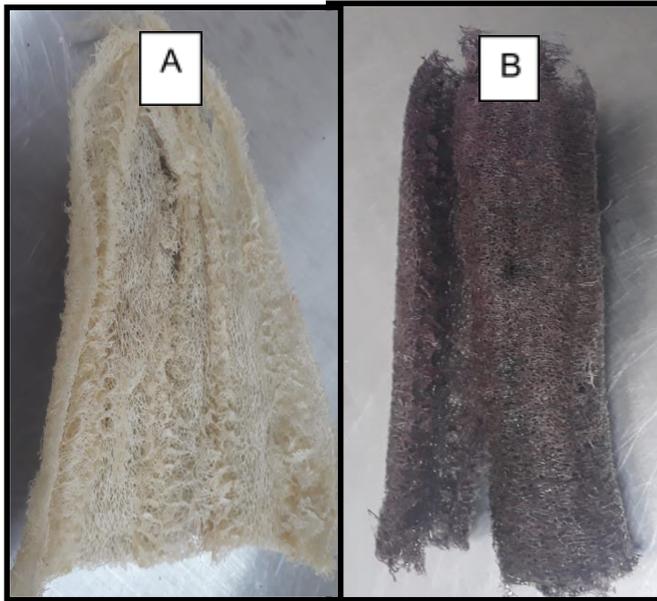


Anexo 2. Adsorción de color mediante el estropajo. A) antes y B) después del montaje

1/x	P-value =0.000 029	p-value 2.2e-16	< p-value < 2.2e-16	p-value = 0.6721
x ^{1/2}	P-value <2e-16	p-value 0.0000000148 5	= p-value 0.000000008134	= p-value = 0.003158
x ²	P-value <2e-16	p-value 0.0000000115 3	= p-value = 0.3184	p-value = 3.223e-11



Anexo 2. Remoción de color con el mejor método de inmovilización (ripió de café)



Anexo 3. Adsorción de color mediante el estropajo. A) antes y B) después del montaje