

## BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA DEGRADACIÓN DE COLORANTES DE LA INDUSTRIA TEXTIL

### Biotechnology applied to the degradation of textile industry dyes

A Cortazar-Martínez, CA González-Ramírez ✉, C Coronel-Olivares, JA Escalante-Lozada, J Castro-Rosas, JR Villagómez-Ibarra

(ACM)(CAGR)(CCO)(JCR)(JRVI) Área académica de Química, UAEH. Ciudad Universitaria, Km 4.5 Carretera Pachuca-Tulancingo, C.P. 42184 Mineral de la Reforma, Hidalgo. [cramirez@uaeh.edu.mx](mailto:cramirez@uaeh.edu.mx)

(JAEL) Departamento de Ingeniería Celular y Biotatálisis. Instituto de Biotecnología, UNAM. Avenida Universidad 2001, Col. Chamilpa C.P. 62210 Cuernavaca, Morelos

**Ensayo recibido:** 19 de septiembre de 2010, **aceptado:** 18 de enero de 2012

**RESUMEN.** La presencia de colorantes en las aguas residuales representa un problema ambiental, ya que este tipo de compuestos no puede eliminarse con los métodos de tratamiento convencionales. Debido a que la mayoría de los sistemas de tratamiento basados en métodos químicos o físicos son costosos y requieren de gran cantidad de energía y reactivos, la biotecnología ofrece una alternativa de tratamiento. En este trabajo, además de mencionar algunas tecnologías convencionales, se revisan los reportes donde se han logrado degradar colorantes utilizando métodos biológicos. Una de las ventajas de este tipo de tecnologías es que, además de la decoloración, se puede alcanzar la completa mineralización del colorante. Existe un gran número de microorganismos con la capacidad de eliminar el color de las aguas residuales mediante mecanismos como: la biosorción, la biodegradación aeróbica o anaeróbica y la producción de enzimas que catalizan la decoloración. Una de las aplicaciones de la biotecnología es la generación de nuevas cepas microbianas, éstas pueden constituir la base de tecnologías novedosas para la remediación de compuestos xenobióticos que no son fácilmente degradados con los métodos convencionales. Hasta hace una década, la identificación de cepas activas en la degradación se realizaba por ensayo y error (rondas sucesivas de mutagénesis y rastreo o selección de mutantes) o bien seleccionando microorganismos adaptados provenientes de entornos contaminados. El desarrollo de tecnologías de ADN recombinante ha generado nuevas perspectivas para la optimización de los procesos biotecnológicos de tratamiento ambiental.

**Palabras clave:** Biodegradación, colorantes azo, mineralización.

**ABSTRACT.** The presence of dyes in wastewater represents an environmental problem as this type of compounds cannot be eliminated through conventional methods of treatment. Biotechnology offers an alternative treatment, as most of the treatment systems based on chemical or physical methods are expensive and consume a great amount of energy and chemicals. This study mentions some conventional technologies together with a review of reports in which dyes have been degraded through biological methods. One of the advantages of this type of technologies is that a complete mineralisation of the dye can be achieved, apart from decolouration. There are a great number of microorganisms capable of eliminating colour in wastewater through mechanisms such as: biosorption, anaerobic or aerobic biodegradation and the production of enzymes that catalyse the decolouration process. One of the applications of biotechnology is the generation of new microbial strains that may constitute the basis of novel technologies for the remediation of xenobiotic compounds that are not easily degraded by conventional methods. Up to one decade ago, the identification of strains active in degradation was carried out through trial and error (successive rounds of mutagenesis and selection of mutants) or by selecting microorganisms adapted to polluted environments. The development of recombinant DNA technologies has generated new prospects for the optimisation of biotechnological processes for environmental treatments.

**Key words:** Biodegradation, azo dyes, mineralisation.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los compuestos xenobióticos, los colorantes de tipo azo son de importancia debido a que son ampliamente utilizados en diferentes tipos de industrias, como la textil. Durante los procesos de teñido, se desechan ciertas cantidades de colorantes que son vertidos en las aguas residuales. La presencia de colorantes en el agua no solamente es un problema estético, sino que además interfieren en el proceso fotosintético que realizan algunos organismos (Soares et al. 2000). Para la bioremediación de aguas contaminadas con colorantes se han utilizado organismos aislados de entornos contaminados, consorcios microbianos o enzimas aisladas de estos sistemas biológicos (Kandelbauer & Guebitz 2005).

La biodegradación de colorantes se lleva a cabo mediante distintos procesos. Se pueden utilizar cultivos mixtos que contengan dos grupos generales de especies, el primero conformado por organismos que no participan en la degradación del colorante, pero que estabilizan el consorcio microbiano, y un segundo grupo que incluya a las especies involucradas en el rompimiento del grupo funcional de la molécula y la transformación de los productos metabólicos resultantes. Otra manera de llevar a cabo la biodegradación es mediante microorganismos aislados que son capaces de degradar los colorantes. Por último, para llevar a cabo la biodegradación se puede emplear la remediación enzimática (Kandelbauer & Guebitz 2005).

### Métodos de tratamientos

Más de diez mil diferentes tipos de pigmentos y colorantes sintéticos son usados en diferentes industrias como la textil, papelera, cosmética, farmacéutica, entre otras. Dependiendo del tipo de colorante, se estima que del 2 al 50% de estos compuestos se desechan en las aguas residuales y se consideran como contaminantes persistentes que no pueden removerse con los métodos convencionales de tratamiento de aguas, debido a que presentan estructuras complejas y a su origen sintético (Kuhad et al. 2004; Días et al. 2007; Dos Santos et al. 2007). Los colorantes están formados por un

grupo de átomos responsables del color (cromóforos). Los grupos cromóforos más comunes son los azo (-N=N-), carbonilo (C=O), metilo (-CH<sub>3</sub>), nitró y grupos quinoides. En la Figura 1 se muestran ejemplos de algunos colorantes que presentan estos grupos cromóforos. Los colorantes también pueden contener otros grupos que incrementan la intensidad del color y que pueden ser de tipo reactivo, ácidos, directos, básicos, dispersos, aniónicos, sulfuros, entre otros. (Christie 2001; Días et al. 2007;).

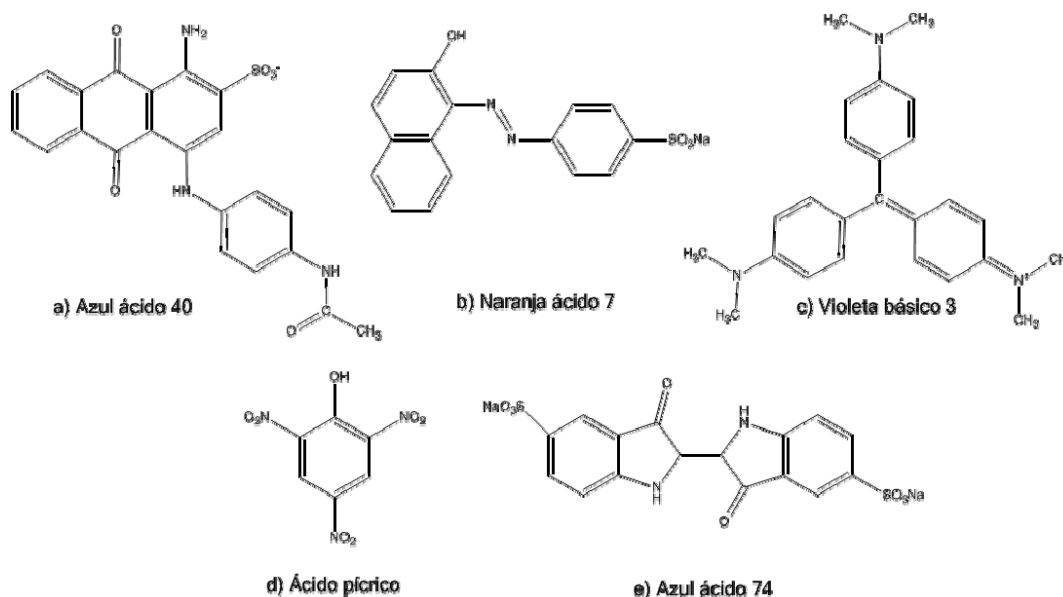
Se ha demostrado que ciertos colorantes azo pueden ser carcinogénicos y mutagénicos, además de que sus productos de degradación pueden resultar más tóxicos (Brown & DeVito 1994; Ramsay & Nguyen 2002; Giordano et al. 2005; Gavril & Hodson 2007). La toxicidad de colorantes se ha evaluado utilizando diversos bioindicadores como *Daphnia magna*, *Salmonella thyphimurium* y peces, además se han realizado ensayos en ratas e incluso monitoreos biológicos a trabajadores de la industria textil (Mathur et al. 2003; Bae et al. 2006; Chhaya et al. 2007; Dönbak et al. 2006; Kwon et al. 2008).

### Métodos convencionales para el tratamiento de aguas residuales que contienen colorantes

Existen muchos métodos para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con colorantes. En la Tabla 1 se resumen los métodos más utilizados para el tratamiento de las aguas residuales de la industria textil. Se incluyen algunas tecnologías recientes como la filtración por membrana y los procesos fotoquímicos. Estos métodos se aplican de manera eficiente y se encuentran disponibles comercialmente. Algunas tecnologías son altamente específicas, con costos elevados, no se aplican para una amplia variedad de colorantes y no resuelven el problema de la decoloración (Kuhad et al. 2004; Anjaneyulu et al. 2005).

### Métodos biológicos para el tratamiento de las aguas residuales de la industria textil

El término bioremediación abarca una amplia variedad de procesos como la bioabsorción, la biodegradación (aerobia o anaerobia) y métodos enzi-



**Figura 1.** Ejemplo de algunos colorantes textiles y sus clases de cromóforos: (a) antraquinona (b) azo (c) triarilmetano (d) nitro (e) índigo.  
**Figure 1.** Example of some textile dyes and their classes of chromophores: (a) anthraquinone (b) azo (c) triarilmethane (d) nitro (e) indigo.

máticos. Para la decoloración, los reactores pueden contener cultivos mixtos, organismos aislados o enzimas aisladas (Kandelbauer & Guebitz 2005). En la Tabla 2 se muestran ejemplos de algunas especies de hongos y de bacterias utilizadas en el tratamiento biológico de colorantes. Estos organismos presentan diferentes mecanismos de acción frente a los colorantes (Kuhad *et al.* 2004).

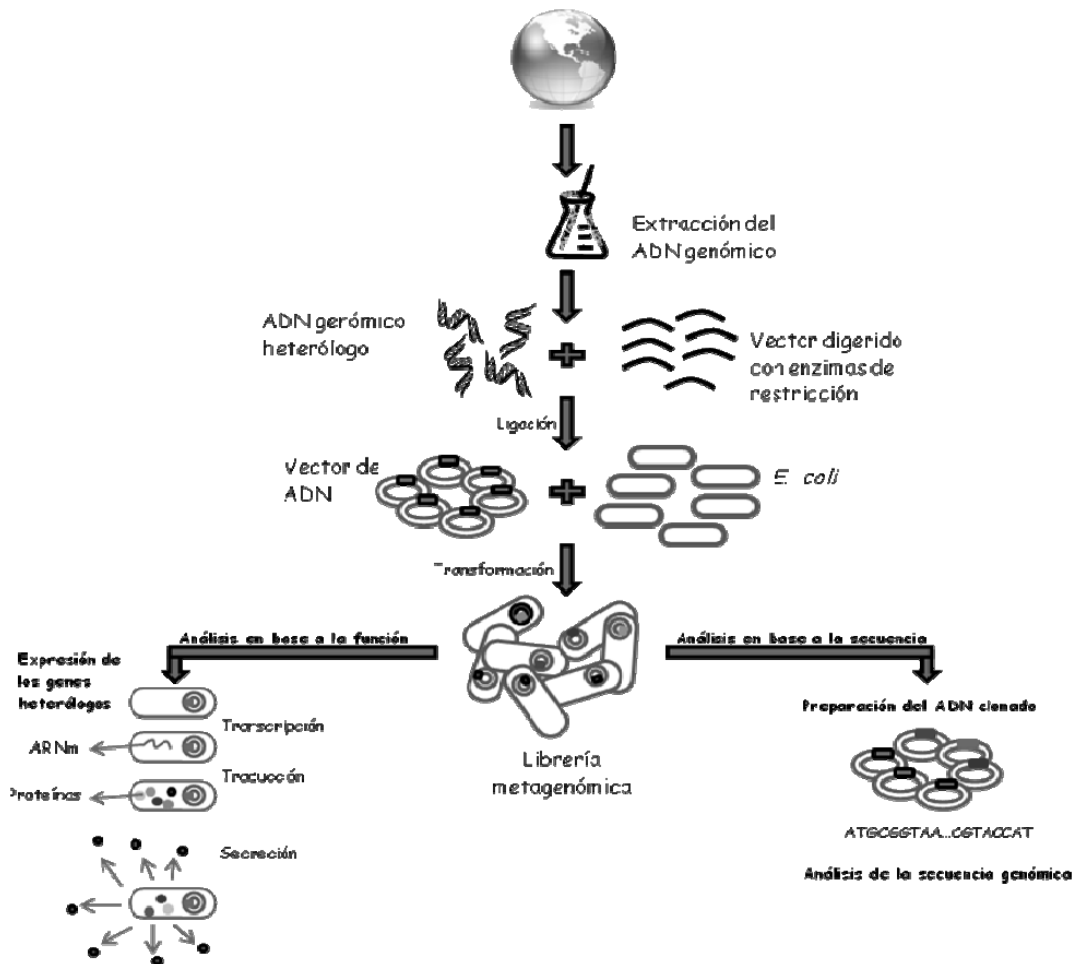
### Biosorción

Un método novedoso para la remoción del color de efluentes es la adsorción o absorción de las sustancias coloradas en varios materiales como: aserrín, carbón activado, arcillas, suelos, composta, lodos activados, comunidades vegetales, polímeros sintéticos o sales inorgánicas coagulantes (Chandran *et al.* 2002). Al proceso que utiliza a la biomasa, se le conoce como biosorción; en este proceso la decoloración se alcanza por la saturación y posterior biosorción del colorante sobre las células, ocurriendo esto con o sin biodegradación del contaminante. Algunas especies de bacterias y hongos han sido reportadas por su capacidad para remover colorantes utilizando el proceso de adsorción. Al respecto Chen *et al.* (1999) reportan la decoloración de una solu-

ción del colorante azo (rojo RBN), utilizando una cepa de *Proteus mirabilis*, que fue aislada de lodos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales; el porcentaje de decoloración fue entre 13 y 17 %, debido al proceso de biosorción de estas células bacterianas. También se puede lograr la eliminación del color mediante biosorción usando células de hongos (Fu & Viraraghavan 2002; Zhang *et al.* 2003; Bhole *et al.* 2004). En algunos casos, el mecanismo de decoloración implica, además de la biosorción, un proceso de degradación enzimática (Knapp *et al.* 1997; Park *et al.* 2007; Yesilada *et al.* 2010). Estos métodos no se han aplicado al tratamiento de aguas residuales en gran escala, debido a los problemas asociados con el manejo de la biomasa residual que se obtiene después de la biosorción (Kuhad *et al.* 2004).

### Biodegradación

Como se puede apreciar en la Tabla 2, existe una amplia variedad de microorganismos que pueden degradar colorantes. Los actinomicetos han demostrado que pueden degradar compuestos xenobióticos por su capacidad de producir enzimas lignolíticas. La habilidad de los actinomicetos, princi-



**Figura 2.** Construcción y evaluación de un banco metagenómico (modificado de Handelsman 2004).  
**Figure 2.** Construction and evaluation of a metagenomic bank (modified from Handelsman 2004).

palmente especies de *Streptomyces*, para decolorar y mineralizar colorantes textiles se ha comprobado en diferentes estudios (Ball et al. 1989; Goszczyński et al. 1994; Ball & Cotton 1996). Un gran número de bacterias reducen los enlaces azo de los colorantes textiles, este proceso es el paso inicial en la degradación bacteriana de colorantes de tipo azo (Stolz 2001; Pandey et al. 2007).

La decoloración de colorantes azo puede llevarse a cabo de manera aerobia o anaeróbica, dependiendo del tipo de bacteria que lo lleve a cabo. Hay otros reportes sobre el metabolismo aerobio de colorantes azo utilizando diferentes cepas de bacterias, por ejemplo *Aeromonas* sp., *Bacillus subtilis*,

*Proetus mirabilis* y *Pseudomonas luteola* (Horitsu et al. 1977; Chen et al. 1999; Chang & Lin 2000; Hayase et al. 2000). La azorreducción puede ser estimulada por la adición de inductores como el  $\text{CaCl}_2$  (Dawkar et al. 2009) o co-sustratos como la glucosa (Haug et al. 1991). Además de colorantes azo, también está reportada la degradación bacteriana de otro tipo de colorantes. *Citrobacter* sp. tiene la capacidad de decolorar diversos colorantes recalcitrantes de tipo azo y trifenilmetano, utilizando mecanismos de biosorción y biodegradación (An et al. 2002). El cristal violeta (colorante trifenilmetano) puede ser degradado a través de una mineralización aeróbica por bacterias como

**Tabla 1.** Métodos convencionales para el tratamiento de las aguas residuales de la industria textil.  
**Table 1.** Conventional methods for the treatment of textile industry wastewater.

Tipo de método	Método	Ventajas	Desventajas	Referencias
Físico	Adsorción	Remueve eficientemente varios colorantes. Como alternativas se han usado sílica y recientemente materiales celulósicos obtenidos de residuos agroindustriales (maíz cebada, etc.). Además de su eficiencia, es una tecnología económicamente atractiva.	Algunos de los materiales utilizados, como el carbón activado, tienen costos elevados y pérdidas en la regeneración. Por otro lado, los materiales menos costosos como las virutas de madera, requieren más tiempo de contacto y generan residuos.	Raghavacharya 1997; Nigam <i>et al.</i> 2000; Chandran <i>et al.</i> 2002.
	Filtración por membrana	Se utiliza para remover colorantes que se encuentran en bajas concentraciones. Es un sistema resistente a temperatura y ataques microbianos.	Tiene altos costos. Es ineficiente para la remoción de sólidos disueltos, por lo que son necesarios los tratamientos adicionales.	Xu <i>et al.</i> 1999; Fersi y Dhabhi 2008.
	Intercambio iónico	Es un método muy efectivo para remover colorantes catiónicos y aniónicos. No hay mucha pérdida en la regeneración de los solventes.	Los solventes orgánicos utilizados son caros. Sólo tiene aplicaciones específicas.	Slokary Le Marchal 1998.
Químico	Electroquímico	Es un proceso relativamente nuevo que tiene una eficiente remoción de colorantes y la degradación de contaminantes sin generar subproductos tóxicos o lodos.	Los costos de la electricidad son altos.	Pelegriini <i>et al.</i> 1999.
	Oxidación	Es uno de los métodos más usados. Involucra el rompimiento de los anillos aromáticos. La oxidación con el reactivo de Fenton es un método adecuado para el tratamiento de aguas residuales resistentes a un tratamiento biológico, sin embargo se forman lodos. El hipoclorito de sodio (NaOCl) al igual que el ozono, son efectivos en el rompimiento de enlaces azo.	El reactivo de Fenton tiene como desventaja la formación de lodos. El uso de hipoclorito de sodio (NaOCl) genera subproductos tóxicos y carcinógenos. El ozono no resulta tan eficiente en oxidación de colorantes dispersos.	Raghavacharya 1997; Pak y Chang 1999.
	Fotoquímico	Se puede utilizar para degradar moléculas orgánicas en CO <sub>2</sub> y agua, ya sea en lote o en un sistema continuo con cortos tiempos de exposición. No se generan lodos.	Se pueden generar subproductos como halogenuros, metales, ácidos y aldehídos. Sólo es efectivo si las concentraciones de colorantes son bajas. Presenta altos costos.	Yang <i>et al.</i> 1998; Kositzki <i>et al.</i> 2007.
	Coagulación	Presenta buena eficiencia de remoción, se realiza en un periodo corto de tiempo y tiene bajos costos de inversión.	Se obtienen resultados pobres con colorantes ácidos y hay un alto costo de disposición por los volúmenes de lodos que resultan de este método.	Slokary Le Marchal 1998.
Biológico	Bio absorción	La biomasa microbiana puede usarse para absorber y remover colorantes de las aguas residuales. El proceso de absorción puede ir acompañado de una biodegradación.	Este método aún está en etapa de investigación, por lo que no se ha utilizado para tratar grandes volúmenes de agua. También ocasiona problemas en cuanto a la disposición de la biomasa con los colorantes adsorbidos.	Knapp <i>et al.</i> 1997; Chen <i>et al.</i> 1999.
	Bio degradación	Se han aislado microorganismos con la capacidad de degradar diversos colorantes. Se han utilizado consorcios mixtos en sistemas combinados aeróbicos/anaeróbicos para remover colorantes, así como sistemas con células inmovilizadas.	Es necesaria más información fisiológica y genética. Se requiere una larga fase de aclimatación y se presenta resistencia a compuestos recalcitrantes.	Nigam <i>et al.</i> 1996; Supaka <i>et al.</i> 2004; Dafale <i>et al.</i> 2008.
	Enzimático	Las preparaciones de lacasas y peroxidasas ofrecen un método para la decoloración de aguas residuales. Requiere tiempos cortos de contacto. Es muy eficiente para ciertos compuestos.	Es necesario un mayor análisis sobre los subproductos que se generan, estudios de escalamiento y una evaluación económica para poder aplicarse comercialmente. El aislamiento y purificación de las enzimas es difícil. Las enzimas se ven afectadas por un gran número de variables presentes en el agua residual.	Shaffique <i>et al.</i> 2002; Chhabra <i>et al.</i> 2008; Cristóvão <i>et al.</i> 2008.

**Tabla 2.** Microorganismos utilizados en el tratamiento de colorantes y su mecanismo de acción propuesto para la decoloración (modificado de Kuhad et al. 2004).

**Table 2.** Microorganisms used in the treatment of dyes and the action mechanism proposed for decolouration (modified from Kuhad et al. 2004).

	Especie	Mecanismo	Referencia
BACTERIAS	<i>Citrobacter</i> sp.	Biodegradación- bioabsorción	An et al. 2002.
	<i>Proteus mirabilis</i>	Biodegradación- bioabsorción	Chen et al. 1999.
	<i>Streptomyces</i> sp.	Peroxidasa	Ball et al.1989.
	<i>S. chromofuscus</i> ,	Peroxidasa	Goszczyński et al.1994.
	<i>Shewanella decolorationis</i>	Reducción anaeróbica	Hong et al. 2007.
	<i>Proteus vulgaris</i>	Reducción anaeróbica	Dubin & Wright 1975.
	<i>Pseudomonas mendocina</i>	Biodegradación aerobia	Sarnaik & Kanekar 1999.
	<i>Bacillus subtilis</i>	Biodegradación aerobia	Horitsu et al.1977.
HONGOS	<i>Funalia trogii</i>	Adsorción- biodegradación	Yesilada et al. 2010; Park et al. 2007.
	<i>Aspergillus niger</i>	Adsorción- biodegradación	Fu & Viraraghavan 2002; Bhole et al. 2004.
	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Lignina peroxidasa	Glen & Gold 1983; Goszczyński et al. 1994.
	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Peroxidasa	Novotny et al. 2001.
	<i>Trametes versicolor</i>	Biosorción Ligninasa	Wang & Yu 1998; Toh et al.2003.

*Pseudomonas mendocina* (Sarnaik & Kanekar 1999) y *Pseudomonas putida* (Chen et al. 2007). Se han reportado algunas bacterias que pueden romper el enlace azo de algunos colorantes bajo condiciones anaerobias, dando lugar a la decoloración y formación de aminas aromáticas (Chung et al. 1992). En algunos casos, la decoloración puede ir acompañada no sólo de la degradación del colorante, sino de la producción de aminas aromáticas. Se ha obtenido la completa mineralización de colorantes de tipo azo utilizando consorcios microbianos en condiciones anaerobias (Nigam et al. 1996; González-Gutierrez et al. 2009). También es posible consorcios capaces de mineralizar completamente colorantes en sistemas aerobios-anaerobios o bien bajo condiciones anóxicas. Huag et al. (1991) lograron la completa mineralización de un colorante azo bajo condiciones anaerobias, utilizando un consorcio bacteriano crecido en condiciones aeróbicas. En el trabajo de Yu et al. (2001) se aislaron cepas de un lodo activado de un sistema aerobio-anaerobio logrando la degradación de colorantes azo con diferentes estructuras químicas, mediante cepas de *Pseudomonas*, en condiciones anóxicas.

La velocidad de degradación depende numerosos factores, tales como: el pH, la temperatura, los nutrientes, así como de la especificidad de la enzima por el sustrato.

Los hongos de la putrefacción blanca (PB) son los organismos más estudiados en la degradación de colorantes, debido a que son capaces de degradar sustratos complejos a través de un sistema enzimático no específico (Knapp et al. 2001). La decoloración de colorantes por hongo PB fue reportada por primera vez por Glenn & Gold (1983) quienes evaluaron la decoloración de colorantes poliméricos sulfonados utilizando *Phanerochaete chrysosporium*. A partir de entonces se han publicado numerosos trabajos donde se evalúa la capacidad de *P. chrysosporium* y de otros hongos como *Cyathus bulleri*, *Trametes versicolor*, *Phlebia tremellosa*, *Thelephora* sp. para degradar colorantes (Goszczyński et al. 1994; Vasdev & Kuhad 1994; Swamy & Ramsay 1999; Kirby et al. 2000; Selvam et al. 2003; Toh et al. 2003). Novotny et al. (2001) seleccionó de entre 103 especies de hongos a las especies *Irpex lacteus* y *Pleurotus ostreatus* por su capacidad para degradar colorantes de diferentes tipos (azo, diazo, antraquinona, trifenilmetano, ftalocianina).

### Métodos enzimáticos

Las células vivas se consideran como un reactor de decoloración en miniatura. Esta decoloración puede ser resultado de la retención física del colorante en la biomasa o de la transformación bioquímica del colorante a través del metabolismo celu-

lar. Algunas de las enzimas que se utilizan en la degradación de colorantes son lacasas, peroxidases, monooxigenasas y dioxigenasas entre otras (Kandelbauer & Guebitz 2005). Las enzimas extracelulares como las lacasas y peroxidases generalmente se producen por hongos cuya función natural es degradar la lignina. La habilidad de los hongos PB para degradar colorantes y otros compuestos xenobióticos se debe a la naturaleza no específica de su sistema enzimático. El uso de lacasas y peroxidases para la degradación de compuestos xenobióticos resulta muy prometedor (Harvey & Thurston 2001).

Se ha reportado la decoloración de una mezcla de colorantes, simulando un efluente real, a través de una lacasa comercial, además se obtuvo el modelo cinético de esta degradación (Cristóvão *et al.* 2009). También hay numerosos reportes de la degradación de colorantes azo, trifenilmetano y antraquinona utilizando la lacasa de *Pyricularia oryzae*, *Trametes hirsuta*, *Pycnoporous sanguineus* y *Sclerotium rolfsii* (Muralikrishna & Renganathan 1995; Abadulla *et al.* 2000; Pointing & Vrijmoed 2000; Ryan *et al.* 2003).

### Ingeniería Genética aplicada a la degradación de colorantes

Los microorganismos empleados en la remoción de colorantes se pueden obtener de entornos donde existan colorantes, como los efluentes de la industria textil. Usualmente no se trata de aislar las cepas que por adaptación natural son capaces de degradar colorantes, sino de aprovechar los beneficios de su presencia, por ejemplo, en una planta de tratamiento municipal. Se ha reportado la obtención de bacterias o consorcios microbianos capaces de degradar colorantes, debido a la adaptación de los organismos al estrés ambiental y a la presión evolutiva debido a las condiciones del efluente (Yu *et al.* 2001; Dafale *et al.* 2008; Kalyani *et al.* 2008).

En ese sentido, se pueden obtener cepas híbridas con la capacidad de degradar colorantes, mediante ingeniería genética. Se han identificado un gran número de genes que confieren la habilidad de degradar colorantes y se ha reportado la decoloración de un colorante azo usando una cepa de *E. coli* con los genes de una azoreductasa de una cepa sil-

vestre de *Pseudomonas luteola*. Esta metodología permite acortar los tiempos que se utilizarían para adaptar un cultivo apropiado y luego aislar las cepas (Chang *et al.* 2000). Chang & Lin (2001) clonaron y expresaron un fragmento de ADN genómico de *Rhodococcus* sp. en *E. coli*. Este fragmento de 6.3 kb contiene los genes responsables de la decoloración de colorantes azo. La cepa recombinante que se obtuvo tiene la capacidad de decolorar colorantes azo.

### Ingeniería Genética y Metagenómica: una perspectiva en el tratamiento biológico de colorantes

La bioremediación ha llamado mucho la atención en el campo de las ciencias ambientales. Los microorganismos capaces de degradar compuestos xenobióticos presentan dos problemas: la velocidad de degradación es baja y la degradación de mezclas de xenobióticos requieren de diferentes especies microbianas. La ingeniería metabólica ofrece la posibilidad de construir vías de degradación de xenobióticos completamente nuevas a partir de la introducción de diferentes enzimas provenientes de varios organismos (Nielsen 2002). La diversidad microbiana es inmensa y en ella se puede encontrar un gran número de microorganismos, enzimas o genes con aplicación industrial (Escalante-Lozada *et al.* 2004). La Metagenómica es la ciencia que investiga el genoma de las comunidades de microorganismos, más que de especies individuales. Se encarga de estudiar a nivel molecular las relaciones dinámicas que definen las comunidades (Handelsman 2004; National Academy of Science 2007). En la actualidad se cuentan con las herramientas moleculares que permiten aislar, modificar y caracterizar el ADN de cualquier organismo, con lo que se puede estudiar la diversidad bacteriana a pesar de no poder cultivar la mayoría de las bacterias de un ambiente particular. El estudio de la diversidad bacteriana con estas técnicas ha permitido obtener información sobre la composición y estructura de las comunidades bacterianas, así como establecer el efecto de los factores ambientales sobre la biodiversidad. En la Figura 2 se muestra el procedimiento para construir y evaluar un banco metagenómico (Handelsman 2004).

Esta herramienta puede aplicarse en el desarrollo de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales. El análisis del metagenoma ha permitido la caracterización filogenética de la diversidad microbiana, la caracterización de nuevos genomas y de nuevas vías metabólicas, la identificación de mecanismos biológicos de resistencia a compuestos contaminantes y el descubrimiento de nuevas enzimas y biopolímeros (Escalante-Lozada *et al.* 2004). Los proyectos pioneros en la metagenómica como la metagenómica del mar de Sargaso (Venter *et al.* 2004) y el análisis de la comunidad presente en el drenaje ácido de una mina (Tyson *et al.* 2004), permitieron generar conocimiento acerca de los ciclos biogeoquímicos, las especies clave en estos procesos y el descubrimiento de nuevas especies con potencial aplicación en la industria. La metagenómica promete proveer nuevas moléculas con funciones diversas, pero se requieren sistemas de expresión para cada una de estas enzimas y moléculas nuevas para que puedan convertirse en un éxito económico (Briones & Raskin 2003; Lorenz & Eck 2005; Wagner *et al.* 2006; McMahon *et al.* 2007). El análisis metagenómico de diversos ambientes ha permitido la identificación de microorganismos que juegan un papel primordial en el tratamiento biológico de aguas residuales, incluyendo especies no cultivables. Esto provee aspectos importantes sobre diversidad, funciones y diferenciación del nicho de estos organismos (Daims *et al.* 2006; Wagner *et al.* 2006). La biodegradación de colorantes en un entorno contaminado es un proceso que involucra a distintos metabolismos de una comunidad, por lo que la metagenómica permitiría utilizar la biodiversidad para lograr la biodegradación de estos compuestos, encontrando aquellos genes involucrados en estos procesos de una manera dirigida y posteriormente utilizarlos para la obtención de cepas “bajo diseño” para el tratamiento de diferentes tipos de aguas residuales.

## DISCUSIÓN

La eliminación de los colorantes de los efluentes de la industria textil representa un gran reto ambiental. Existen numerosas tecnologías para el tra-

tamiento de aguas residuales de la industria textil pero, por la complejidad de la composición de estas aguas, generalmente se tiene que utilizar dos o más estrategias para lograr la remoción de los contaminantes. La industria textil consume grandes volúmenes de agua en sus procesos, por lo que es importante la búsqueda de tecnologías que permitan el reciclaje del agua residual, o bien, que permitan que el agua pueda ser vertida sin que perjudique al ambiente. Los procesos biológicos son una opción para el tratamiento de efluentes contaminados. Con este objetivo, se han obtenido cepas aisladas de entornos contaminados que, por adaptación, han desarrollado la capacidad de biodegradar los contaminantes presentes. También se ha conseguido identificar las enzimas involucradas en la degradación de colorantes y desarrollar tecnologías utilizando dichas enzimas.

Las estructuras químicas de los colorantes resultan a menudo demasiado complejas para utilizar un tratamiento simple, por lo que generalmente se utilizan consorcios microbianos con la capacidad de degradar colorantes obteniendo altas eficiencias de depuración. Muchos de estos consorcios no están completamente caracterizados y se desconoce el mecanismo por el cual se lleva a cabo la degradación.

El desarrollo de estas tecnologías se basa en técnicas convencionales, sin tomar en cuenta que la actividad biodegradativa de un grupo de organismos no depende de una sola especie, sino que generalmente es resultado de la acción conjunta de la diversidad metabólica presente en el medio. Es por esto que el desarrollo de las ciencias como la metagenómica, constituyen un paso importante para conocer aspectos claves sobre los microorganismos involucrados en el proceso de biodegradación, así como para encontrar nuevas enzimas, nuevos metabolismos y nuevos microorganismos capaces de metabolizar los colorantes.



## LITERATURA CITADA

- Abadulla E, Jzanov T, Costa S, Robra KH, Caracto-Paulo A, Gubitz GM (2000) Decolourization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsutus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3357-3362.
- An SY, Min SK, Cha IH, Choi YK, Cho YS, Kim CH, Lee YC (2002) Decolorization of triphenylamine and azo dyes by *Citrobacter* sp. *Biotechnol. Lett.* 24: 1037-1040.
- Anjaneyulu Y, Sreedhara-Chary N, Suman-Raj S (2005) Decolourization of industrial effluents - available methods and emerging technologies - a review. *Rev. Environ. Sci. Technol.* 4: 245-273.
- Bae SJ, Freeman SH, Kim DS (2006) Influences of new azo dyes to the aquatic ecosystem. *Fiber Polymer* 7: 30-35.
- Ball AS, Betts WB, McCarthy AJ (1989) Degradation of lignin related compounds by actinomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1642-1644.
- Ball AS, Cotton J (1996) Decolourization of two polymeric dye Poly R by *Streptomyces viridosporus* T7A. *J. Basic Microbiol.* 36: 13-18.
- Bhole BD, Ganguly B, Madhuras A, Deshpande D, Joshi J (2004) Biosorption of methyl violet, basic fuchsin and their mixture using dead fungal biomass. *Curr. Sci.* 86: 1641-1645.
- Briones A, Raskin L (2003) Diversity and dynamics of microbial communities in engineered environments and their implications for process stability. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14: 270-276.
- Brown MA, De Vito SC (1993) Predicting azo dye toxicity. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 23: 249-324
- Chandran CB, Singh D, Nigam P (2002) Remediation of textile effluent using agricultural residues. *Appl. Biochem. Biotech.* 102-103: 207-212.
- Chang JS, Lin YC (2000) Fed-batch bioreactor strategies for microbial decolorization of azo dye using a *Pseudomonas luteola* strain. *Biotechnol. Prog.* 16: 979-985.
- Chang JS, Lin YC (2001) Decolorization kinetics of a recombinant *Escherichia coli* strain harboring azo-dye-decolorizing determinants from *Rhodococcus* sp. *Biotechnol. Lett.* 23: 631-636.
- Chang JS, Kuo TS, Chao YP, Ho JY, Lin PJ (2000) Azo dye decolorization with a mutant *Escherichia coli* strain. *Biotechnol. Lett.* 22: 807-812.
- Chen KC, Huang WT, Wu Y, Houg JY (1999) Microbial decolourization of azo dyes by *Proteus mirabilis*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 23: 686-690.
- Chen CC, Liao HJ, Cheng CY, Yen CY, Chung YC (2007) Biodegradation of crystal violet by *Pseudomonas putida*. *Biotechnol. Lett.*, 29: 391-396.
- Chhabra M., Mishra S., Sreekrishnan T. (2008) Mediator-assisted decolorization and detoxification of textile dyes/dye mixture by *Cyathus bulleri* laccase. *Appl. Biochem. and Biotech.* 151: 587-598.
- Chhaya J, Thaker J, Mittal R, Nuzhat S, Mansuri AP, Kundu R (2007) Influence of textile dyeing and printing industry effluent on ATPases in liver, brain, and muscle of mudskipper, *Periophthalmus dips.* *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58: 793-800.
- Christie R (2001) *Colour Chemistry*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom.
- Chung KT, Stevens SE, Cerniglia CR (1992) The reduction of azo dyes by the intestinal microflora. *Crit. Rev. Microbiol.* 18: 175-190.
- Cristóvão RO, Tavares AP, Ferreira LA, Loureiro JM, Bouventura RA, Macedo EA (2009) Modeling the discoloration of a mixture of reactive textile dyes by commercial laccase. *Bioresour. Technol.* 100: 1094-1099.
- Daims H, Taylor MW, Wagner M (2006) Wastewater treatment: a model system for microbial ecology. *Trends Biotechnol.* 24: 483-489.

- Dafale N, Rao NN, Meshram SU, Wate SR (2008) Decolorization of azo dyes and simulated dye bath wastewater using acclimatized microbial consortium - Biostimulation and halo tolerance. *Bioresour. Technol.* 99: 2552-2558
- Dawkar VV, Jadhav UU, Ghodake GS, Govindwar SP (2009) Effect of inducers on the decolorization and biodegradation of textile azo dye Navy blue 2GL by *Bacillus* sp. VUS. *Biodegradation.* 20: 777-787.
- Dias AD, Sampaio A, Bezerra RM (2007) Environmental applications of fungal and plant systems: decolourisation of textile wastewater and related dyestuffs. En: *Environmental Bioremediation Technologies* (Editores Singh SN & Tripathi RD) Springer Berlin Heidelberg. 445-463.
- Dönbak L, Rencuzogullari E, Topaktas M, Sahin G (2006) A Biomonitoring Study on the Workers from Textile Dyeing Plants. *Genetika.* 42: 613-618.
- Dos-Santos A, Cervantes F, Van-Lier J (2007) Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresour. Technol.* 98: 2369-2385.
- Dubin P, Wright, KL (1975) Reduction of azo food dyes in cultures of *Proteus vulgaris*. *Xenobiotica* 5: 563-571.
- Escalante-Lozada A, Gosset-Lagarda G, Martínez-Jiménez A, Bolívar-Zapata F (2004) Diversidad bacteriana del suelo: Métodos de estudio no dependientes del cultivo microbiano e implicaciones biotecnológicas. *Agrociencia.* 38: 583-592.
- Fersi C, Dhahbi M (2008) Treatment of textile plant effluent by ultrafiltration and/or nanofiltration for water reuse. *Desalination.* 222: 263-271.
- Fu Y, Viraraghavan T (2002) Dye biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Biores. Technol.* 82: 139-145.
- Gavril M, Hodson PV (2007) Investigation of the Toxicity of the Products of Decoloration of Amaranth by *Trametes versicolor*. *J. Environ. Qual.* 36: 1591-1598.
- Giordano A, Grilli S, De Florio L, Mattioli D (2005) Effect of selected textile effluents on activated sludge nitrification process. *J. Environ. Sci. Health A. Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* 40: 1997-2007.
- Glenn JK, Gold MH (1983). Decolorization of several polymeric dyes by the lignin degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1741-1747.
- González-Gutiérrez LV, Escamilla-Silva EM (2009) Proposed pathways for the reduction of a reactive azo dye in an Anaerobic Fixed Bed Reactor. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 415-426.
- Goszczyński S, Paszczyński A, Pasti-Grigsby MB, Crawford RL, Crawford DL (1994) New pathway for degradation of sulfonated azo dyes by microbial peroxidases of by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*. *J. Bacteriol.* 176: 1339-1347
- Handelsman J (2004) Metagenomics: application of Genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68: 669-685. Harvey P, Thurston C (2001) The biochemistry of ligninolytic fungi. En *Fungi in Bioremediation* (Editor Gadd GM) Cambridge University Press. 27-51.
- Haug W, Schmidt A, Nörtemann B, Hempel DC, Stolz A, Knackmuss HJ (1991) Mineralization of the sulfonated azo dye mordant yellow 3 by 6-aminonaphtalene-2-sulfonate-degrading bacterial consortium. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 3144-3149
- Hayase N, Kouno K, Ushio K (2000) Isolation and characterization of *Aeromonas* sp. B-5 capable of decolorizing various dyes. *J. Biosci. Bioeng.* 90: 570-573.

- Hong Y, Guo J, Xu Z, Mo C, Xu M, Sun G (2007) Reduction and partial degradation mechanisms of naphthylaminesulfonic azo dye amaranth by *Shewanella decolorationis* S12. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75: 647-654
- Horitsu H, Takada M, Idaka E, Tomoyeda M, Ogawa T (1977) Degradation of p-aminoazobenzene by *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 4: 217-224.
- Kalyani DC, Telke AA, Dhanve RS, Jadhav JP (2008) Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* sp. SUK1. *J. Hazard Mater.* 163: 735-742.
- Kandelbauer A, Guebitz GM (2005) Bioremediation for the decolorization of textile dyes - a review. En: *Environmental Chemistry* (Editores: Lichtfouse E, Dudd S, Robert D) Springer Berlin Heidelberg. 269-288.
- Kirby N, Marchant R, McMullan G (2000) Decolourisation of synthetic textile dyes by *Phlebia tremellosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 188: 93-96.
- Knapp JS, Vantoch-Wood EJ, Zhang F (2001) Use of wood-rotting fungi for the decolorization of dyes in and industrial effluent. En *Fungi in Bioremediation* (Editor Gadd GM) Cambridge University Press. 242-304.
- Knapp JS, Zhang F, Tapley KN (1997) Decolourisation of Orange II by a wood rotting fungus. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 69: 289-296.
- Kositzki M, Poullos I, Samara K, Tsatsaroni E, Darakas E (2007) Photocatalytic oxidation of Cibacron Yellow LS-R. *J. Hazard. Mater.* 146: 680-685
- Kuhad RC, Sood N, Tripathi KK, Singh A, Ward OP (2004) Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. *Adv. Appl. Microbiol.* 56: 185-213.
- Kwon JH, Lee HK, Kwon J, Kim K, Park E, Kang MH, Kim YH (2008) Mutagenic activity of river water from a river near textile industrial complex in Korea. *Environ. Monit. Assess.* 142: 289-296.
- Lorenz P, Eck J (2005) Metagenomics and industrial applications. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 510-516.
- Mathur N, Krishnatrey R, Sharma S, Sharma KP (2003) Toxic effects of textile printing industry effluents on liver and testes of albino rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71: 453-457.
- McMahon KD, Martín HG, Hugenholtz P (2007) Integrating ecology into biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18: 287-292.
- Muralikrishna C, Renganathan V (1995) Phenolic azo dye oxidation by laccase from *Pyricularia oryzae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 4374-4377.
- National Academy of Sciences (2007) Committee on Metagenomics: Challenges and Functional Applications, National Research Council. *The New Science of Metagenomics: Revealing the Secrets of Our Microbial Planet.* USA.
- Nielsen J (2002) Metabolic Engineering. En *Encyclopedia of Physical Science and Technology* 9: 391-406.
- Nigam P, McMullan G, Banat IM, Singh D, Marchant R (1996) Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. *Process Biochem.* 31: 435-442.
- Nigam P, Armour G, Banat IM, Singh D, Marchant R (2000) Physical removal of textile dyes from effluents and solid-state fermentation of dye-adsorbed agricultural residues. *Biores. Technol.* 72: 219-226.
- Novotny C, Rawat B, Bhatt M, Patel M, Sasek V, Molitors, HP (2001) Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. *J. Biotechnol.* 89: 113-122.

- Pak D, Chang W (1999). Decolorizing dye wastewater with low temperature catalytic oxidation. *Water Sci. Technol.* 40: 115-121.
- Pandey A, Singh P, Lyengar, L (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Int. J. Biodegradation Biodegradation.* 59(2): 73-84
- Park C, Lee M, Lee B, Kim SW, Chase HA, Lee J, Kim S (2007). Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia trogii*. *Biochem. Eng. J.* 36: 59-65
- Pelegri R, Peralto-Zamora P, De Andrade R, Ryers J, Duran N (1999) Electrochemically assisted photocatalytic degradation of reactive dyes. *Appl. Catal. B: Environ.* 22: 83-90.
- Pointing SB, Vrizmoed LP (2000) Decolourization of azo and triphenyl methane dyes by *Pycnoporus sanguineus* producing laccase as the sole phenoloxidase. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16: 317-318.
- Raghavacharya C (1997) Colour removal from industrial effluents-a comparative review of available technologies. *Chem. Eng. World* 32: 53-54.
- Ramsay JA, Nguyen T (2002) Decoloration of textile dyes by *Trametes versicolor* and its effect on dye toxicity. *Biotechnol. Lett.* 24: 1757-1761.
- Ryan S, Schnitzhfer W, Tznov T, Cavaco-Paulo A, Gubitz GM (2003) An acidstable laccase from *Sclerotium rolfsii* for wool dye decolourization. *Enz. Microb. Technol.* 33: 766-774.
- Sarnaik S, Kanekar P (1999) Biodegradation of methyl violet by *Pseudomonas mendocina* MCM B-402. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52: 251-254.
- Selvam K, Swaminathan K, Chae KS (2003) Decolorization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora* sp. *Biores. Technol.* 88: 115-119.
- Shaffique TS, Roy JJ, Nair RA, Abraham TE (2002) Degradation of textile dyes mediated by plant peroxidases. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 102-103: 315-326.
- Slokar YM, Le Marechal AM (1998) Methods of decoloration of textile wastewater. *Dyes Pigments.* 37: 335-356.
- Soares GMB, Hrdina R, Pessoa de Amorim MT, Costa-Ferreira M (2002) Studies on biotransformation of novel disazo dyes by laccase. *Proc. Biochem.* 37: 581-587.
- Stolz A (2001) Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Appl. Microb. Biotechnol.* 56: 69-80
- Supaka N, Juntongin K, Damronglerd S, Delia ML, Strehaiano P (2004) Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *Chem. Eng. J.* 99: 169-176.
- Swamy J, Ramsay JA (1999) The evaluation of white rot fungi in the decolorization of textile dyes. *Enz. Microb. Technol.* 24: 130-137.
- Toh YC, Yen JL, Obbard JP, Ting YP (2003) Decolourisation of azo dyes by white-rot fungi (WRF) isolated in Singapore. *Enz. Microb. Technol.* 33: 569-575.
- Tyson GW, Chapman J, Hugenholtz P, Allen EE, Ram RJ, Richardson PM, Solovyev VV, Rubin EM, Rokhsar DS, Banfield JF (2004) Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature* 428: 37-43.
- Vasdev K, Kuhad RC (1994) Decolorization of poly R-478 (Polyvinylamine sulfonate anthra pyridone) by *Cyathus bulleri*. *Folia Microbiol.* 39: 61-64.

- Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, Halpern AL, Rusch D, Eisen JA, Wu D, Paulsen I, Nelson KE, Nelson W, Fouts DE, Levy S, Knap AH, Lomas MW, Nealson K, White O, Peterson J, Hoffman J, Parsons R, Baden-Tillson H, Pfannkoch C, Rogers YH, Smith HO (2004) Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* 304: 66-74.
- Wagner M., Nielsen PH, Loy A., Nielsen JL, Daims H (2006) Linking microbial community structure with function: fluorescence in situ hybridization-microautoradiography and isotope arrays. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17: 83-91.
- Wang Y, Yu J (1998) Adsorption and degradation of synthetic dyes on the mycelium of *Trametes versicolor*. *Water Sci. Technol.* 38: 233-238.
- Xu Y, Leburn RE (1999) Treatment of textile dye plant effluent by nanofiltration membrane. *Separ. Sci. Technol.* 34: 2501-2519
- Yang Y, Wyatt DT, Bahorski M (1998) Decolorization of dyes using UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> photochemical oxidation. *Text. Chem. Color* 30: 27-35.
- Yesilada O, Cing S, Birhanli E, Apohan E, Asma D, Kuru F (2010) The evaluation of pre-grown mycelial pellets in decolorization of textile dyes during repeated batch process. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26: 33-39.
- Yu J, Wang X, Yue PL (2001) Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by *Pseudomonas* strains. *Wat. Res.* 35: 3579-3586.
- Zhang SJ, Yang M, Yang QX, Zhang Y, Xin BP, Pan F (2003) Biosorption of reactive dyes by the mycelium pellets of a new isolate of *Penicillium oxalicum*. *Biotechnol. Lett.* 25: 1479-1482.

