



# Tratamiento de efluentes industriales coloreados con *Pleurotus* spp.

Suyén Rodríguez, Maikel Fernández, Rosa C. Bermúdez  
y Humberto Morris

Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Santiago de Cuba, Cuba

## Resumen

Se estudia la decoloración de los residuos líquidos de destilería (vinaza) y del cultivo de setas comestibles (extracto líquido de pulpa de café), mediante el cultivo sumergido del hongo *Pleurotus* spp., así como la producción de la enzima lacasa por este hongo durante el proceso, empleando estos residuos coloreados. Se muestra un efecto inhibitorio de ambos residuos cuando no se hacen diluciones. En el cultivo sumergido se observó una buena producción de biomasa (14,8 g/l para vinaza y 5,4 g/l para extracto líquido de pulpa de café) y excreción de enzima a los 10 días de fermentación (14,1 U/ml para vinaza y 3,0 U/ml para extracto líquido de pulpa de café), siendo significativamente superiores en los medios con vinaza. Se evidenció que el tratamiento con este hongo reduce la demanda química de oxígeno y el color de los residuos estudiados, contribuyendo al tratamiento biológico de los mismos.

## Palabras clave

*Pleurotus ostreatus*, Vinaza, Extracto líquido de pulpa de café, Cultivo sumergido, Lacasa

# Treatment of coloured industrial effluents with *Pleurotus* spp.

## Summary

The decolouration of fermentation residues (vinasse) and liquid extract of coffee pulp by the mushroom *Pleurotus ostreatus* was studied in addition to laccase activity. The fungus was inhibited in both residues when they remained undiluted. In submerged cultivation on wastewaters a good production of biomass (14.8 g/l for vinasse and 5.4 g/l for extract of coffee pulp) and also laccase activity (14.1 U/ml for vinasse and 3.0 U/ml for extract of coffee pulp) up to the 10 days of fermentation was observed, being significantly greater in the culture with vinasse. It was shown that treatment with this mushroom reduces both the chemical oxygen demand and the colour, contributing to their biological treatment.

## Key words

*Pleurotus ostreatus*, Vinasse, Water extract from coffee pulp, Submerged culture, Laccase

## Introducción

Los efluentes industriales vertidos al medio ambiente provocan diferente impacto sobre éste en función de su naturaleza. En este sentido, podemos hablar de sólidos en suspensión, carga iónica, toxicidad y color. El color, pocas veces considerado una forma de contaminación a pesar de los daños que provoca, puede estar asociado a la

presencia de compuestos tóxicos y grupos cromóforos o polímeros de alto peso molecular como la lignina. Durante el tratamiento de un residuo coloreado se debe prestar atención a la reducción o eliminación del color, contribuyendo de esta forma a reducir el impacto sobre los ecosistemas donde son vertidos.

A partir de la década del 80 se propuso el empleo de hongos de pudrición blanca, como alternativa para realizar la decoloración de efluentes [1] y para la degradación de compuestos xenobióticos y recalcitrantes [2,3]. La aceptación creciente de estos organismos en procesos de tratamiento y/o biorremediación se debe a que los hongos de pudrición blanca poseen un sistema enzimático extracelular de carácter no específico, capaz de romper una gran cantidad de enlaces diferentes y, por lo tanto, de degradar una gran variedad de compuestos orgánicos. *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* y *Pleurotus* spp. son los hongos que se han identificado con mayores potencialidades para ser empleados con estos fines.

Dentro de las enzimas constituyentes del complejo multienzimático ligninolítico de *Pleurotus* spp. se encuentra la lacasa (*p*-difenoil:dioxigeno:oxido-reductasa, EC 1.10.3.2), la cual participa en la degradación de la lignina y compuestos similares en ausencia de lignina peroxidasa

### Dirección para correspondencia:

Dra. Suyén Rodríguez Pérez  
Centro de Estudios de Biotecnología Industrial  
Apdo. Postal 4011  
90400 Santiago de Cuba, Cuba  
Tel.: +53-22 632095  
Fax: +53-22 632 689  
E-mail: suyen@cebi.uo.edu.cu

Aceptado para publicación el 29 de diciembre de 2003

©2003 Revista Iberoamericana de Micología  
Apdo. 699, E-48080 Bilbao (Spain)  
1130-1406/01/10.00 Euros

y manganeso peroxidasa [4]. Esta enzima ha sido empleada de forma inmovilizada para remover compuestos xenobióticos de residuos acuosos [5,6], la detoxificación de compuestos fenólicos en vinos [7] y en la obtención de hidrolizados de lignocelulosa antes de ser usados para la fermentación alcohólica por *S. cerevisiae* [8], encontrándose la participación de esta enzima en la decoloración de melazas y colorantes [9,10].

El objetivo del presente trabajo consistió en el estudio del cultivo sumergido de *Pleurotus ostreatus* en residuos fuertemente coloreados con vista al tratamiento de los mismos y la evaluación de la excreción de lacasa en estos medios no convencionales.

## Materiales y Métodos

Se ensayaron dos residuos industriales fuertemente coloreados como medio de cultivo: el extracto acuoso obtenido de la pasteurización de la pulpa de café (ELP), principal residuo líquido obtenido en la planta de setas comestibles y la vinaza de destilería (V), proveniente de la fermentación de las mieles finales para la obtención de alcohol en la Destilería "Hatuey" de Santiago de Cuba. Ambos residuos fueron recolectados en pomos plásticos, centrifugados a 3000 rpm y almacenados en refrigeración a 4 °C.

Se utilizó la cepa de basidiomiceto *Pleurotus* spp. CCEBI 3024 (*Pleurotus ostreatus* x *Pleurotus pulmonarius*), de la Colección de Cultivos del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial de la Universidad de Oriente, conservados en Agar Extracto Malta a 6 °C. La misma fue crecida en placas de 9 cm de diámetro con agar glucosado de patata hasta cubrimiento total de la placa (aproximadamente siete días).

## Procedimiento experimental

*Estudio del crecimiento del hongo sobre los residuos.* Se estudió el crecimiento en placas Petri (medios sólidos). Se inocularon porciones de micelio de 1 cm de diámetro, en placas con un medio sintético para hongos (MSH) que contenían los residuos vinaza y extracto líquido de pulpa a concentraciones de 25, 50 y 100%. Se utilizó como control el medio sintético sin residuo. El pH se ajustó a 6,5 en todos los casos. Las placas se incubaron durante siete días a 30 °C, midiéndose el diámetro de la colonia diariamente.

Paralelamente se realizó un ensayo para determinar el tiempo de excreción de lacasa, cultivando el hongo en una placa con el medio sintético y guayacol. Se siguieron las mismas condiciones experimentales.

*Cultivo sumergido de Pleurotus spp. en los residuos coloreados.* Se realizó una fermentación sumergida con ambos residuos líquidos, evaluando el crecimiento del hongo para 10 y 20 días de fermentación. También se determinó la actividad de la enzima lacasa, los niveles de decoloración de los residuos alcanzados y la remoción de la carga orgánica contaminante expresada como demanda química de oxígeno (DQO).

El micelio fue raspado con una espátula estéril, adicionado a un erlenmeyer conteniendo 50 ml de NaCl al 1% y agitado vigorosamente. Se tomaron 5 ml y se inocularon en balones con 50 ml del medio sintético para hongos (MSH), al cual se le añadió el residuo al 50% (v/v). La composición del MSH fue (en g/l): glucosa 20; extracto de levadura 0,5; L-asparagina 0,65;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0; KCl 0,5;

$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  0,5. Se le añade, como parte del medio MSH, 1ml de solución de microelementos (1000x) compuesta por (en mg/l): ácido bórico 500,  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  40, KI 100,  $\text{FeCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$  200,  $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$  400,  $\text{NaMnO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$  200,  $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  400. El medio fue ajustado a pH seis y autoclavado a 121 °C, 1 atm. Todos los cultivos fueron sumergidos con agitación a 150 rpm, en la oscuridad y con temperatura de 27-30 °C. El MSH sin residuos fue utilizado como medio control para los experimentos.

En cada estudio se realizaron experimentos tipo, en los cuales se procesaron 5 réplicas para cada tratamiento. Para el tratamiento estadístico de los resultados se utilizó el software Statgraphics Plus<sup>TM</sup>. Se utilizaron las herramientas de Análisis de Regresión y Comparación de Rectas de Regresión, ANOVA (II). Se verificó la normalidad de los datos experimentales mediante el test de normalidad Kolmogorov-Smirnov y se aplicaron diseños de clasificación simple. En el caso de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos experimentales, las medias fueron comparadas mediante el test de rangos múltiples de Duncan. En todos los casos se utilizó un nivel de significación del 1%.

*Métodos analíticos.* La determinación del peso seco para la evaluación de la biomasa, la DQO y la luminancia como medida del color, se realizaron según describe el Standard Method [11].

Se tomó como medida del color de las muestras la determinación de la luminancia, según refiere la bibliografía citada, ya que la luminancia (%) es una medida de cuán clara es percibida la muestra por el ojo humano y se determina a partir de la medición de la transmitancia para diez longitudes de onda diferentes.

El cálculo de la remoción del color se realizó mediante las siguientes ecuaciones:

$$R = (A_i - A_f)/A_i$$
$$A = 2 - \text{Log } L$$

donde:

L: Valor de luminancia (%)

R: Remoción de color

A: Absorbancia obtenida a partir de los valores de luminancia inicial (i) y final (f)

Para determinar si el color era absorbido por el micelio del hongo se procedió a recoger los pellets crecidos en cada residuo en 50 ml de MSH a pH 6,5 y se llevó a cabo una extracción a 220 rpm a 37 °C durante una hora.

La actividad enzimática (lacasa) fue medida siguiendo la oxidación del guayacol a 460 nm [12], en una mezcla de reacción a 30 °C conteniendo 10 mmol/l de guayacol y 50 mmol/l de tampón fosfato a pH 6,0. Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que produce un incremento de absorbancia de 1 unidad/min.

## Resultados y discusión

*Estudio del crecimiento del hongo sobre los residuos.* Se evaluó el efecto inhibitorio de los residuos ensayados sobre la cepa utilizada, para lo cual se determinó la velocidad de crecimiento específico (m) a partir del crecimiento micelial diario en medio Agar-MSH conteniendo los residuos Vinaza y ELP a las concentraciones de 25, 50

y 100% comparativamente con un control del medio Agar-MSH. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Efecto de la concentración de los residuos sobre el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*.

Medio de cultivo	% del residuo	$\mu$ (día <sup>-1</sup> )
Vinaza	25	8.695 <sup>a</sup>
	50	6.284 <sup>b</sup>
	100	3.625 <sup>c</sup>
Extracto líquido de pulpa	25	6.984 <sup>b</sup>
	50	6.131 <sup>b</sup>
	100	5.390 <sup>c</sup>
Control	-	6.389 <sup>b</sup>

Letras iguales en la misma columna, no hay diferencias significativas. Para un  $\alpha = 0,01\%$ .

Se observa un efecto inhibitorio de los residuos a partir de 50%, siendo estas diferencias significativas cuando se compara el crecimiento para concentraciones del 100% de los mismos con el control. Este efecto puede deberse al carácter tóxico, debido a la presencia de compuestos recalcitrantes e inhibidores del crecimiento que llegan a ellos procedente de las mieles finales o de la pasteurización de la pulpa de café, entre los que pueden mencionarse el furfural, derivados premelanoidinos de intensa coloración, fenoles y derivados del ácido caféico [13,14] que pueden estar interfiriendo en el crecimiento del micelio.

Sin embargo, la vinaza al 25% tiene un efecto estimulante del crecimiento, lo que puede estar motivado porque a esta concentración los componentes tóxicos se encuentran por debajo de sus concentraciones críticas no afectando el crecimiento, prevaleciendo entonces el efecto favorable para el crecimiento que tienen la presencia de aminoácidos y vitaminas, en los cuales son ricas las vinazas [15]. En todos los casos, el desarrollo del micelio presenta un crecimiento denso y voluminoso.

Se evidenció la excreción de lacasa por la cepa a partir del quinto día por la formación de un halo coloreado en el medio sintético con guayacol.

**Cultivo sumergido.** Se aprecia un crecimiento apropiado del hongo en los medios residuos (5,4 g/l para ELP y 14,8 g/l para vinaza como promedio) para 10 días de cultivo, obteniéndose valores de biomasa cercanos o superiores en casi todos los tratamientos con vinaza, a los encontrados para 16 días de fermentación en medio sintético (8,6 g/l) [16]. Los valores obtenidos fueron significativamente superiores en la vinaza, debido a que ésta presenta en su composición mayor contenido de carbohidratos, nitrógeno, y fósforo, residuos del proceso fermentativo y nutrientes esenciales para el crecimiento de los microorganismos (Tabla 2). El ELP, además de ser pobre en los nutrientes anteriormente mencionados, posee por su procedencia compuestos que resultan antifisiológicos, como la cafeína. No obstante, se obtuvo mayor crecimiento micelial en este trabajo que en otros en los que el hongo es cultivado en residuos similares en composición, obteniéndose valores de biomasa por debajo de 5 g/l [17]. Los pellets obtenidos durante el crecimiento micelial, típico del cultivo sumergido con agitación, resultaron bastante homogéneos; siendo pequeños y abundantes en los primeros 5 días (0,2-0,3 cm), reduciéndose la cantidad y alcanzándose promedios de tamaño de 1,5-2 cm de diámetro al concluir la experimentación, probablemente por fusiones de éstos.

**Tabla 2.** Caracterización de los residuos de vinaza y ELP.

Parámetros	Vinaza	ELP
pH	4.2	5.5
DQO (g/l)	73.6	59.4
DBO (g/l)	48.2	31.5
Sólidos totales (g/l)	58.6	7.9
Carbohidratos (g/l)	8.24	1.15
Nitrógeno Total (mg/l)	707.59	0.58
Fósforo (mg/l)	4.82	2.95

La obtención de una buena cantidad de biomasa en los residuos estudiados permite obtener a partir de éstos, inóculos adaptados a las características del residuo y el agotamiento de los mismos, no sólo en cuanto al color, sino también en la biodegradación de otros compuestos que contribuyen a su poder contaminante.

En las bibliografías consultadas existen diferencias en cuanto al perfil enzimático en el tiempo y los valores de decoloración obtenidos, atendiendo al hongo empleado, medio utilizado y condiciones del cultivo.

Como se aprecia en la Figura 1, se obtuvieron altas actividades de lacasa en vinaza, y en los medios con ambos residuos las actividades fueron detectadas durante la primera fase del crecimiento (cultivos tropofásicos). Se mantienen valores altos de actividad enzimática en los medios con residuos durante la fase del metabolismo secundario (crecimiento idiofásico) a diferencia del medio control, donde después de alcanzarse un máximo al sexto día de 1,5 U/ml, se aprecia una caída en los valores de actividad.

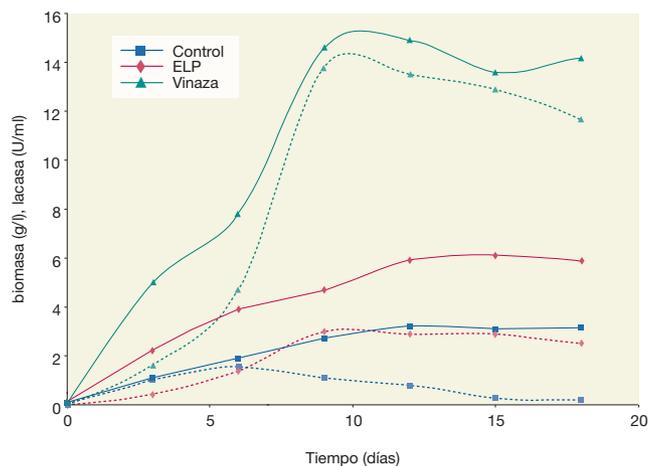


Figura 1. Cinética de crecimiento (—) y de producción de lacasa (- - -) por *Pleurotus ostreatus* CCEBI 3024 sobre residuales coloreados.

La producción de lacasa está directamente relacionada con la cantidad de biomasa producida, al igual que en otras especies de *Pleurotus* [18]. En contraste con otros hongos ligninolíticos en los que la actividad ligninolítica se expresa e incrementa en concentraciones limitantes de nutrientes en el cultivo, (ej. las actividades lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa de *Phanerochaete chrysosporium*), en *Pleurotus* la lacasa no es regulada por condiciones limitantes de nutrientes, pues cantidades suficientes o en exceso de éstos estimulan esta actividad y la producción de biomasa. Similar comportamiento de la actividad lacasa ha sido evidenciado en estudios con hongos de pudrición blanca productores de lacasa-manganeso peroxidasa [19].

La detección de una alta actividad lacasa en los medios con vinaza y la permanencia de ésta durante todo el crecimiento del hongo, permite valorar la obtención de esta enzima en este medio no convencional para su empleo de forma inmovilizada, por inmovilización de pellets o en crudos semipurificados. La lacasa ha sido empleada para fines ambientales o de otros tipos: en la degradación de compuestos xenobióticos y recalcitrantes como los HPA y pesticidas [3,20], en métodos analíticos [4] y en la valoración de hidrolizados lignocelulósicos [8]. En el tratamiento de residuos, el mayor uso de lacasa está en la industria de pulpa y papel, donde su inclusión en el pulpeo ha sido seleccionada como una de las mejores alternativas industriales [21], además de la degradación de tintes o colorantes textiles [22]. Esta enzima tiene la ventaja de no requerir la adición de peróxido de hidrógeno como cofactor, y en muchos trabajos ha estado correlacionada su actividad con la degradación de compuestos tóxicos y decoloración.

Se realizó un experimento para estudiar las potencialidades de este organismo en el tratamiento de ambos residuos, para los tiempos de fermentación de 10 y 20 días; teniendo en cuenta la obtención de una cantidad de biomasa apropiada. En las figuras 2 y 3 se observa un incremento de la biomasa, la remoción del color y de la DQO, además de una disminución de la actividad enzimática al tiempo final de fermentación.

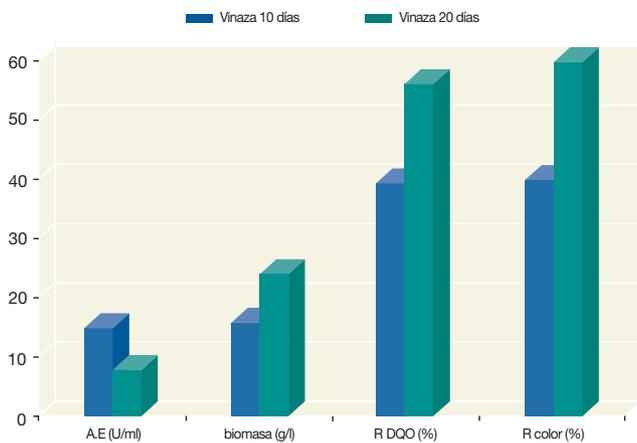


Figura 2. Tratamiento de la vinaza (V) con *Pleurotus*.

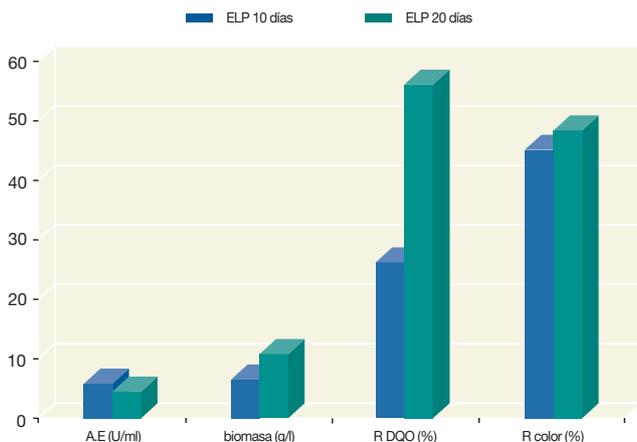


Figura 3. Tratamiento del residual de setas (ELP) con *Pleurotus*.

La mayor actividad enzimática se obtiene en ambos residuos a los 10 días de fermentación, coincidiendo con su perfil (Figura 1) y con otros trabajos de degradación de residuos, donde la actividad lacasa de *Pleurotus* spp. se incrementa rápidamente desde el sexto día de fermentación y luego decrece hasta un cuarto de la actividad inicial a los 18 días, obteniéndose un máximo a los 10-13 días [18]. En el medio con vinaza se obtuvo la mayor actividad de lacasa (14,1 U/ml), incrementándose ésta alrededor de 100 veces con respecto al medio control para el mismo tiempo.

En el MSH el máximo de actividad de la enzima se alcanzó al sexto día, coincidiendo con el tiempo de aparición del halo coloreado en el medio sólido con guayacol; a los 10 días, los valores de actividad de la lacasa caen hasta 0,14 U/ml. Para el residuo ELP se obtuvieron valores de actividad superiores a los detectados en el medio control para los tiempos seleccionados, por lo que se puede decir que la presencia en ambos residuos de compuestos fenólicos y precursores flavonoides, para el caso de la vinaza (conocidos como inductores de la actividad lacasa) podrían favorecer la síntesis de esta enzima y una permanencia de la actividad enzimática por un período más prolongado.

La reducción de la actividad enzimática para el tiempo final de fermentación podría atribuirse a la acumulación de subproductos que la inhiben, producidos durante el metabolismo del hongo, por lo que es necesario continuar profundizando en el estudio de la influencia de la edad del cultivo en la producción y actividad de la enzima.

En las figuras anteriormente referidas se observa que la mayor parte del color desaparece en los primeros 10 días coincidiendo con el período de mayor actividad de lacasa, aunque luego continúa la decoloración hasta los 20 días pero en menor proporción. Igualmente se aprecian mayores valores de luminancia (mayor decoloración de las muestras) en el residuo con vinaza donde existe mayor actividad de la enzima. La decoloración de los residuos tratados sigue un comportamiento similar en la tropofase a la actividad lacasa (Figura 4), observándose un incremento de la velocidad de ocurrencia a partir del sexto día, coincidiendo con la excreción significativa de la enzima en el medio control. Es en esta etapa donde también existe una mayor disponibilidad de nutrientes y, según Pellinen y colaboradores [23], cuando la glucosa es utilizada como sustrato para el crecimiento, una concentración mínima de 2 g/l es necesaria para que el hongo mantenga su capacidad

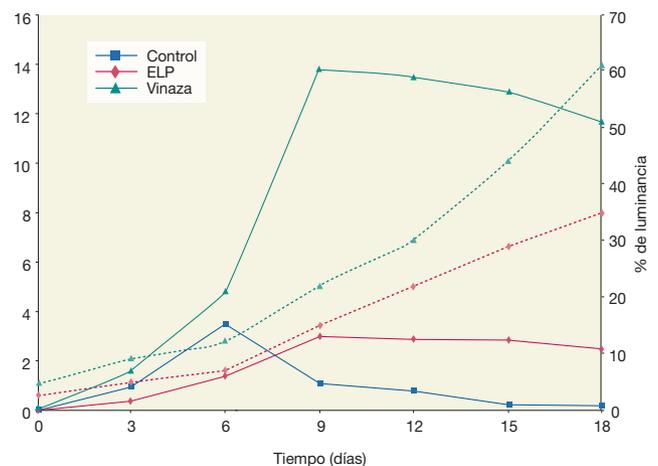


Figura 4. Relación entre la actividad lacasa (—) y la decoloración (---) de los residuales tratados con *Pleurotus ostreatus* CCEBI 3024.

de decoloración, obteniéndose los niveles más altos de remoción a concentraciones altas de glucosa (concentraciones mayores de 10 g/l). Como se aprecia en la Figura 4, se evidencia que la lacasa es excretada en estadios tempranos del crecimiento del hongo, participando de modo significativo en la decoloración de estos residuos. Cuando, al parecer, las condiciones del medio comienzan a ser limitantes para el crecimiento (idiofase), se producen otras enzimas o mecanismos con la finalidad de degradar compuestos complejos (relacionados generalmente con el color). En otros trabajos se ha encontrado que existe cierta correlación entre la producción de esta enzima por *Pleurotus* spp. y la decoloración de residuos con tintes [1,20], además de la existencia de otros sistemas enzimáticos como la citocromo P-450 o peroxidasas que contribuyen a la reducción del color, empleando como organismos para el tratamiento este y otros hongos de pudrición blanca [24,25].

Se logra eliminar el 39% y el 44% del color presente para vinaza y ELP, respectivamente, a los 10 días de tratamiento. No se evidencia absorción significativa del color en el micelio, pues los valores retenidos no superan el 1% de las determinaciones de luminancia al final de las experiencias. En el caso de los cultivos en vinaza, la remoción de color tiene una estrecha correspondencia con la remoción de la DQO existiendo valores similares en la reducción de ambos parámetros, de lo que puede inferirse que gran parte de la carga orgánica degradada por el hongo

es aportada por compuestos coloreados. Para los cultivos en ELP, la mayor parte de la desaparición de color ocurre durante los primeros 10 días, coincidiendo con las mayores actividades de lacasa, como ya se ha dicho, pues se logra un incremento de sólo el 0,3% cuando se duplica el tiempo de tratamiento. Por otro lado, sólo se elimina menos de la mitad de la DQO total removida, a los 10 días, en el ELP tratado con *Pleurotus*, por lo que podemos plantear que permanecen en éste residuos compuestos coloreados que no son biodegradados, sugiriendo la combinación de otros tratamientos para la reducción más efectiva del color.

El tratamiento con *Pleurotus* logró el 55% de la eliminación de la carga orgánica contaminante de ambos residuos líquidos, lo que evidencia las potencialidades del tratamiento de residuos altamente contaminantes con este organismo. Además, los valores significativos de actividad lacasa y biomasa en vinaza y extracto líquido de pulpa permitirán valorar otras estrategias en el tratamiento como la inmovilización en reactores, la recirculación del residuo para su agotamiento y aprovechamiento de la enzima excretada.

Con estos resultados se evidencia que el empleo del hongo ligninolítico *Pleurotus* spp. para el tratamiento de residuos coloreados, constituye una alternativa que permite biodegradar y reducir el impacto contaminante de residuos de diferentes naturalezas.

## Bibliografía

- Rodríguez E, Pickard M, Vazquez-Duhalt R. Industrial dye decolorization by laccases from ligninolytic fungi. *Current Microbiology* 1999; 38: 27-31.
- Higson FK. Degradation of xenobiotics by white rot fungi. En: Ware GW (Ed.) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. New York, Springer Verlag, 1991: 122-125.
- Eggen T. Bioremediation of recalcitrant aromatic organic pollutants with white rot fungi. Doctor Scientiarum Theses. Jordforsk, Norway. Agricultural University of Norway, 2000.
- Mayer AM, Staples RC. Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochemistry* 2002; 60: 551-565.
- Crecchio C, Ruggiero P, Pizzigallo MDR. Polyphenoloxidases immobilized in organic gels: properties and applications in the detoxification of aromatic compounds. *Biotechnol Bioengin* 1995; 48: 585-591.
- Shüitzendüel A, Majancherczk A. Degradation of fluorene, phenanthrene, fluoranthene, and pyrene lacks connection to the production of extracellular enzymes by *Pleurotus ostreatus* and *Bjerkandera adusta*. *International Biodeterioration* 1999; 43: 93-100.
- Kersten PJ, Kalyanaraman B, Hammel KE, Reinhammar B, Kirk TK. Comparison of lignin peroxidase, horseradish peroxidase and laccase in the oxidation of methoxybenzenes. *Biochem J* 1990; 268: 475-480.
- Jönsson LJ, Palmqvist E, Nilvebrant NO, Hahn-Hägerdal B. Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998; 49: 691-697.
- Schliephake K, Lonergan GT. Laccase variation during dye decolorisation in a 200 L packed-bed bioreactor. *Biotechnol Lett* 1996; 18: 881-886.
- Novotny C, Rawal B, Bhatt M, Patel M, Sasek V, Molitoris HP. Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. *J Biotechnol* 2001; 89: 113-122.
- American Public Health Association. *Standard Methods for the examination of water and wastewater* 17<sup>th</sup> ed., Washington, 1989.
- Palmieri G, Giardina P, Bianco C, Scaloni A, Capasso A, Sannia G. A novel white lacasa from *Pleurotus Ostreatus*. *J Biol Chem* 1997; 272: 31301-30307.
- ICIDCA. *Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar*. La Habana, GEPLACEA-ICIDCA- PNUD (Eds.), 1990.
- López Z, Sánchez J, Bello R. Coffee wastes: quality of effluent water from de pasteurizing of coffee pulp. *Proceeding 16<sup>th</sup> International Scientific Colloquium on Coffee*, Kyoto, 1999: 440-446.
- Bermúdez RC, Maraón A. Caracterización del residual de la destilería "Hatuey" de Santiago de Cuba. *Resúmenes del X Foro Nacional de Ciencia y Técnica*, Santiago de Cuba, 1998: 12-16.
- Guillén G, Márquez F, Sánchez J. Producción de biomasa y enzimas ligninolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. *Rev Iberoam Micol* 1998; 15: 302-306.
- Nieto-López C, Sánchez-Vázquez J. Mycelial growth of *Pleurotus* and *Auricularia* in agroindustrial effluents. *Micología Neotropical Aplicada* 1997; 10: 47-56.
- Das N, Sengupta S, Mukherjee M. Importance of laccase in vegetative growth of *Pleurotus florida*. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 4120-4122.
- Kerem Z, Friesem D, Hadar Y. Lignocellulose degradation during solid-state fermentation: *Pleurotus ostreatus* versus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58: 1121-1127.
- Bending G, Firloux M, Walker A. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. *FEMS Microbiology Letters* 2002; 212: 59-63.
- Feijoo G, Lema JM. Tratamiento de efluentes de industrias de la madera con compuestos tóxicos y reocalcitrantes mediante hongos. *Revista Afinidad* 1995; LI: 171-180.
- Yesilada O, Asma D, Cing S. Decolorization of textile dyes by fungal pellets. *Process Biochem* 2003; 38: 933-938.
- Pellinen J, Yin C, Joyce T, Chang H. Treatment of chlorine bleaching effluent using a white rot fungus. *J Biotechnol* 1988; 8: 67-76.
- Levin L, Viale A, Forchiassin A. Degradation of organic pollutants by the white-rot basidiomycete *Trametes trogii*. *Int Biodeter Biodegrad* 2003; 52: 1-5.
- Shin K, Oh I, Kim C. Production and purification of Remazol brilliant blue R decolorization peroxidase from the culture filtrate of *Pleurotus ostreatus*. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 1744-1748.