

“La Aplicación de la Enzima Laccasa para la eliminación de el colorante Índigo Carmín de las aguas residuales en Morelos”

Autores:

**Magdalena Amézquita
Andrés Angulo
Larissa Pastrana
Jaret Carranza
Paola Ampudia**

Asesores:

**Silvia Flores
Dra. Laura Torres
Dra. Lizbeth López Carrillo**

Escuela:

**Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey Campus
Cuernavaca**

CATEGORIA CIENTÍFICA

**Categoría Ciencias Biológicas, Biomédicas y Químicas
Categoría C**

Proyecto con Apoyo Externo

El uso de la enzima Laccase, para la eliminación de las propiedades tóxicas del colorante Índigo Carmín, en las aguas residuales de empresas Textiles en Morelos.

Este estudio se realizó en Cuernavaca Morelos y fue llevado a cabo por 5 estudiantes del Tecnológico de Monterrey Campus Cuernavaca con la ayuda del Instituto de Biotecnología (IBT) en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos durante los meses de Febrero y Marzo del 2007. El experimento consistió en el desarrollo de un proceso biotecnológico para dioxidar las propiedades tóxicas del tinte carmín añil en aguas contaminadas de industrias textiles. El experimento estuvo compuesto por 5 pruebas; 3 de ellas tuvieron dimetilformamida como solvente, cada una de ellas tuvo un Ph búfer diferente (pH5, pH6 y pH7). Realizamos entre 6 y 8 muestras con cada solución. La cuarta prueba fue hecha con un solvente diferente (Dimetil Sulfoxida) para ver si los resultados mejoraban. La última prueba fue llevada a cabo con un tinte diferente, Azul Ácido; y este experimento fue realizado sin un solvente.

Antecedentes

La actividad industrial del ser humano ha causado una enorme devastación del medio ambiente. En una investigación de la "Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) del Instituto Politécnico Nacional (IPN)" en compañía del doctor Juvencio Galíndez Mayer in company of the doctor Juvencio Galíndez Mayer, se estudió la biodegradación de compuestos usando bioprocesos aeróbicos.

En una entrevista al Dr. Mayer, él declaró que usualmente, las personas no saben de este tipo de contaminación hasta que ocurre un desastre ecológico. Como la muerte de aves migratorias.

Algunos colorantes provocan tanto daño ecológico que pueden afectar severamente la cadena alimenticia de los seres vivos, y de esta forma, alterar a la vez las áreas ecológicas provocando la extinción de especies.

Cuando hay un problema de este tipo, después de detectarlo, se determina las posibles técnicas para eliminar los elementos tóxicos. El método que proponemos es limpio y económico, la degradación biológica. El Dr. Mayer se ha dedicado a investigar qué microorganismos están capacitados para biodegradar pesticidas y colorantes que contaminan el agua.

Objetivos

- ◆ Determinar si la enzima Laccasa elimina las propiedades tóxicas del agua contaminada.
- ◆ Determinar si una variación en la concentración de la enzima Laccasa afectará la eficiencia en el proceso de eliminación del colorante.
- ◆ Determinar si un aumento en la temperatura afectará la eficiencia con la que la enzima lleva a cabo el proceso de degradación del colorante.
- ◆ Determinar si una disminución en la temperatura afectará la eficiencia con la que la enzima lleva a cabo el proceso de degradación del colorante.

Hipótesis

(Hi) Hipótesis de Investigación

La adición de 20 micro litros de la enzima Laccasa en 1ml de agua contaminada con el colorante Índigo Carmín, oxidará el 100% de sus propiedades tóxicas.

Metodología

Para empezar este fue un proyecto descriptivo-correlacional. Descriptivo por que obtuvimos las medidas exactas de la concentración del colorante Índigo Carmín, después de la oxidación de sus propiedades tóxicas, con el uso de la enzima Laccasa. Por otra parte, es correlacional por que medimos el grado de relaciones entre los efecto de la encima Laccasa en la propiedades tóxicas del colorante Índigo carmín en 53 muestras después de haberles administrado de 20 a 40 micro litros de la enzima Laccasa, con 1ml de buffer (de pH 4.5 a 7) y 20% del solvente correspondiente (Dimetilformamida, y Dimetilsulfóxido) a cada una de las muestras en un periodo de tiempo de 3 semanas. Además comparamos resultados obtenidos de la enzima, para determinar su efectividad en diferentes niveles de pH y con diferentes solventes que proporcionaban un amplio rango de ambientes polares y estuvo basado en previos estudios.

Nuestro diseño experimental fue un experimento puro. Intencionalmente manipulamos las variables independientes, que eran pH, tiempo, solvente, buffer y concentración, para poder analizar su efecto sobre la variable dependiente que eran las propiedades tóxicas del colorante Índigo Carmín. Controlamos la situación usando una muestra en blanco (sin concentración) y una altamente concentrada. Este nos proporcionó las referencias más altas y más bajas en el espectrofotómetro, que nos permitió analizar los resultados.

Resultados

Prueba #1

Colorante: Índigo Carmín

Buffer de pH 5

Solvente: Dimetil Sulfoxido

Hubo una decoloración del 1.6229% de la solución original.

En este experimento pudimos observar un progreso significativo en la decoloración de la solución del colorante índigo carmín en el buffer de pH5 en los primeros 6 minutos. Sin embargo, en la tercera medición hubo un incremento en la concentración del color, lo que significa que la enzima comenzó a transformar el índigo carmín en un colorante más oscuro en lugar de eliminarlo. Al final, en la última medición, observamos que la concentración había bajado de una manera considerable, lo que significa que la enzima laccasa primero oscureció la solución y después la empezó a decolorar.

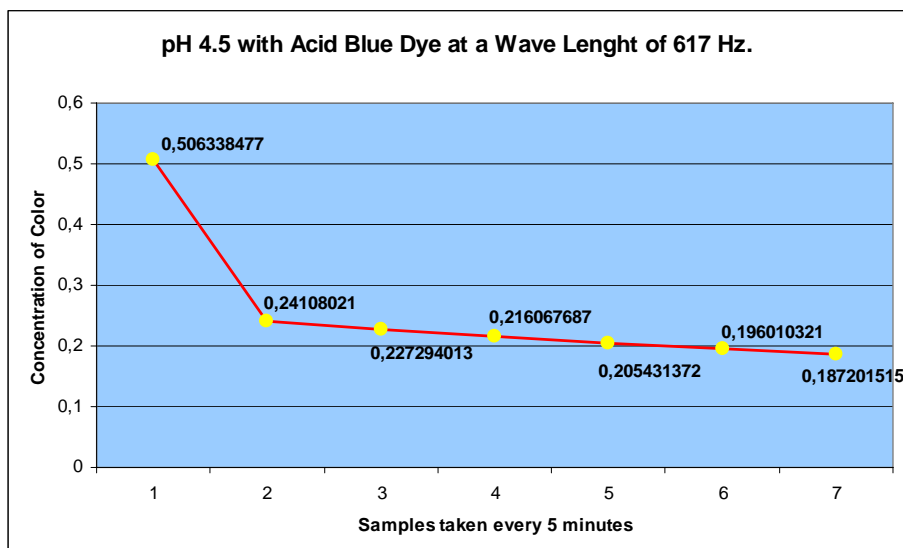
Prueba #2

Colorante: Azul Ácido

Buffer de pH 4.5

Hubo una decoloración del 63.0284% de la solución original.

Este experimento demostró un porcentaje significativo de decoloración del colorante azul ácido. En los primeros 5 minutos, observamos una decoloración de un 47.86%, el cual fue el cambio más radical en la solución. Desde el 6^{to} minuto hasta el 35^{avo}, el porcentaje de decoloración no fue relevante, pero aún decreciendo.



Prueba #3

Colorante: Índigo Carmín

Buffer de pH 6

Solvente: Dimetilformamida

Hubo una decoloración del 14.4888% de la solución original.

Este experimento fue realizado con un movimiento constante de la solución. Observamos un decrecimiento de la concentración del color de 24.98%. Sin embargo, en la 4ta medición, la concentración comenzó a subir, a la vez, pudimos observar en la solución que estaba en constante movimiento, que el color se oscurecía. En las siguientes 5 mediciones, el color continuó a subir. La siguiente fotografía demuestra el cambio que se demostró en esta prueba, el cual fue opuesto al esperado.



Prueba #4

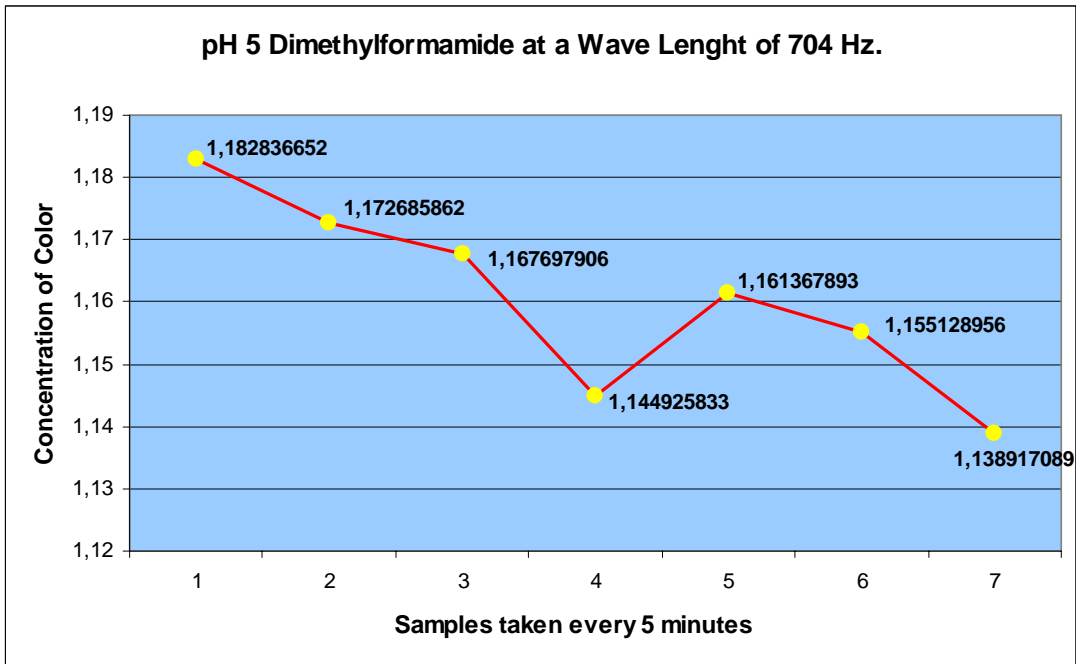
Colorante: Índigo Carmín

Buffer de pH 5

Solvente: Dimetilformamida

Hubo una decoloración del 3.7131% de la solución original.

Este experimento demostró una decrecimiento en las primeras 4 mediciones de 3.20% de la solución original. En la 5ta medición, hubo un incremento en el colorante de 1.41%. En la medición siguiente, la concentración decreció nuevamente el 1.93%. La enzima laccasa empezó a oscurecer la solución, sin embargo, en los últimos 10 minutos de la prueba, decreció la concentración del color.



Prueba #5

Colorante: Índigo Carmín

Buffer de pH 7

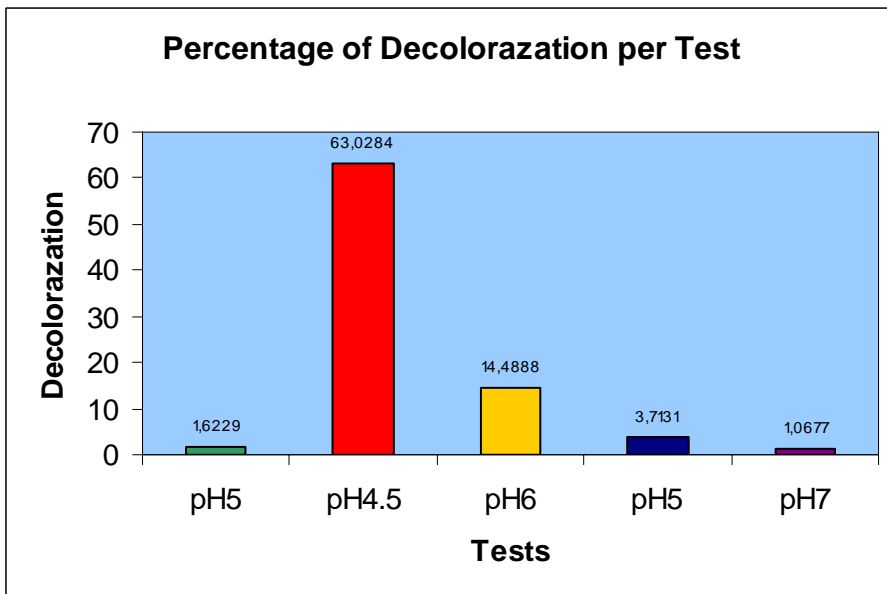
Solvente: Dimetilformamida

Hubo una decoloración del 1.0677% de la solución original.

Durante este experimento observamos cambios constantes en la solución. En los primeros 6 minutos, la concentración del color decreció, pero en los siguientes 6 minutos, incrementó, aunque nunca llegó al grado de concentración de la solución original.

Análisis de Resultados

La prueba más efectiva fue la Prueba #2, en la que utilizamos el colorante Azul Ácido. La gráfica demuestra que la enzima laccasa trabaja mejor con el colorante azul ácido que con el índigo carmín. También demuestra en qué pH la laccasa puede eliminar mejor el colorante índigo carmín.



Bibliografía

1. Developing uses for Laccase enzyme biotechnology applied to diverse industries. "Institute of Research for the Development IRD"
Published: November 16th, 2006
Accessed: Feb 25, 2007
http://www.mx.ird.fr/rubrique_accueil.php3?id_rubrique=377
2. Giridhararads, Anand. Water-scarce India, too, weighs a return to ancient practices "International Herald Tribune"
Published: August 20, 2005
Accessed: Jan 31, 2007
<http://www.ihf.com/articles/2005/08/19/news/rswatind.php>
3. Estudios de Aguas Residuales en comunidades rurales en México "INEGI"
Published: October, 23 2005
Accessed: February 25, 2007
<http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/contaminacion/ept.asp?t=msal04&c=335>
4. Company Kept 1984 Tap Water Tests Secret After Finding C8 Contamination in Ohio Town "Chemical Industry Archives Homepage"
Published: May 12, 2002
Accessed: January 30, 2007
<http://www.chemicalindustryarchives.org/>
5. Xian-Chun Jin. (2007) Decolorization of a dye industry residual waters. (16/02/07) (online)
www.dyedeco.ac.uk/secure/articles/pdfs/17086413.pdf
6. Problemas Ambientales Y Niveles De Emisión Y Consumo "Executive Summary Textiles"
Published: unknown
Accessed: January 26, 2007
http://forum.europa.eu.int/Public/irc/env/ippc_brefs/library?l=/translation_executive_2/textiles_esdoc/ EN_1.0_&a=d
7. Campos R, Kandelbauer A, Robra KH, Cavaco-Paulo A, Gubitz GM. (2001)
Indigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium rolfsii*
(online) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?itool=abstractplus&db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=abstractplus&list_uids=11500206
Portugal
Kandelbauer Andrea; Maute Oliver; Kessler Rudolf W.; Erlacher Angelika; Gubitz Georg M. (2004)
Study of dye Decolorization in an immobilized laccase enzyme-reactor using online spectroscopy
(online) <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=15980688>
Germany and Austria
8. Maria Chiara Colao, Stefania Lupino, Anna Maria Garzillo, Vincenzo Buonocore, and Maurizio Ruzzi (2006)
Decolourization experiments and effect of organic solvents on Lcc.
Published online 2006 October 12. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1618855>
Italy
9. Nyanhongo GS, Gomes J, Gubitz GM, Zvauya R, Read J, Steiner W. (2002)
Decolorization of textile dyes by laccases from a newly isolated strain of *Trametes modesta*.
(Online) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?itool=abstractplus&db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=abstractplus&list_uids=11996335
Austria
10. Elias Abadulla, Tzanko Tzanov, Silgia Costa, Karl-Heinz Robra, Artur Cavaco-Paulo, and Georg M. Gu' Bitz
Decolorization and Detoxification of Textile Dyes with a Laccase from *Trametes hirsute*
Aug. 2000, p. 3357-3362 Vol. 66, No. 8
(Online) <http://aem.asm.org/cgi/reprint/66/8/3357.pdf>
Austria and Portugal
11. Information Leaflet Private Water Supplies, USA, Drinking Water Inspectorate.
<http://www.dwi.gov.uk/consumer/faq/private.htm#10>
12. David Krantz and Brad Kifferstein, Water Pollution and Society, USA, University of Michigan, 1997
<http://www.umich.edu/~gs265/society/waterpollution.htm>
13. Patricia L. Meinhardt. Purpose of Physician On-Line Reference Guide, USA
American Water Works Association
<http://www.waterhealthconnection.org/chapter1.asp>
14. National Library of Medicine. Tox Town (Toxic Chemicals and Environmental health risks where you live and work) July 21, 2006
http://toxtown.nlm.nih.gov/text_version/chemical.php?name=chromium

15. Fishery Harbour Manual on the Prevention of Pollution - Bay of Bengal Programme
J. A. Sciortino; R. Ravikumar
Series title: Project reports (not in a Series) - MAG22
1999
<http://www.fao.org/docrep/X5624E/x5624e04.htm#1.7%20priority%20pollutants>
16. Riva, Sergio, Laccases: blue enzymes for green chemistry, pg. 1 Milano, Italy TRENDS in Biotechnology , May 2006
<http://www.aseanbiotechnology.info/21019577.pdf>
17. Couto, Susana, Laccases in the textile industry, Spain, Biotechnology and Molecular Biology Review Vol. 1 (4), pp. 117-122, December 2006
<http://72.14.253.104/search?q=cache:uGr75ZFD4loJ:www.academicjournals.org/bmbr/PDF/Pdf2006/DEC/Couto%2520and%2520Toca-Herrera.pdf>
18. V. RENGANATHAN , Phenolic Azo Dye Oxidation by Laccase from *Pyricularia oryzae* p. 4374–4377 , 1995, American Society for Microbiology <http://aem.asm.org/cgi/reprint/61/12/4374.pdf>
19. Øllgaard, Henriette , Survey of azo-colorants in Denmark:Consumption, use, health and environmental aspects, pg. 178, Denmark, Danish Environmental Protection Agency November, 1998 <http://www2.mst.dk/Udgiv/publications/1999/87-7909-548-8/pdf/87-7909-546-1.pdf>
20. Haglund, Carl. Degradation of environmental pollutants by *Trametes trogii*, Argentina Laboratorio de Microbiologia, Departamento de Química Biologica, Universidad de Buenos Aires, Pg. 102 September 2002
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?itool=plus&db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=plus&list_uids=12415898
21. ZAVALETA Moises. Dir .de Economía forestal, textil y de calzado. (2007) Programa para la competitividad textil a nivel mundial.(online)Secretaria de Economía. <http://www.economia.gob.mx/textil/?P=1326>
22. Xian-Chun Jin. (2007) Decolorization of a dye industry residual waters. (16/02/07) (online)
www.dyedeco.ac.uk/secure/articles/pdfs/17086413.pdf
23. Bertchen Kohrs **Humanitarian news and analysis**. UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs (Collective authors). 27 October 2006, NAMIBIA: Textile factory creates jobs but causes pollution, 17/02/07, (Online)
<http://www.irinnews.org/report.aspx?reportid=61422>
24. **Humanitarian news and analysis**. UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs (Collective authors). 27 October 2006, NAMIBIA: Textile factory creates jobs but causes pollution, 17/02/07, (Online)
<http://www.irinnews.org/report.aspx?reportid=61422>
25. Environmental Assessment of Textile **Industries**. (2006) **(collective Authors). (Online)**
http://www.nec.gov.bt/2006/textile_final.pdf
26. **Water Sanitation and Health**. (2001) (Collective Authors) World Water Day/ Pollution from industry, mining and agriculture. (19/02/07) (Online) World Health Organization (WHO).
http://www.who.int/water_sanitation_health/industrypollution/en/index1.html