

# PRUEBA DE CONCEPTO PARA LA OBTENCIÓN DE PIGMENTOS DE USO TEXTIL LIBERADOS POR UNA CEPA DE *PENICILLIUM SP* DURANTE LA FERMENTACIÓN

## PROOF OF CONCEPT FOR OBTAINING PIGMENTS FOR TEXTILE USE RELEASED BY A STRAIN OF *PENICILLIUM SP* DURING FERMENTATION

Valentina Muñoz Vélez\*; Gloria Daniela Rosero Apraez\*\*; Nelson hernando Caicedo ortega\*\*\*

### Resumen:

La presencia de pigmentos químicos en aguas residuales, convierten a la industria textil en una de las más contaminantes a nivel mundial. Debido al impacto ambiental y la dificultad de remoción de los colorantes, el estudio de otras alternativas se ha incrementado en los últimos años. Los pigmentos naturales, provenientes de plantas y microorganismos, son de alto interés, puesto que sobresalen por su capacidad de presentar altos rendimientos en condiciones controladas, incurriendo en menores costos de producción. Con el fin de aprovechar la capacidad de los microorganismos, el presente estudio pretendió validar el diseño conceptual de un bioproceso orientado a la producción de un pigmento rojo mediante el cultivo de hongos del género *Penicillium sp*. Para ello, se evaluaron distintas condiciones: medio de cultivo Extracto de malta (ME) y Papa dextrosa (PD), concentración inicial de esporas ( $1 \times 10^3$  y  $1 \times 10^6$  esporas/mL), pH (4, 5.5) y velocidad de agitación (90 y 200 rpm), durante 14 días, bajo condiciones de temperatura cercanas a los 29°C, seguido de la obtención del pigmento y su aplicación en la tinción de un material textil. La liberación de pigmento ocurrió en el medio papa dextrosa inoculado con la suspensión correspondiente a  $1 \times 10^6$  esporas/mL, con un valor de pH de 5.5 y una velocidad de agitación de 90 rpm. Además, el pigmento obtenido presentó afinidad por las fibras de algodón, en especial cuando se utilizó ácido acético como mordiente.

**Palabras clave:** Fermentación, Pigmentos, *Penicillium sp*, Textiles, Prueba de concepto.

### Abstract:

The release of chemical pigments in wastewater makes the textile industry one of the most polluting industries in the world. Due to the environmental impact and the difficulty of removing dyes, the study of other alternatives has increased in recent years. Natural pigments, from plants and microorganisms, are of great interest, since they stand out for their capacity to present high yields under controlled conditions, incurring lower production costs. In order to take advantage of the capacity of microorganisms, the present study aimed to validate the conceptual design of a bioprocess oriented to the production of a red pigment through the cultivation of fungi of the genus *Penicillium sp*, by means of a fermentation in potato dextrose

\* Facultad de Ingeniería, Departamento de ingeniería Bioquímica, Universidad Icesi, Cali, Colombia, valentinamo716@gmail.com

\*\* Facultad de Ingeniería, Departamento de ingeniería Bioquímica, Universidad Icesi, Cali, Colombia, daniela.ra241299@gmail.com

\*\*\* Facultad de Ingeniería, jefe de Departamento de ingeniería Bioquímica, Universidad Icesi, Cali, Colombia, nhcaicedo@icesi.edu.co

medium for 14 days, under conditions of temperature (29°C), pH (4, 5.5) and agitation speed (90 and 200 rpm), followed by obtaining the pigment and its application in the dyeing of a textile material. The major pigment release occurred at a pH value of 5.5, temperature of 29°C and agitation speed of 90 rpm. In addition, the pigment obtained showed affinity for cotton fibers, especially when acetic acid was used as mordant.

**Key words:** Fermentation, Pigments, *Penicillium* sp, Textiles, Proof of concept.

## 1. Introducción

Colombia es uno de los países de mayor concentración de empresas textiles, donde el Valle del Cauca es casa de muchas de estas empresas, entre las que se encuentran: Nova, Tex Medidas, Coltex S.A, entre otras. Dicha industria a pesar de ser una de las más importantes e influyente a nivel mundial, ocupa el segundo lugar en la contribución a la contaminación ambiental, debido a que en el proceso de tinción usando pigmentos químicos utiliza de seis a nueve mil millones de litros de agua, y una alta cantidad de recursos energéticos cada año (Anjaneyulu et al., 2005 y Díaz, et al., 2007). Además, la presencia de compuestos químicos en aguas residuales es responsable de efectos nocivos sobre la flora y la fauna acuática (Álvarez, 1999), motivo por el cual la remoción de dichos pigmentos mediante métodos físicos, químicos y biológicos, se han convertido en un importante reto. No obstante, se conoce que dichos métodos desencadenan, en muchas ocasiones, problemáticas aún más grandes como la alta inversión de capital y complicaciones en el proceso de escalamiento (Hernández et al., 2019).

Las complicaciones asociadas a la remoción de colorantes químicos han llevado a dejar de lado su estudio y a enfocarse en la búsqueda de alternativas entre las que se encuentran los pigmentos naturales provenientes de microorganismos, una de las opciones más prometedoras ya que, bajo condiciones controladas, pueden obtenerse altos rendimientos de biomasa y producto (Tuli et al., 2014), adicionalmente demanda menos solvente durante la extracción, reflejándose en menores costos de producción (Rao et al., 2017).

Dentro de los diferentes grupos de microorganismos productores de pigmentos, los hongos filamentosos presentan alto interés debido a la amplia gama de pigmentos que pueden producir (Laghetti et al., 2019), claro ejemplo de esto son las especies del género *Penicillium* sp que han sido estudiados en los últimos años y se indican como potenciales productores de pigmentos naturales (Blanc y col., 1994; Carvalho y col., 2003) dichos pigmentos además de tener una amplia gama de propiedades biológicas, antioxidantes y actividad antibacteriana y citotóxica (Pandit et al., 2018), poseen alto potencial de pigmentación útil en la industria textil.

La producción de pigmentos por parte de ciertas especies de *Penicillium* sp se da bajo la influencia de condiciones específicas de operación como el pH, la temperatura y la velocidad de agitación, que se conoce influyen en la actividad metabólica de los hongos (Méndez et al., 2011) así como en su fisiología y morfología (Amanullah et al., 2000). Con el fin de evaluar la influencia de dichas condiciones en la liberación de pigmentos, se propuso el desarrollo de un diseño conceptual, con el que se busca presentar una solución mostrando en detalle los

sustratos, agentes y productos, teniendo en cuenta las especificaciones, requisitos y necesidades del proceso (Horvatz et,al., 2005),.

Finalmente, con el objetivo de validar el diseño conceptual de un bioproceso orientado a la producción de un pigmento rojo mediante el cultivo de hongos del género *Penicillium sp*, se propuso la realización de una prueba de concepto para probar la idea de diseño, definiendo inicialmente el concepto a probar, en este caso la potencialidad en la liberación de pigmentos, seguido del desarrollo de un cronograma con los pasos necesarios para verificar dicha producción, posteriormente determinar el plan de implementación, para así ejecutar el proceso teniendo en cuenta todos los escenarios posibles, y por último, evaluar la posible funcionalidad en la industria textil de los pigmentos obtenidos (Rodela, 2020)

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Material fúngico

La cepa *Penicillium sp* ET058 fue obtenida del cepario del departamento de ingeniería bioquímica de la universidad Icesi y mantenido en agar papa dextrosa.

### 2.2 Inóculo y medio de cultivo

Para obtener el inóculo se cosecharon esporas a partir de cultivos desarrollados en Agar papa dextrosa (PDA) (4 g de extracto de papa, 20 g de dextrosa y 15 g de agar) utilizando 10 mL de solución de Tween 80 al 0,1%. Se realizó el recuento en una cámara Neubauer hasta obtener la concentración final requerida ( $1 \times 10^3$  y  $1 \times 10^6$  esporas/mL). Para el diseño experimental propuesto inicialmente se inocularon dichas suspensiones en dos medios de cultivo: Medio extracto de malta (ME) (11g/L de extracto de malta, 0,8 g/L de extracto de levadura, 2,5 g/L de Glucosa y 1 g/L de glicerol) y en el medio papa dextrosa (PD) (200 g/L de extracto de papa, 20 g/L de glucosa) con un pH inicial de 5.5, a 29°C con agitación de 90 rpm, esto en 8 tubos falcón de 15 mL con un volumen de trabajo de 5 mL de la siguiente manera:

Tratamiento*	Medio de Cultivo	Concentración inicial de esporas (esporas/mL)
1	PD	$1 \times 10^3$
2	PD	$1 \times 10^6$
3	ME	$1 \times 10^3$
4	ME	$1 \times 10^6$
5	PD	-

6	ME	-
---	----	---

\*Cada tratamiento se realizó por duplicado y el tratamiento 5 y 6 hacen referencia a los controles

Tabla 1. Diseño experimental realizado para la evaluación de la influencia del medio y la concentración inicial de esporas en la liberación de pigmentos.

### 2.3 Condiciones de cultivo

Con base a los resultados obtenidos, 10 tubos falcón de 15 mL con 4,5 mL de medio PD fueron inoculados con 0,5 mL de la suspensión de esporas ( $1 \times 10^6$  espora/mL), ajustando el nivel de pH a 4 con buffer fosfato 0,5M para los primeros 4 tratamientos, mientras que para el resto el pH se ajustó de la misma forma a un nivel de 5,5 manteniendo una temperatura de 29°C, inicialmente con una agitación de 90 rpm durante 12 días.

Por último, se inocularon nuevamente 10 tubos falcón de 15 mL con un volumen de trabajo de 5 mL en medio PD a pH 5,5 y Temperatura 29°C. Se mantuvieron 5 de estos tratamientos a una agitación de 90 rpm, mientras que el resto a 200 rpm.

### 2.4 Determinación de la presencia de azúcares reductores y polisacáridos

Se realizó la cuantificación de azúcares reductores al medio de cultivo previo al proceso de inoculación, mediante el método del ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS) altamente utilizado en el proceso de cuantificación en medios coloreados, esto en el espectrofotómetro Thermo Scientific Vis/UV-Vis GENESYS™ 140 a una longitud de onda de 540 nm. Por otro lado, para determinar la presencia de polisacáridos en el medio se realizó la prueba de Lugol que consiste en agregar una gota de este reactivo al medio previo al proceso de inoculación y posteriormente, esperar aproximadamente 2 minutos para que ocurra una coloración que afirma la presencia de estos.

Ambos procedimientos se llevaron a cabo nuevamente transcurridos 5 y 20 días después de la inoculación, con el fin de determinar el diferencial en el consumo de estos compuestos.

### 2.5 Obtención de pigmentos

Para la obtención de pigmentos se cultivó *Penicillium sp* ET058 en medio papa dextrosa a 30°C con agitación de 90 rpm durante 20 días. Después de 20 días, el cultivo se centrifugó a 4500 rpm durante 20 minutos y se utilizó el sobrenadante que contenía el pigmento para la tinción del material textil.

### 2.6 Tinción de un material

Con el medio exhausto coloreado se procedió a teñir la tela de algodón. Primero, se lavó la tela con 5 g de detergente de uso convencional marca ARIEL y agua, luego se cortó en tres partes iguales con un peso de 0,26 g cada una. Seguidamente, con el fin de evaluar la influencia de una solución mordiente en la estabilidad y color del pigmento se sumergió durante 10 minutos cada trozo de tela en 250 mL de un mordiente diferente: ácido acético y alumbre, mientras que el trozo utilizado como control sin mordiente se sumergió en la misma cantidad de agua durante el mismo tiempo. Después, se puso en contacto cada pedazo de la

tela húmeda en el medio exhausto que contenía el pigmento y se dejó sumergida por 2 horas a 70°C. Pasado el tiempo de tinción, se secó el material a condiciones ambientales y se lavó utilizando el detergente ya mencionado.

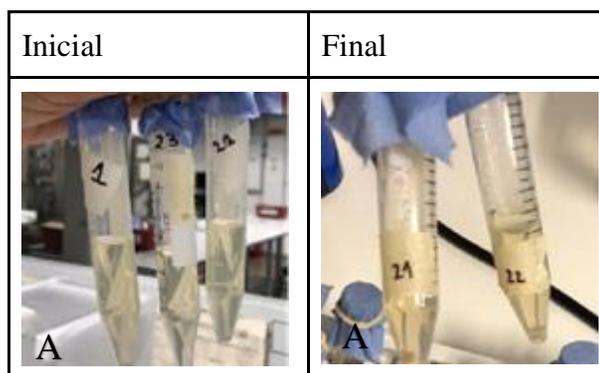
### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Pruebas preliminares de liberación de pigmento por parte de *Penicillium Sp*

Al realizar la determinación visual no se evidenció cambio de coloración en los tratamientos inoculados con una concentración de esporas correspondiente a  $1 \times 10^3$ , ni para el medio PD, así como tampoco para el medio ME, dicho resultado coincide con estudios sobre la producción de pigmentos por *Talaromyces / Penicillium* que establecen que si el tipo de inóculo son esporas se debe fijar un nivel dentro del rango de  $1 \times 10^4$  y  $1 \times 10^8$  (esporas / mL) para poder lograr una coloración (Oliveira et al., 2019 ; Morales-Oyervides et al., 2017), lo que a su vez respalda la coloración obtenida al realizar la siembra con la suspensión correspondiente a una concentración de  $1 \times 10^6$  que se encuentra dentro de dicho rango y fue la concentración elegida para continuar con el proceso experimental, dicha diferencia en la producción de pigmento respalda estudios que mencionan que la concentración inicial afecta significativamente el rendimiento de pigmento y la productividad de las cepas de *Penicillium*, ya que un alto nivel de inóculo conduce a un mayor aprovechamiento de nutrientes que ligado al metabolismo del hongo conlleva a un alto rendimiento de producción de pigmento.

Así mismo el medio extracto de malta (ME) fue descartado para la evaluación de la liberación de pigmentos por parte de *Penicillium sp*, dado que sólo se evidenció un mínimo crecimiento del hongo, pero no coloración durante el tiempo de observación (Figura 1A). En cuanto al medio papa dextrosa (PD), se observó coloración y crecimiento para dicha especie en los 20 días de seguimiento (Figura. 1B). Por lo anterior, se seleccionó el medio PD para el posterior proceso de fermentación. La diferencia en los resultados puede ser atribuida a las características del medio PD, reconocido por ser altamente nutritivo y permitir la esporulación y la producción de pigmentos. Además, la infusión de patata promueve un crecimiento abundante de los hongos y levaduras favoreciendo la inducción y la síntesis de pigmentos (Radha et al. 2005).

La composición de los medios de cultivo juega un papel importante en el rendimiento de producción de cualquier proceso de fermentación, siendo las fuentes de carbono y nitrógeno las variables más significativas debido a que estos nutrientes están relacionados con el crecimiento celular y la biosíntesis de metabolitos ( Prathumpai et al., 2007).



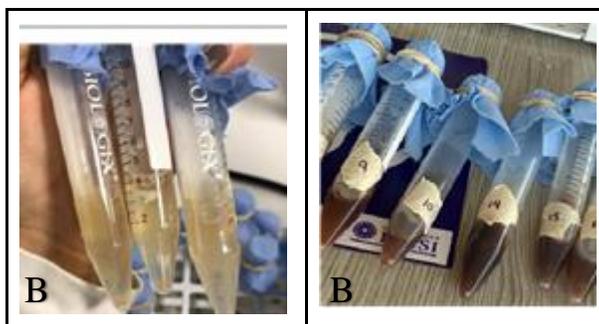


Figura 1. Registro fotográfico de los días inicial y final en la prueba de coloración de *Penicillium*, en los dos medios: A) ME y B) PD

### 3.2 Influencia del pH y la temperatura en la formación de pigmento por parte del hongo *Penicillium sp*

Tanto la producción de pigmentos así como la producción de biomasa se ven afectados por distintas condiciones ambientales entre las que destacan temperatura y pH, distintos reportes mencionan que *Penicillium sp* crece mejor entre 25 y 32 ° C, y que a estas temperaturas se obtienen los mejores resultados para la producción de pigmentos (Hu y col., 2012; Joshi y col., 2003, Liu y col., 2007; Mohamed y col., 2009), lo que llevó a que la temperatura no fuese una variable de estudio en la producción de pigmento y durante todo el proceso fermentativo se mantuvo entre 29 y 30 °C, dentro del rango recomendado

El pH es un parámetro de suma importancia para el crecimiento y la producción de pigmentos en hongos filamentosos, ya que ayuda a regular el metabolismo y la actividad enzimática relacionada con la biosíntesis de los procesos internos y el intercambio de nutrientes entre el medio de cultivo. Por esta razón, se evaluó la producción de pigmentos a partir de *Penicillium sp* a distintos niveles de pH. En la figura 2 se muestran los resultados para la evaluación cualitativa del efecto del pH sobre la liberación del pigmento, donde se puede observar que el pH a estos niveles no afecta significativamente el crecimiento y generación de productos para esta cepa de *Penicillium sp*. Resultados similares han sido reportados para una cepa de *Monascus purpureus* 192F donde se observó que dicha liberación se vio favorecida a un pH entre 4.0. y 6,5. Así mismo Su y col. (1983) encontraron en un estudio con una cepa de *Monascus purpureus* que el pH óptimo para la producción de biomasa y pigmentos fue de 6.0, mientras que a pH mayores de 7.0, la producción disminuyó notablemente. Por otro lado Suhr y col. (2002) trabajaron con una cepa de *Penicillium caseifulvum* productora de un pigmento amarillo y encontraron que a pH 4.0 se intensifica la producción de este metabolito. Según los resultados obtenidos, se determinó que a un pH de 5.5 la producción del pigmento fue mejor, por tanto, los ensayos posteriores se realizaron a este nivel.

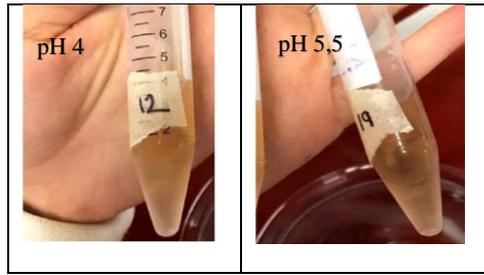


Figura 2. Registro fotográfico de los tratamientos a dos niveles de pH pasado el tiempo de fermentación.

#### 4.3 Evaluación del consumo de azúcares y la presencia de polisacáridos en el medio

Para la cuantificación de los azúcares totales en el medio de cultivo, previo a la fermentación y durante esta, se usó la curva de calibración con estándar de glucosa:

$$Y=0,477X-0,043$$

Ecuación 1. Curva de calibración para la glucosa, método DNS

La figura 3 muestra la variación de azúcares reductores en el medio de cultivo durante el proceso fermentativo, se observó una mayor concentración de estos hacia el inicio de la fermentación así como una disminución de dicha concentración a medida que transcurrió el proceso, demostrando el consumo de glucosa, uno de los principales azúcares reductores. Este consumo se relaciona principalmente con la generación de biomasa ya que *Penicillium*, en su proceso de crecimiento, tiene la capacidad de integrar moléculas de glucosa provenientes del medio de cultivo a su metabolismo por medio de la glicolisis en donde entra como glucosa 6 fosfato, por ende la glucosa resulta una fuente adecuada para consumo en la producción de biomasa por parte de esta especie.

Tal como se puede evidenciar, las concentraciones de azúcares reductores a pesar de mantener la misma tendencia de disminución, varían al modificar el pH lo que respalda discusiones anteriores donde se menciona la importancia de esta variable en la actividad metabólica de los hongos (Méndez et al., 2011).

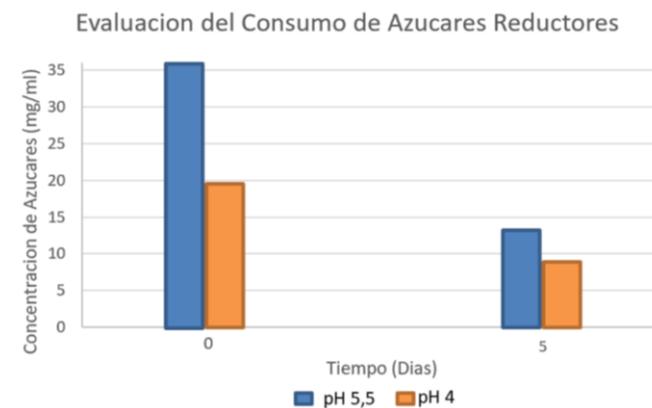


Figura 3. Variación de la concentración de azúcares reductores presentes en el medio de cultivo PD a los dos niveles de pH evaluados.

La determinación de la presencia de polisacáridos se realizó mediante la técnica del reactivo de Lugol. Como se puede evidenciar en la figura 4, al momento de realizar la siembra en el medio PD se evidencia presencia de almidón u otros polisacáridos, reflejados en el cambio de la coloración al aplicar una gota de reactivo de Lugol, sin embargo, al realizar la misma prueba transcurridos 10 días, no se observó dicho cambio en la coloración, lo que evidencia la degradación total de esta molécula. Resultados similares fueron presentados por Tejada, A. (2015), en su trabajo titulado “Evaluación del contenido de proteínas y carbohidratos presentes en un medio de cultivo a partir de residuos vegetales para su posible utilización en el crecimiento microbiano”, donde menciona la degradación de almidón y otros polisacáridos relacionados con el crecimiento microbiano.

Dicha degradación se atribuye a que especies de *Penicillium sp*, principalmente aisladas a partir de suelo, poseen la capacidad de sintetizar amilasas de alta estabilidad, las cuales actúan en la degradación del almidón presente en las plantas como reserva de energía, de esta manera degradan este polímero para la obtención de glucosa, lo cual justifica el mayor crecimiento de biomasa y producción de metabolitos secundarios dentro de los que se encuentran los pigmentos, empleando almidón de papa como fuente de carbono.

Los resultados presentados coinciden con los reportes acerca de la capacidad de los hongos de los géneros como buenos productores de enzimas amilolíticas (de Castro, et al., 2011)

#### **4.4 Liberación de pigmento rojo por parte del hongo *Penicillium sp***

Los hongos filamentosos del género *Penicillium sp* son reconocidos como hongos productores de pigmentos fúngicos extracelulares y producen una amplia variedad de colores. Diversas investigaciones han reportado que estos hongos producen pigmentos de color rojo, marrón, amarillo (Choque et al. 2015) y naranja (Valdez et al. (2017)).

Se cultivaron las esporas de *Penicillium sp* en medio líquido papa dextrosa, bajo las condiciones establecidas de pH 5.5, temperatura 29°C, velocidad de agitación 90 rpm y concentración inicial de esporas de  $1 \cdot 10^6$ . Se observó un cambio en la coloración del medio a los 6 días de haberse inoculado, el cual podría asociarse a la liberación de pigmento, generalmente los pigmentos producidos por especies *Talaromyces* y *Penicillium* son secretados fuera de la célula (Morales et al. 2020), además otros autores como Villanueva et al. (2013) también evidenciaron una liberación de pigmento a partir del día 5 de experimentación. El medio se tornó de un color rojo intenso que permaneció durante 4 días y después comenzó a disminuir su intensidad tornándose de color rojo claro. El color observado concuerda con los resultados presentados por Mendéz et al. (2007), quienes obtuvieron un pigmento de color rojo usando la cepa xerofílica *Penicillium purpurogenum*.

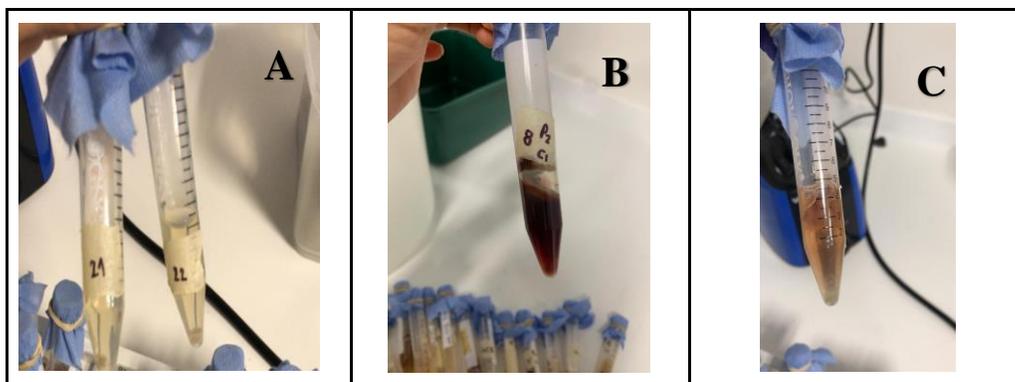


Figura 4. De izquierda a derecha: medio de cultivo inicial (A), evidencia del cambio en la coloración a los 5 días (B) y disminución en la intensidad del color (C).

Además, se evaluó la influencia de la velocidad de agitación y se evidenció que es un factor que influye en el tiempo de liberación del pigmento, pues a 90 rpm la liberación ocurrió en 6 días, mientras que a 200 rpm tardó 10 días. La agitación es un parámetro importante para satisfacer la tasa de absorción de oxígeno de los microorganismos y la tasa de transferencia de nutrientes, Morales et al. (2020) una mayor agitación implica una mayor tasa de transferencia de oxígeno; por tanto, queda por demostrar si la producción reducida de pigmentos a niveles de agitación más altos se debe al daño de las hifas o al requerimiento de oxígeno de los microorganismos, lo que podría explicar que la liberación de pigmento tarde más al usar una agitación mayor.

#### 4.5 Evaluación del pigmento liberado por el hongo *Penicillium sp* en la tinción de tela de algodón

Los pigmentos naturales producidos por microorganismos presentan mayores ventajas frente a los producidos por plantas o animales, pues no requieren grandes áreas de cultivo, ni condiciones especiales de lluvia, sol o invierno.

El material seleccionado para la tinción fue el algodón, puesto que se ha demostrado una mayor fijación de pigmentos microbianos en telas de fibras naturales, en especial el algodón y la lana (Valdez et al. (2017)). En efecto, se pudo evidenciar un cambio en el color de la tela de algodón después de sumergirla y dejarla en ebullición en el medio coloreado, demostrando el posible uso de estos pigmentos en la industria textil.

Algodón	Coloración
---------	------------

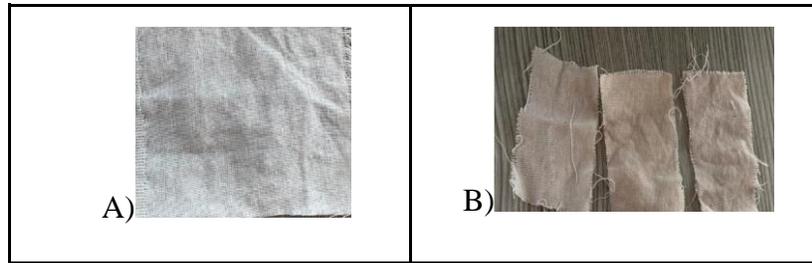


Figura 5. Registro visual del material previo a la tinción (A) y material teñido con el medio de cultivo coloreado (B).

Además, el algodón que fue sumergido con anterioridad en ácido acético presentó una mayor fijación del pigmento después de someterse a un proceso de lavado convencional con agua y detergente comercial ARIEL, pues tal como indicó Velmurugan et al. (2011), la fijación del pigmento depende en gran medida del efecto del mordiente utilizado en el teñido, porque estas sustancias permiten que el color sea más fuerte a la luz, al lavado y al roce.

#### 4. Conclusiones

Fue posible producir un pigmento rojo soluble en agua por *Penicillium sp* ET058 en un cultivo sumergido usando un medio de papa dextrosa. La producción del pigmento rojo está influenciada por factores físicos como la concentración inicial de esporas, el pH y la velocidad de agitación, la cual tiene un efecto mayor sobre el tiempo en el que tarda la liberación de los pigmentos. Entre las condiciones evaluadas, se obtuvo una mejor liberación de pigmento con una concentración inicial de esporas de  $1 \times 10^6$  (esporas/mL), un valor de pH de 5.5, temperatura de 29°C y una velocidad de agitación de 90 rpm. Adicionalmente, el pigmento liberado por este hongo presenta afinidad con las fibras de algodón, en especial cuando se utilizó ácido acético como mordiente, lo cual indica su posible uso en la industria textil.

#### 5. Recomendaciones

Los pigmentos liberados por *Penicillium* tienen desafíos que superar, entre los que están el desarrollo de un bioproceso sostenible y rentable, para lo que se recomienda el posible uso de residuos o subproductos agroindustriales económicos y disponibles como sustratos para la producción de estos. Así mismo se sugiere continuar con la investigación que permita, el desarrollo de un proceso limpio y eficiente para la recuperación y el aislamiento de pigmentos utilizando tecnologías limpias mediante procesos biotecnológicos ya que se han reportado muy pocos estudios sobre la producción de pigmentos a partir de *Penicillium sp*, por lo que continuar con esta línea investigativa se convierte en una importante oportunidad de exploración y explotación.

#### 6. Referencias

A.Amanullah, P. Jüsten, A. Davies, G.C. Paul, A.W. Nienow, C.R. Thomas Agitation induced mycelial fragmentation of *Aspergillus oryzae* and *Penicillium chrysogenum*

Alejandro Méndez Zavala, Juan Carlos Contreras-Esquivel, F. Lara-Victoriano, & Aguilar, C. N. (2007, December). *Producción fúngica de un pigmento rojo empleando la cepa xerofílica Penicillium purpurogenum GH-2*. ResearchGate; unknown. [https://www.researchgate.net/publication/262546331\\_Produccion\\_fungica\\_de\\_un\\_pigmento\\_o\\_rojo\\_empleando\\_la\\_cepa\\_xerofilica\\_Penicillium\\_purpurogenum\\_GH-2](https://www.researchgate.net/publication/262546331_Produccion_fungica_de_un_pigmento_o_rojo_empleando_la_cepa_xerofilica_Penicillium_purpurogenum_GH-2)

Álvarez, H. O. (1999). Propuesta para la prevención y reducción de contaminantes y reducción a las aguas residuales en una planta de teñido de hilo e hilazas. Medellín: Sena.

Anjaneyulu Y., Sreedhara-Chary N. y Suman-Raj S., 2005. Decolourization of industrial effluents available methods and emerging technologies – a review. *Rev. Environ. Sci. Technol*

Choque R., Casma R. & Salinas F. 2015. Aislamiento de hongos productores de pigmentos para su uso en la industria textil. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Ica.

Hernández, V. A., Galleguillos, F., Thibaut, R., & Müller, A. (2019). Fungal dyes for textile applications: testing of industrial conditions for wool fabrics dyeing.

Horváth, I., 2005. On some crucial issues of computer support of conceptual design, in: *Product Engineering*. Springer, pp. 123–142

Liseth, B., Valdez, A., Optar, P., Título, E., & De, P. (2017). *Universidad nacional del Altiplano facultad de ciencias biológicas escuela profesional de biología obtención y utilización de pigmentos textiles a partir de hongos filamentosos aislados de suelos del altiplano peruano* [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4035/Alvarez\\_Valdez\\_Liseth.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4035/Alvarez_Valdez_Liseth.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Morales-Oyervides, L., Ruiz-Sánchez, J. P., Oliveira, J. C., Sousa-Gallagher, M. J., Méndez-Zavala, A., Giuffrida, D., ... & Montañez, J. (2020). Biotechnological approaches for the production of natural colorants by Talaromyces/Penicillium: A review. *Biotechnology Advances*, 107601.

Tuli et al., 2014 H.S. Tuli, P. Chaudhary, V. Beniwal, A.K. Sharma Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives *J. Food Sci. Technol.*, 52 (2014).

Velmurugan, P., Lee, Y. H., Venil, C. K., Lakshmanaperumalsamy, P., Chae, J., & Oh, B. (2010). Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by five pigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. *JBIOSC*, 109(4), 346–350. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.10.003>

Villanueva R., Aguilar A., Gómez M., Valencia G., Piña B. & Bautista S. 2013. Control de bacterias patógenas y hongos de postcosecha con extractos del pigmento de *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*). *Revista Agrociencia*. Vol. 47: 691 – 705.

