

## Avances en la Aplicación de Mediadores Redox Durante la (Bio)Transformación de Contaminantes Recalcitrantes

Luis H. Alvarez<sup>1,2\*</sup>, Francisco J. Cervantes<sup>3</sup>, Pablo Gortares<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), 5 de Febrero 818 Sur, C.P. 85000 Col. Centro, Ciudad Obregón, Sonora, México.*

<sup>2</sup>*Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Av. Pedro de Alba S/N. 66451, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. \*Correspondencia: [luish.alvarezv@gmail.com](mailto:luish.alvarezv@gmail.com)*

<sup>3</sup>*División de Ciencias Ambientales, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), Camino a la Presa San José 2055, Col. Lomas 4<sup>a</sup>. Sección, C. P. 78216, San Luis Potosí, SLP, México.*

### RESUMEN

Durante las últimas dos décadas se ha demostrado que el uso de sustancias húmicas (SH) y sus análogos quinonas pueden actuar como mediadores redox (MR) incrementado la velocidad de reducción de una amplia gama de contaminantes recalcitrantes como colorantes azo, compuestos nitroaromáticos y solventes polihalogenados. Sin embargo, es necesario implementar estrategias que permitan inmovilizar los MR en sistemas de tratamiento de aguas residuales a fin de evitar su uso de forma continua. Además, es importante considerar la selección de MR apropiados (efectivos y de bajo costo) como las SH, las cuales contienen una gran cantidad de grupos quinona y pueden ser extraídas de distintos ambientes terrestres y acuáticos. En este trabajo se presentan los avances en el uso de MR inmovilizados, así como las opciones que pueden permitir la selección y aplicación de SH en procesos de biotransformación reductiva de contaminantes.

**Palabras clave:** sustancias húmicas, mediadores redox, (bio)transformación, inmovilización.

### ABSTRACT

During the last two decades it has been demonstrated that humic substances (HS) and their quinone analogues can act as redox mediators (RM) accelerating the reduction rates of different

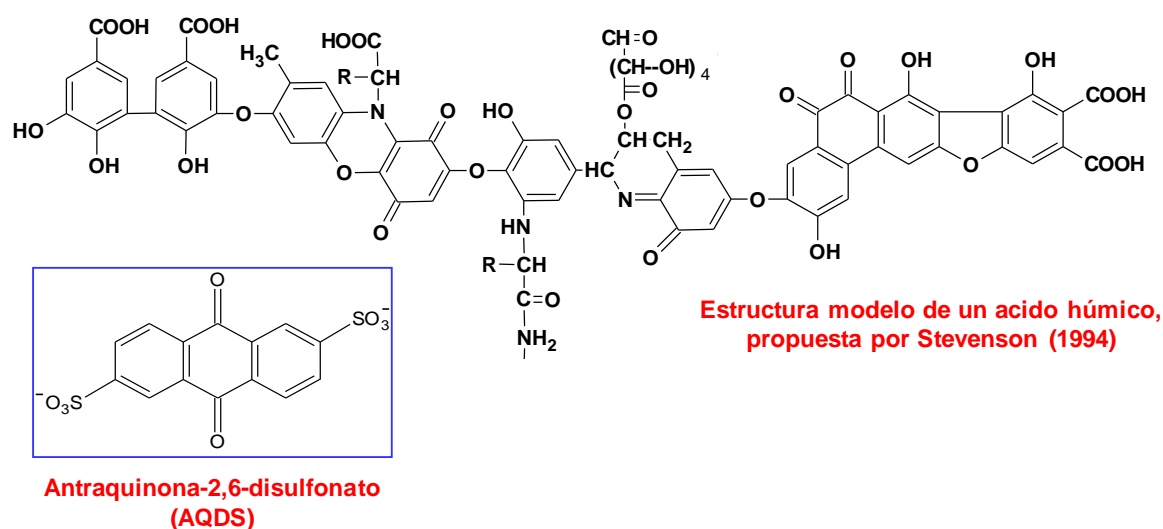
recalcitrant pollutants such as azo dyes, nitroaromatic compounds, and polyhalogenated solvents. Nevertheless, it is necessary to develop suitable strategies to immobilize RM in wastewater treatment systems in order to prevent the addition of continuous doses. In addition, it is important to consider the selection of suitable RM (cost-effective) such as HS, which contain large amount of quinone groups and also because can be extracted from different terrestrial and aquatic environments. This study presents advances on the use of immobilized RM, and also the options allowing the selection and application of HS in reductive biotransformation of pollutants.

**Key words:** humic substances, redox mediators, biotransformation, immobilization

## INTRODUCCIÓN

Las sustancias húmicas (SH) representan la fracción más abundante de materia orgánica acumulada en ambientes acuáticos y terrestres. Son compuestos poliméricos con estructuras amorfas y alto peso molecular que se producen a partir de la descomposición de materia orgánica presente en el suelo, proveniente principalmente de plantas. Las SH contienen un gran número de anillos aromáticos y otras

estructuras alifáticas (Fig. 1) que son muy recalcitrantes a la biodegradación, lo cual es evidente por los largos tiempos de residencia en el suelo, que pueden variar desde 250 a 1900 años (Stevenson, 1994). Sin embargo, las SH no son estructuras inertes, de hecho, debido a las características que le confieren sus grupos funcionales como los cetónicos, carboxílicos, aminos y quinonas, se involucran en procesos microbiológicos, químicos y físicos.

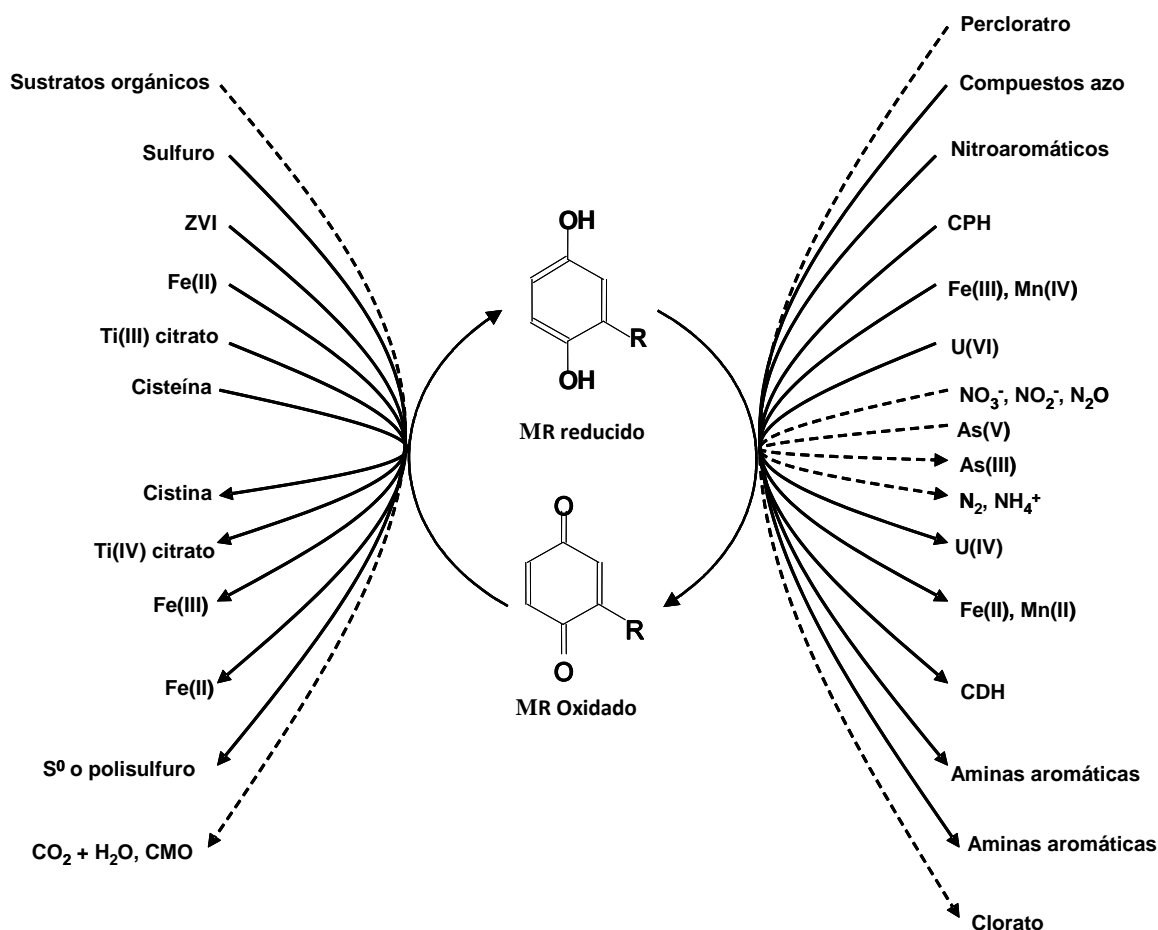


**Fig. 1.** Mediadores redox utilizados en procesos de biotransformación de contaminantes.

# Artículos

La presencia de grupos funcionales con capacidad redox (como las quinonas) presentes en las SH le confieren tres funciones importantes: 1) como aceptor final de electrones para la respiración microbiana; 2) como mediador redox (MR, acarreador de electrones) entre un donador de electrones y un compuesto aceptor de electrones, ya sea en procesos químicos y/o microbiológicos; y 3) como donador de electrones para la reducción microbiológica de aceptores de electrones más oxidados, impactando significativamente en la conversión redox y destino de distintos contaminantes orgánicos e inorgánicos. A la fecha han sido reportados una gran variedad de microorganismos capaces de reducir SH o quinonas modelo. La mayoría de los microorganismos reductores del humus son bacterias y arqueas reductoras del hierro, en donde también se pueden incluir microorganismos desnitrificantes, sulfato-reductores, halorespiradores, metanogénicos y fermentativos (Martínez *et al.* 2013a). La Fig.

2 presenta las reacciones bióticas (microbiológicas) y abióticas presentes en la reducción y oxidación de MR. La diversidad microbiana capaz de utilizar SH en sus procesos respiratorios, y la capacidad de éstas en ceder electrones para la reducción de contaminantes recalcitrantes, representan un potencial biotecnológico importante que puede permitir el mejoramiento de los sistemas de tratamiento de aguas residuales de la industria química, petroquímica y textil. Sin embargo, es necesario vencer algunos retos antes de intentar aplicar las SH en sistemas de tratamiento de aguas residuales a escala real. En este trabajo se presentan los avances en el uso de MR, incluyendo SH, quinonas modelo y materiales carbonáceos; así como el uso de fuentes adecuadas de SH y su aplicación en la biotransformación de contaminantes electrofílicos como colorantes azo, compuestos nitroaromáticos y solventes polihalogenados, los cuales son descargados por industrias como la petroquímica, química y textil.



**Fig. 2.** Mecanismo propuesto para la reducción anaerobia de contaminantes electrofílicos y Fe(III) utilizando mediadores redox. CMO, compuestos más oxidados; CPH, compuestos polihalogenados; CDH, compuestos deshalogenados; CN, compuestos nitroaromáticos. (Van der Zee & Cervantes, 2009).

## EL USO DE SUSTANCIAS HUMICAS COMO MEDIADORES REDOX

En muchos estudios se ha indicado que el grupo principalmente responsable de la capacidad de transferencia de electrones en el humus son las quinonas (Field *et al.*, 2000). Sin embargo, se ha reportado que algunos grupos no quinona también participan en la transferencia de electrones

(Hernández *et al.*, 2012; Ratasuk & Nanny, 2007). La capacidad de las SH de actuar como MR se debe a reacciones oxido-reducción entre sus grupos redox reactivos con un donador y/o aceptor final de electrones. Este proceso permite que las quinonas puedan ser recicladas para estar nuevamente disponibles (Fig. 2).

# Artículos

La capacidad de transferencia de electrones de las quinonas y/o SH puede ser utilizada para soportar la transformación reductiva de contaminantes electrofílicos como colorantes azo, compuestos nitroaromáticos y compuestos halogenados, actuando como MR en reacciones que pueden ser bióticas (microbiológicas) y abióticas (Fig. 2). La presencia de MR incrementa la velocidad de reducción de los contaminantes electrofílicos en varios órdenes de magnitud, y en algunos casos es un requisito esencial para que ocurra la reacción. Van der Zee & Cervantes (2009) publicaron un interesante artículo en donde muestran que el pH, temperatura, potencial redox, donadores de electrones y origen de

las SH, están directamente relacionados con el papel que tienen estos MR durante transformaciones reductivas bióticas o abióticas. Por ejemplo, las SH deberán tener un potencial redox ubicado entre el potencial del contaminante electrofílico y el donador primario de electrones. En otras palabras, el potencial redox de las SH deberá ser más bajo o más negativo que el potencial del contaminante electrofílico e idealmente mayor y menos negativo que el donador primario de electrones (Van der Zee & Cervantes, 2009). La Tabla 1 muestra una lista breve sobre el uso de SH y quinonas actuando como MR durante la biotransformación de colorantes azo, nitrobenzenos y compuestos halogenados.

**Tabla 1.** Biotransformación de contaminantes utilizando quinonas y sustancias húmicas como mediadores redox.

Contaminante <sup>a</sup>	Mediador redox <sup>b</sup>	Microorganismos	Resultados <sup>c</sup>	Referencias
<b><u>Colorantes azo</u></b>				
P-N5	AQDS	<i>Shewanella</i> cepa J18 143	4 x.	Pearce <i>et al.</i> 2008
RR2	RF	<i>Methanothermobacter sp.</i> , <i>Methanosarcina barkeri</i>	Cepas termofílicas: solo hubo reducción en la presencia de RF. Cepas mesofílicas: RF aceleró la reducción.	Dos Santos <i>et al.</i> 2006
NR14	RF	Lodo granular anaerobio	1.5 a 2 x.	Cervantes <i>et al.</i> 2006
RO14, AD53, AD71	AQDS, LAW, RF	Lodo granular anaerobio	3.8 x.	Encinas <i>et al.</i> 2006
NA52, NA7	AQS	<i>Issatchenkia occidentalis</i>	NA52: 3 x. NA7: efecto adverso con el MR.	Ramalho <i>et al.</i> 2004

# Artículos

## Nitrobenzenos

RDX	AQDS, AH	<i>Geobacter sp.</i>	La adición de AH y AQDS a los cultivos microbiológicos con Fe(III) incrementó de 5 a 66 <sup>x</sup>	Kwon y Fonneran, 2006
TNT	AQDS	<i>Cellulomonas sp.</i> , cepa ES6	3.7 <sup>x</sup> .	Borch <i>et al.</i> 2005
RDX	AQDS	<i>Geobacter metallireducens</i>	Adición de AQDS incrementó la velocidad y grado de mineralización de RDX	Kwon y Finneran, 1998

## Compuestos halogenados

TCC	AQDS, RF, CNB12, HOB12	Lodo anaerobio	La tasa de reducción fue 3.8 <sup>x</sup> , 4.0 <sup>x</sup> , 13.3 <sup>x</sup> y 13.6 <sup>x</sup> con AQDS, RF, CNB12 y HOB12, respectivamente.	Guerrero-Barajas <i>et al.</i> 2005
TCC	AQDS, AH	Lodo anaerobio o <i>Geobacter sp.</i>	AQDS y AH estimularon la reducción de TCC por <i>Geobacter sp.</i> , lo cual no ocurrió en ausencia de los MR	Cervantes <i>et al.</i> 2004
DDC	CAT, RES	Sedimento contaminado	4 a 6 <sup>x</sup> .	Barkovskii y Adriaens, 1998
TCC	CNB12	<i>Shewanella alga</i> , cepa BrY	EE de 0% en ausencia de CNB12; EE de 92% con CNB12.	Workman <i>et al.</i> 1997

<sup>a</sup> NA52, Naranja Acido 52; NA7, Naranja Acido 7; P-N5, Pigmento Naranja 5; RR2, Rojo Reactivo 2; NR14, Naranja Reactivo 14; AD53, Azul Directo 53; AD71, Azul Directo 71; TNT, tri-nitro-tolueno; RDX, hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina; TCC, tetracloruro de carbono; DDC, dibenzo-p-dioxinas cloradas.

<sup>b</sup> AQS, antraquinona-2-sulfonato; AQDS, antraquinone-2,6-disulfonato; RF, riboflavina; LAW, lawsona; AH, ácidos húmicos; CNB12, cianocobalamina; CAT, catecol; RES, resorcinol; HOB12, hidroxycobalamina.

<sup>c</sup> "x" indica el incremento en la velocidad de reducción (decoloración o deshalogenación, según sea el caso) en comparación al control sin mediador redox; EE, eficiencias de eliminación.

A pesar de que las quinonas y SH han sido extensamente estudiadas en procesos de (bio)transformación reductiva, su potencial para tratar contaminantes presentes en acuíferos y aguas residuales generadas por distintos sectores industriales no ha sido

explotado. Existen importantes retos que impiden la aplicación de los MR a escala real, entre ellos, la solubilidad es una limitante por el hecho de que podrían ser fácilmente lavadas de los reactores. De esta forma, la inmovilización de MR representa una tarea

sumamente importante que debe realizarse antes de intentar aplicarlos a escala real. Además, se deberá considerar el uso de MR de bajo costo y efectivos, tal como las SH que pueden ser extraídas de ambientes naturales.

## IMPACTO DE MEDIADORES REDOX INMOVILIZADOS

Existe evidencia contundente que indica que las SH y sus análogos quinonas pueden actuar como MR durante la transformación reductiva, química o microbiológica, de contaminantes electrofílicos (Van der Zee & Cervantes, 2009). Sin embargo, una de las principales limitaciones para aplicar los MR en sistemas de tratamiento de aguas residuales es su solubilidad, haciendo necesaria la adición continua de SH o quinonas para incrementar la velocidad de

conversión, lo cual es económica y ambientalmente inviable. No obstante, los MR no necesariamente deben ser proveídos abundantemente en procesos de bioremediación para acelerar la transformación redox de los contaminantes, ya que estos pueden ser reciclados durante la transferencia de electrones desde el donador de electrones hasta el aceptor final de electrones, tal como se ilustra en la Fig. 2. Una forma posible de erradicar el requisito de la adición continua de MR a biorreactores anaerobios es mediante su inmovilización (Van der Zee & Cervantes, 2009). Actualmente hay importantes avances relacionados con la inmovilización y aplicación de MR (ver Tablas 2 y 3), sin embargo, ninguno de estos casos ha sido aplicado en un proceso a escala real.

**Tabla 2.** Impacto de mediadores redox inmovilizados en la (bio)transformación de contaminantes recalcitrantes. (Modificada de Martínez *et al.* 2013a)

Mediador redox <sup>a</sup>	Material inmovilizador	Mecanismo de inmovilización	Contaminante <sup>b</sup>	Resultados <sup>c</sup>	Referencias
Ácidos húmicos	Resina de intercambio iónico	Intercambio aniónico	RR2, fenol	ED de 90% y de oxidación de fenol de 75% utilizando MR inmovilizados; el reactor UASB fue operado por más de 200 días. El reactor sin MR colapsó en 120 días.	Martínez <i>et al.</i> 2013b
NQS, AQDS, ácidos	Resina de intercambio	Intercambio	RR2, TCC	La tasa de reducción	Cervantes <i>et</i>



# Artículos

húmicos,	iónico	aniónico		microbiológica fue mayor con NQS inmovilizada que suspendida. La tasa de decoloración fue mayor con ácidos húmicos inmovilizados que suspendidos.	<i>al. 2013</i>
Ácidos húmicos,	$\gamma$ -Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (20-50 nm)	Adsorción	No aplica	La reducción microbiológica de ácidos húmicos inmovilizado ocurrió 3.7 veces más rápida que los suspendidos. Las nanopartículas cubiertas con ácidos húmicos promovieron una mejor actividad metanogénica en relación a las nanopartículas no modificadas.	<i>Alvarez et al. 2012</i>
Ácidos fúlvicos	$\gamma$ -Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (63 $\mu$ m)	Adsorción	CT	Se observó adsorción y reducción de TCC. 10.4 x, con EE 90%.	<i>Alvarez et al. 2012</i>
Ácidos húmicos	Resina de intercambio iónico	Intercambio aniónico	TCC, RR2	TCC: 4 x, con EE de ~74%. RR2: 2 x, con ED de ~69%.	<i>Cervantes et al. 2011</i>
AQDS, NQS	Resina de intercambio iónico	Intercambio aniónico	RR2, NM, RoM	Con AQDS se alcanzó 1.9 a 3.4 x. Con NQS fue de 3.5 a 8.8 x.	<i>Cervantes et al. 2010</i>
AQDS	Al(OH) <sub>3</sub> (15 nm)	Adsorción	RR2	7.5 x. ED de 43% después de 12 h.	<i>Alvarez et al. 2010</i>
AQS	Espuma de poliuretano	Covalente	Amaranto	5 x, con una ED de 98.7% después de 10 ciclos.	<i>Lu et al. 2010</i>



# Artículos

ATD, RD, VD, AD	Fibras de terileno y algodón	Químico	10 colorantes azo	1.5 a 3 × en todos los colorantes.	Guo <i>et al.</i> 2010a
Antraquinona	Alginato de calcio	Encapsulamiento	Nitrato	2 × en la tasa desnitrificante.	Guo <i>et al.</i> 2010b
AQDS	Alginato de calcio	Encapsulamiento	RA3R	ED de ~100% y 34% con y sin AQDS respectivamente.	Su <i>et al.</i> 2009
AQDS	Polipirrol	Dopaje en pirrol	11 colorantes azo	1 a 3 ×. ED entre 65-92%.	Wang <i>et al.</i> 2009
AQDS	Polipirrol	Dopaje en pirrol	RR120	3.2 ×. ED de 80% después de 6 ciclos.	Li <i>et al.</i> 2009
AQDS	Polipirrol	Dopaje en pirrol	NB, DNT	4.8 a 5.7 ×. EE >90% después de 6 ciclos para 2,4-DNT.	Li <i>et al.</i> 2008
Antraquinona	Alginato de calcio	Encapsulamiento	AB, RBR, EA, RAB, RAG, RRBK	1.5 a 2 ×. Buena reusabilidad después de 4 ciclos.	Guo <i>et al.</i> 2007

<sup>a</sup> ATD, Azul Turquesa Disperso S-GL; RD, Rojo Disperso S-GL3B; VD, Violeta Disperso S-GLHFRL; AD, Azul Disperso S-GL2BLN; AQS, antraquinona-2-sulfonato; AQDS, antraquinona-2,6-disulfonato; NQS, 1,2-Naftoquinona-4-sulfonato.

<sup>b</sup> NA, Negro Acido 10B; RBR, Rojo Brillante Reactivo X-3B; EA, Escarlata Acido GR; RAB, Rojo Acido B; RAG, Rojo Acido G; RRBK, Rojo Reactivo Brillante K-2BP; NB, Nitrobenzeno; DNT, 2,4- and 2,6-dinitrotolueno; RR2, Rojo Reactivo 2; NM, Naranja de Metilo; RoM, Rojo de Metilo; RR120, Rojo Reactivo 120; RA3R, Rojo Acido 3R; TCC, tetracloruro de carbono.

<sup>c</sup> "x" indica el incremento en la velocidad de reducción (decoloración o deshalogenación, según sea el caso) en comparación al control sin mediador redox; ED, eficiencia de decoloración; EE, eficiencia de eliminación; CF, cloroformo.

**Tabla 3.** Impacto de materiales carbonáceos en la (bio)transformación de contaminantes prioritarios.

Material carbonáceo	Condiciones oxidantes <sup>a</sup>	Contaminantes <sup>b</sup>	Resultados <sup>c</sup>	Referencias
Fibras de carbón	HNO <sub>3</sub>	RM	La tasa de decoloración fue 1.8 veces más rápida con las fibras modificadas (expuestas por 2 h a HNO <sub>3</sub> ) en relación al material no	Ríos Del Toro <i>et al.</i> 2013

# Artículos

			modificado.	
Fibras de carbón	HNO <sub>3</sub>	4-NF, 3-CNB	Mayor (1.68 veces) concentración grupos quinona en la superficie del material, lo que incrementó su capacidad catalítica hasta 1.38 veces.	Amezquita <i>et al.</i> 2013
Grafito	NM	NG, RDX	EE ≥90% para NG y RDX con grafito y sulfuro.	Xu <i>et al.</i> 2010
Carbón activado	Con HNO <sub>3</sub> y O <sub>2</sub> . Térmica con H <sub>2</sub> y N <sub>2</sub>	RR2, NA7, AM10, AD71	Reducción química: 9 <sup>x</sup> , usando sulfuro y 0.1 g CA/L. Reducción biológica: de 2 a 4.5 <sup>x</sup> con CA modificado con H <sub>2</sub> .	Pereira <i>et al.</i> 2010
Carbón activado	HNO <sub>3</sub> , tratamiento térmico	NII, NR5	ED >88% en los dos colorantes, utilizando el CA con la mayor área específica.	Mezohegyi <i>et al.</i> 2010
Grafito	NM	DNT, RDX	DNT: EE de ~95% y ~16%; RDX: EE de 94% y 26%, en ambos casos con y sin grafito respectivamente.	Oh <i>et al.</i> 2009
Carbón activado	NM	TT, NG, RA, AO	Altas velocidades de reducción, con ≥80% de ED en ~2 min.	Mezohegyi <i>et al.</i> 2009
Grafito Carbón activado	NM	RDX	EE cercana al 100% después de 2 h. La velocidad de reducción se vio favorecida por el incremento de sulfuro, pH y CA.	Kemper <i>et al.</i> 2008
Carbón activado	NM	NA7	ED de 99% en 2 min.	Mezohegyi <i>et al.</i> 2007
Carbón activado	NM	RR2, NA7	ED de ~35%, ~45% y ~95% con 0, 0.4 y 10 g CA/L, respectivamente.	Van der Zee <i>et al.</i> 2003
Grafito	NM	DNT	EE de 93.5%.	Oh <i>et al.</i> 2002

<sup>a</sup> NM, material carbonáceo no modificado.

<sup>b</sup> RR2, Reactive Red 2; NA7, Naranja Acido 7; AM10, Amarillo Mordiente 10; AD71, Azul Directo 71; RM, Rojo de Metilo; 4-NF, 4-nitrofenol; 3CNB, 3-cloronitrobenceno; NII, Naranja II; NR5, Negro Reactivo 5; TT, Tartrazina; NG, Naranja G; AO, Amarillo Ocaso FCF; RA, Rojo Acido 88; DNT, 2,4-dinitrotolueno; RDX, hexahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina; NG, nitroglicerina

<sup>c</sup> "x" indica el incremento en la velocidad de reducción (decoloración o deshalogenación, según sea el caso) en comparación al control sin mediador redox; CA, carbón activado; ED, eficiencia de decoloración; EE, eficiencia de eliminación.

## *Inmovilización de quinonas modelo*

La mayoría de los estudios enfocados en elucidar el papel de MR inmovilizados en procesos de biotransformación de contaminantes han sido desarrollados con quinonas modelo. La antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS), ilustrada en la Figura 1, es el MR más comúnmente utilizado tanto en forma inmovilizada (Tabla 2) como soluble (Van der Zee & Cervantes, 2009). La Tabla 2 presenta un listado de los estudios que reportan el uso de diferentes materiales para inmovilizar quinonas modelo. De acuerdo a los materiales utilizados, se han reportado distintos mecanismos de inmovilización como adsorción, encapsulamiento, enlace covalente y dopaje (Tabla 2). Además, la mayoría de estos estudios fueron enfocados en la biotransformación de colorantes azo.

El alginato de calcio ha sido utilizado para la inmovilización de MR a través de la encapsulación de antraquinonas (Guo *et al.*, 2010a, 2010b; Su *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2007). Para esto, una suspensión de antraquinona fue mezclada con alginato de sodio en una relación de 0.05%, y después fue mezclado con una solución de  $\text{CaCl}_2$ , para luego formar partículas de 3-4 mm de diámetro. Guo *et al.*, (2007) probaron el efecto catalítico de las quinonas inmovilizadas en alginato de calcio durante la reducción microbiológica de diferentes colorantes azo, alcanzando un incremento en la velocidad de decoloración de hasta 1.5 a 2 veces comparado con el control sin MR. De igual forma, la eficiencia de decoloración fue

del ~100% y 34%, para los tratamientos con quinona (inmovilizada) y sin quinona, respectivamente; utilizando Rojo Acido 3R y lodo anaerobio (Su *et al.*, 2009). Un proceso desnitrificante también fue estudiado mediante el uso alginato de calcio modificado con quinonas; alcanzándose una tasa desnitrificante 2 veces mayor respecto al control sin quinonas (Guo *et al.*, 2010b). Algunas desventajas del alginato de calcio pueden ser: 1) limitación en la transferencia de masa, pues las quinonas se encuentran dentro del material, lo que hace difícil su accesibilidad; 2) pérdida gradual de la capacidad redox debido al rompimiento del material polimérico, resultado de su baja resistencia mecánica.

Los compositos de polipirrol también fueron modificados con AQDS a través de la electropolimerización de monómeros de pirrol sobre un electrodo de fieltro de carbón activado. Este composito fue utilizado como catalizador para la reducción de compuestos nitroaromáticos (Li *et al.*, 2008) y colorantes azo (Li *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009). La velocidad de biotransformación de los compuestos nitroaromáticos fue incrementada 5.1, 5.7 y 4.8 veces más para el nitrobeneno, 2,4- y 2,6-dinitrotolueno, respectivamente, en relación al control sin AQDS (Li *et al.*, 2008). Por otro lado, el composito incrementó entre 1 y 3.2 veces la velocidad de decoloración respecto al control sin MR, con eficiencias de decoloración  $\geq 65\%$  para doce compuestos azo estudiados (Li *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009). Este

mecanismo de inmovilización parece ser más atractivo para las aplicaciones a escala real que el método utilizado mediante el alginato de calcio.

Otro método desarrollado para inmovilizar MR es mediante la adsorción de AQDS y 1,2-naftoquinona-4-sulfonato sobre resinas de intercambio aniónico, el cual fue propuesto por Cervantes *et al.*, (2010). La capacidades máximas de adsorción fueron 1.42 mmol de naftoquinona/g y 1.87 mmol AQDS/g; estos valores fueron similares a los diferentes pH (6, 7, 8) utilizados. En este estudio se utilizaron tres colorantes azo con el fin de evaluar la capacidad catalítica del MR inmovilizado. Comparado con el control en donde no se suministraron MR, hubo un incremento en la velocidad de decoloración de hasta 8.8 veces para Naranja de Metilo utilizando la naftoquinona inmovilizada. La adsorción de los MR fue estable a 25 °C, sin embargo, en altas condiciones de temperatura y una alta concentración de aniones (fosfato y sulfato) puede existir competencia por los sitios de adsorción entre los aniones y quinonas (Cervantes *et al.*, 2010). Alvarez *et al.*, (2010) reportaron la inmovilización de AQDS en nanopartículas de óxidos metálicos y su aplicación en procesos de decoloración utilizando un consorcio anaerobio. Entre todos los materiales probados, las nanopartículas de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  fueron las más apropiadas para la inmovilización de AQDS. Ciertamente, la capacidad de adsorción fue 0.105 mmol AQDS/g, lo que representa una capacidad de

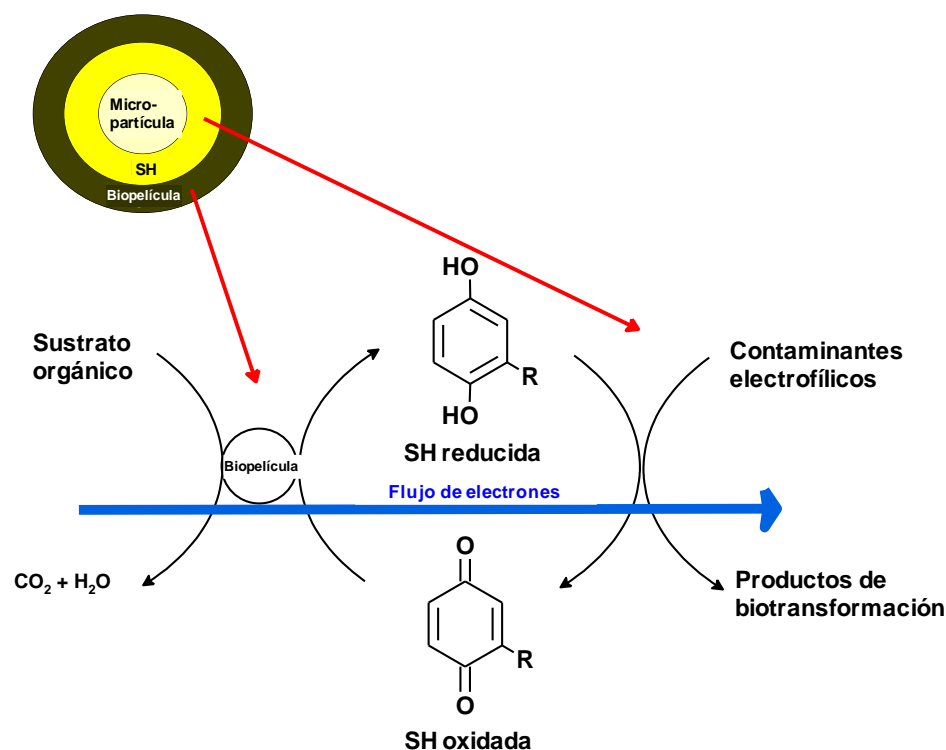
hasta 67 veces más alta respecto al resto de las nanopartículas utilizadas. La AQDS inmovilizada en  $\text{Al}(\text{OH})_3$  fue utilizada como MR, incrementando la velocidad de decoloración hasta 7.52 veces respecto al control sin quinonas (Alvarez *et al.*, 2010).

### *Inmovilización de sustancias húmicas*

El uso de SH inmovilizadas en la biotransformación anaerobia de contaminantes recalcitrantes no ha sido tan ampliamente estudiado como las quinonas modelo. El primer reporte fue publicado por Cervantes *et al.*, (2011), y muestra la inmovilización de SH sobre resinas de intercambio aniónico y su aplicación en la reducción de tetracloruro de carbono y Rojo Reactivo 2. En este estudio las SH húmicas fueron previamente modificadas mediante la introducción de grupos sulfónico, utilizando ácido clorosulfónico ( $\text{HClSO}_3$ ), de acuerdo al método reportado por Yudov *et al.*, (2005). La sulfonación incrementó hasta 10.5 y 5.5 veces la solubilidad de las SH a pH 7 y 10 respectivamente, en comparación con la muestra no modificada. La capacidad de adsorción de las SH sulfonadas en las resinas fue 2 veces mayor que las SH no sulfonadas. Además, las resinas modificadas con SH incrementaron hasta 4 y 2 veces el grado de reducción de tetracloruro de carbono y Rojo Reactivo 2, respectivamente, utilizando un consorcio anaerobio (Cervantes *et al.*, 2011). En un estudio posterior se demostró que el paso limitante del proceso fue la reducción microbiológica de las SH

inmovilizadas y suspendidas, el cual fue evidenciado por una velocidad de hasta tres órdenes de magnitud mayor en la transferencia de electrones de las SH hacia el Rojo Reactivo 2 (Cervantes *et al.*, 2013). Las resinas modificadas con SH también fueron utilizadas durante la eliminación simultánea de dos contaminantes recalcitrantes, fenol y Rojo Reactivo 2, utilizando un reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB, Martínez *et al.*, 2013b). Este estudio representa el primer reporte sobre la aplicación del concepto de SH inmovilizadas en un reactor en continuo, el cual fue operado durante aproximadamente 200 días. El reactor UASB empacado con resinas modificadas alcanzó eficiencias de decoloración de 90%, y de oxidación de fenol de 75%. Por su parte, el reactor control con resinas no modificadas con SH perdió gradualmente su capacidad de operación, colapsando después de 120 días de la

adición del colorante Rojo Reactivo 2 (Martínez *et al.*, 2013b). Por otro lado, Alvarez *et al.*, (2012) documentaron el uso de ácidos fúlvicos inmovilizados en alúmina durante la reducción de tetracloruro de carbono. Los ácidos fúlvicos fueron extraídos del suelo de un bosque templado de San Luis Potosí, México, y posteriormente fueron inmovilizados en partículas de alúmina de 45-63  $\mu\text{m}$ . Los ácidos fúlvicos inmovilizados mostraron buena capacidad catalítica durante la deshalogenación de tetracloruro de carbono, con una tasa de reducción de hasta 10.4 veces mayor respecto al control sin MR. La Figura 3 muestra las reacciones redox que se llevan a cabo durante la biotransformación reductiva de contaminantes electrofílicos en presencia de micropartículas de alúmina, las cuales actúan como material de soporte de SH y como núcleo para la formación de una biopelícula.



**Fig. 3.** Micropartículas de óxidos metálicos cubiertas con SH que sirven como núcleo para la formación de una biopelícula durante la biotransformación de contaminantes electrofílicos. Modificado de Cervantes *et al.*, 2013.

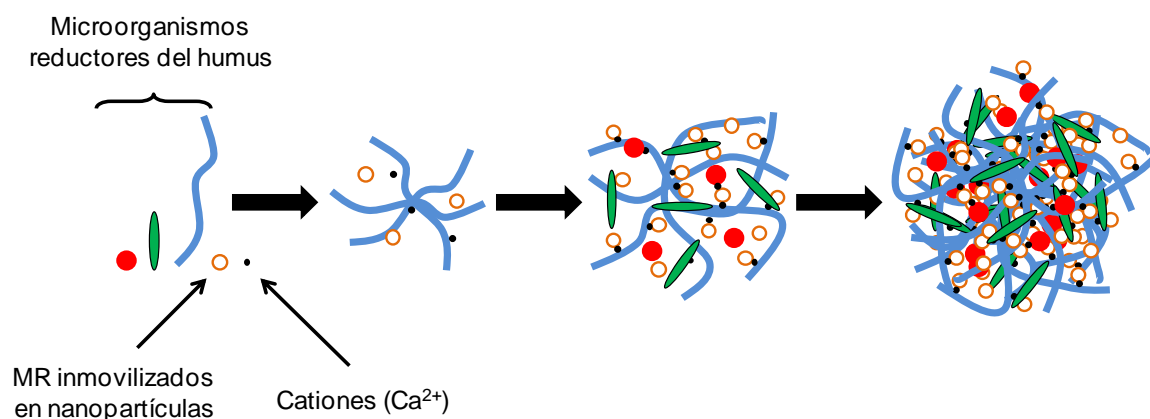
Las SH pueden ser inmovilizadas en distintos materiales a través de métodos físicos y químicos. Sin embargo, muchos de estos materiales modificados con SH aún no han sido utilizados en reacciones redox, pero parecen cumplir los requerimientos para servir como MR en fase sólida para la biotransformación reductiva de contaminantes. Por ejemplo, Perminova *et al.* (2007) desarrollaron un procedimiento para inmovilizar covalentemente SH sobre gel de sílice vía alcoxilación. Además, Klavins & Apsite (1997) propusieron un método para la

inmovilización covalente de ácidos fúlvicos y ácidos húmicos sobre varios polímeros como estireno-divinilbenceno, celulosa y sílice.

El uso de nanopartículas para adsorber MR tal como lo muestra Alvarez *et al.*, (2010), presenta la desventaja de un posible lavado del material de los biorreactores anaerobios. Sin embargo, el proceso de granulación anaerobia representa una oportunidad para la co-inmovilización de microorganismos reductores del humus y nanopartículas cubiertas con SH, a fin de prevenir la pérdida de este MR en fase sólida

(Alvarez & Cervantes, 2011). De hecho, ha sido demostrado que el proceso de granulación anaerobia puede llevarse a cabo utilizando nanopartículas de alúmina cubiertas con SH (resultados no publicados). En estudios previos se demostró que las nanopartículas modificadas con SH redujeron su efecto inhibitorio sobre la metanogénesis en comparación a las nanopartículas no modificadas. Además, también se demostró que la reducción microbiológica de SH inmovilizadas en nanopartículas de alúmina fue hasta 3.7 veces más rápida en comparación a los ensayos con SH suspendidas (Alvarez & Cervantes, 2012). Estos hallazgos representaron las bases para llevar a cabo el proceso de granulación con

SH inmovilizadas en nanopartículas de alúmina. La Figura 4 muestra el modelo de granulación anaerobia utilizando nanopartículas cubiertas con SH, y microorganismos reductores del humus, el cual se basa en la teoría del espagueti propuesta por Wiegant (1987). El modelo indica el uso de cationes divalentes como calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) para promover una mejor atracción electrostática entre las SH y los microorganismos. Tanto las nanopartículas cubiertas con SH como la membrana celular de los microorganismos están negativamente cargadas a pH neutro, por lo que los iones  $\text{Ca}^{2+}$  ayudan a disminuir las fuerzas de repulsión entre las SH y los microorganismos.



**Fig. 4.** Modelo propuesto para co-inmovilización de microorganismos reductores del humus y nanopartículas cubiertas con sustancias húmicas (Alvarez *et al.*, 2012).

#### Uso de materiales carbonáceos como MR

Algunos materiales carbonáceos (MC) como el carbón activado y grafito han sido

utilizados como MR durante la reducción química y biológica de contaminantes recalcitrantes (Tabla 3). A diferencia de los



procesos previamente descritos para inmovilizar SH y quinonas modelo, el uso de MC puede no requerir MR adicionales, ya que contienen diferentes grupos funcionales en su superficie, incluyendo quinonas (Figueiredo *et al.*, 1999). Sin embargo, los MC también pueden ser modificados químicamente mediante la introducción de distintos grupos oxigenados a fin de incrementar sus propiedades catalíticas.

La modificación química de la superficie de los MC puede promover una mayor capacidad redox, lo cual puede mejorar la reducción de diferentes contaminantes aceptores de electrones. Por ejemplo, Pereira *et al.*, (2010) encontraron un mayor grado de decoloración utilizando carbón granular activado modificado térmicamente (en presencia de H<sub>2</sub>), en relación a otros métodos de oxidación probados. La velocidad de decoloración del compuesto Amarillo Mordiente 10 fue 8.6 veces mayor en presencia del carbón granular modificado térmicamente en relación al carbón no modificado. Otros MC que fueron modificados químicamente son las fibras de carbón. Este material fue sometido a oxidación con HNO<sub>3</sub> 8 M, para su posterior aplicación como MR durante la reducción microbiológica de Rojo de Metilo (Ríos Del Toro *et al.*, 2013) y reducción química de 4-nitrofenol y 3-cloronitrobenzeno (Amezquita *et al.*, 2013). En el primer caso, la decoloración de Rojo de Metilo ocurrió hasta 1.8 veces más rápida en presencia de las fibras modificadas (expuestas durante 2 h a

HNO<sub>3</sub>) en comparación a las no modificadas. Además, se observó que la formación de una biopelícula sobre las fibras de carbón activado redujeron la velocidad de decoloración hasta 6.7 veces, indicando que las biomasa adherida al MC limita la transferencia de masa. Por su parte, Amezquita *et al.*, (2013) produjeron fibras de carbón con un incremento de hasta 1.68 veces de concentración de grupos quinonas en su superficie, lo cual también incremento su capacidad catalítica hasta 1.38 veces.

Existen MC que no fueron modificados químicamente pero que demostraron buena actividad catalítica durante la reducción de compuestos nitroaromáticos (Tabla 3). Uno de estos materiales es el grafito, que fue utilizado para reducir químicamente el 2,4-dinitrotolueno, hexahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina, bajo distintas condiciones de pH, concentración del agente reductor de los MC, y concentración de grafito (Xu *et al.*, 2010; Oh & Chiu, 2009; Kemper *et al.*, 2008; Oh *et al.*, 2002).

## FUENTES APROPIADAS DE SUSTANCIA HUMICAS

Entre las diferentes moléculas con sitios redox activos reportados en la literatura, como citocromos (Picardal *et al.*, 1993), flavinas/cobalaminas (Guerrero-Barajas *et al.*, 2005), piridinas (Lee *et al.*, 1999), fenazinas (Hernández *et al.*, 2004) y porfirinas (Koons *et al.*, 2001), las quinonas son reconocidas como los MR más apropiados para la biotransformación

reductiva de muchos contaminantes (Field *et al.*, 1995). Diferentes quinonas sintéticas, como la AQDS, han sido utilizadas como MR modelo en procesos reductivos; sin embargo, las quinonas se encuentran presentes en las SH, que son compuestos producidos de manera natural y abundante en la biosfera. Las SH son la fuente más abundante y barata de materia orgánica presente en sistemas terrestres y acuáticos; además, su largo tiempo de residencia (>250 años; Stevenson, 1994) puede permitir su aplicación en procesos de bioremediación, aunado a que se considera un material no peligroso y que no libera subproductos tóxicos (Perminova *et al.*, 2005).

En un estudio de caracterización de SH descrito por Hernández *et al.*, (2012) se encontraron valores de capacidad de transferencia de electrones entre 112 y 392  $\mu\text{mol/g}$ , lo cual dependió del origen del material crudo. Otros estudios indican que las SH originadas a partir de turba, sedimentos de río o suelos mostraron una capacidad entre 25 y 538  $\mu\text{mol/g}$  (Ratasuk & Nanny, 2007). De esta forma, a fin de tomar ventaja durante la selección de MR apropiados para propósitos biodegradación se deberán considerar las distintas fuentes de MR presentes en la naturaleza, sobre todo aquellas con alta capacidad para transferir electrones. Ciertamente la variabilidad intrínseca en las propiedades redox de las SH es el principal factor que limita su aplicación en tecnologías de remediación. Sin embargo, las SH pueden ser modificadas

mediante la incorporación de grupos quinona a fin de mejorar sus propiedades redox, lo cual puede ser requerido durante la biotransformación de un gran número de contaminantes. La modificación de las SH con quinonas puede llevarse a cabo siguiendo dos diferentes estrategias. La primera estrategia considera la oxidación de los fragmentos fenólicos asociados a la estructura aromática del humus. La segunda estrategia es la policondensación de los fragmentos fenólicos, que se puede obtener con hidroquinonas y catecol. Con estos dos métodos la capacidad de transferencia de electrones puede alcanzar entre 1 a 4  $\text{mmol/g}$ , que son valores sumamente grandes en relación a las muestras de humus no modificadas (Perminova *et al.*, 2005). Las SH químicamente modificadas con estos métodos nunca han sido utilizadas como MR en procesos de biotransformación de contaminantes recalcitrantes, pero parecen ser muy apropiadas para tal fin. De esta forma, el gran potencial que tienen las SH de actuar como MR puede ser mejorado, a fin de aplicarse y mejorar los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

## PERSPECTIVAS EN LA APLICACIÓN DE MEDIADORES REDOX

A pesar de que las quinonas y SH han sido extensamente utilizadas como MR en procesos de (bio)transformación reductiva, su potencial para tratar contaminantes prioritarios presentes en acuíferos y aguas residuales generadas por diversos sectores

industriales no ha sido explotado. Ciertamente, los diferentes métodos de inmovilización descritos en este trabajo pueden permitir, en el futuro cercano, la aplicación de MR para mejorar los sistemas de tratamiento de aguas residuales que contengan contaminantes susceptibles reducirse. Sin embargo, también es necesario considerar otros aspectos que permitan la aplicación apropiada de los MR, tales como 1) fuentes de SH con bajo costo y efectivas; 2) ingeniería de SH; 3) limitaciones catalíticas en los MR (Van der Zee & Cervantes, 2009). Sobre la inmovilización de MR se deberá trabajar en los siguientes puntos:

- La fuerza de inmovilización de MR es importante por el hecho de que mejores mecanismos de inmovilización pueden permitir mantener la capacidad redox por largos periodos de tiempo, reduciendo así los costos de operación. En este sentido, la inmovilización covalente representa la opción más adecuada, sin embargo, otras técnicas pueden ser también consideradas (por ejemplo, la atracción electrostática).

- Evaluar la capacidad catalítica de los MR inmovilizados durante periodos largos, y no sólo en pruebas en lote. Esto tiene relación con el punto anterior. La utilización de reactores en continuo permitirá

identificar si los MR inmovilizados mantienen su capacidad catalítica, especialmente con el uso de aguas residuales no sintéticas.

- Elucidar los impactos de la formación de una biopelícula en la superficie de los materiales adsorbentes de MR; tanto en la transferencia de electrones desde el donador de electrones (sustrato) para reducir las SH (reacción microbiológica), como en la transferencia de electrones desde las SH hacia los contaminantes (reacción química).

- La gran diversidad de contaminantes (colorantes azo, compuestos nitroaromáticos y halogenados) utilizados en la industria hacen necesario probar los MR inmovilizados bajo una mezcla de contaminantes o con muestras reales de agua residual.

## AGRADECIMIENTOS

Luis H. Alvarez agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca (#167847) posdoctoral otorgada y por el financiamiento otorgado a través del proyecto SEP-CONACYT #155656. De igual forma se agradece a la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería por otorgar la distinción del Premio Alfredo Sánchez Marroquín 2013 a la mejor tesis doctoral.

## REFERENCIAS

- Alvarez LH & Cervantes FJ (2011) (Bio)Nanotechnologies to enhance environmental quality and energy production. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 86: 1354-1363.
- Alvarez LH & Cervantes FJ (2012) Assessing the impact of alumina nanoparticles in an anaerobic consortium: methanogenic and humus reducing activity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 95: 1323-1331.
- Alvarez LH, Jimenez L, Hernandez-Montoya V & Cervantes FJ (2012) Enhanced dechlorination of carbon tetrachloride by immobilized fulvic acids on alumina particles. *Water Air and Soil Poll.* 223: 1911-1920.
- Alvarez LH, Perez-Cruz MA, Rangel-Mendez JR & Cervantes FJ (2010) Immobilized redox mediator on metal-oxides nanoparticles and its catalytic effect in a reductive decolorization process. *J. Hazard. Mater.* 184:268–272.
- Amezquita-Garcia HJ, Razo-Flores E, Cervantes FJ & Rangel-Mendez JR (2013) Activated carbon fibers as redox mediators for the increased reduction of nitroaromatics. *Carbon* 55: 276–284.
- Barkovskii AL & Adriaens P (1998) Impact of humic constituents on microbial dechlorination of polychlorinated dioxins. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 1013–1020.
- Borch T, Inskeep WP, Harwood JA & Gerlach R (2005) Impact of ferrihydrite and anthraquinone-2,6-disulfonate on the reductive transformation of 2,4,6-trinitrotoluene by a Grampositive fermenting bacterium. *Environ. Sci. Technol.* 39: 7126–33.
- Cervantes FJ, Enriquez JE, Mendoza-Hernandez MR, Razo-Flores E & Field JA (2006) The role of sulphate reduction on the reductive decolorization of the azo dye reactive orange 14. *Water Sci. Technol.* 54: 171–177.
- Cervantes FJ, Vu-Thi-Thu L, Lettinga G & Field JA (2004) Quinone-respiration improves dechlorination of carbon tetrachloride by anaerobic sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64: 702–11.
- Cervantes FJ, González-Estrella J, Márquez A, Alvarez LH & Arriaga S (2011) Immobilized humic substances on an anion exchange resin and their role on the redox biotransformation of contaminants. *Bioresour. Technol.* 102: 2097-2100.
- Cervantes FJ, Garcia-Espinosa A, Moreno-Reynosa MA & Rangel-Mendez JJ (2010) Immobilized redox mediators on anion exchange resins and their role on the reductive decolorization of azo dyes. *Environ. Sci. Technol.* 44: 1747-1753.
- Cervantes FJ, Martínez CM, Gonzalez-Estrella J, Marquez A & Arriaga S (2013) Kinetics during the redox biotransformation of pollutants mediated by immobilized and soluble humic acids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 2671–2679.
- Dos Santos AB, De Madrid MP, De Bok FAM, Stams AJM, Van Lier JB & Cervantes FJ

- (2006) The contribution of fermentative bacteria and methanogenic archaea to azo dye reduction by a thermophilic anaerobic consortium. *Enzyme Microb. Technol.* 39: 38–46.
- Field JA, Cervantes FJ, van der Zee FP & Lettinga G (2000) Role of quinones in the biodegradation of priority pollutants: a review. *Wat. Sci. Technol.* 42: 215-222.
- Field JA, Stams AJM, Kato M & Schraa G (1995) Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Anton. Leeuw. Int. J. G.* 67: 47–77.
- Figueiredo JL, Pereira MFR, Freitas MMA & Órfão JMM (1999) Modification of the surface chemistry of activated carbons. *Carbon* 37: 1379-1389.
- Guerrero-Barajas C & Field JA (2005) Riboflavin- and cobalamin-mediated biodegradation of chloroform in a methanogenic consortium. *Biotechnol. Bioeng.* 89: 539–550.
- Guo J, Kang L, Lian J, Yang J, Yan B, Li Z, Liu C & Yue L (2010a) The accelerating effect and mechanism of a newly functional bio-carrier modified by redox mediators for the azo dyes decolorization. *Biodegradation* 21: 1049-1056.
- Guo J, Kang L, Yang J, Wang X, Lian J, Li H, Guo Y & Wang Y (2010b) Study on a novel non-dissolved redox mediator catalyzing biological denitrification (RMBDN) technology. *Bioresour. Technol.* 101: 4238-4241.
- Guo J, Zhou J, Wang D, Tian C, Wang P, Salah Uddin M & Yu H (2007) Biocatalyst effects of immobilized anthraquinone on the anaerobic reduction of azo dyes by the salt-tolerant bacteria. *Water Res.* 41: 426-432.
- Hernandez ME, Kappler A & Newman DK (2004) Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 921–928.
- Hernández V, Alvarez LH, Montes-Moran MA & Cervantes FJ (2012) Reduction of quinone and non-quinone redox functional groups in different humic acid samples by *Geobacter sulfurreducens*. *Geoderma* 183-184: 25-31.
- Kemper JM, Ammar E & Mitch WA (2008) Abiotic degradation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine in the presence of hydrogen sulfide and black carbon. *Environ. Sci. Technol.* 42:2118-2123.
- Klavins M & Aspö E (1997) Immobilization of humic substances, in: Drozd J, Gonet SS, Senesi N, Weber J Eds. The role of humic substances in the ecosystems and in environmental protection. PTSH-Polish Society of Humic Substances, Wroclaw, Poland.
- Koons BW, Baeseman JL & Novak PJ (2001) Investigation of cell exudates active in carbon tetrachloride and chloroform degradation. *Biotechnol. Bioeng.* 74: 12–17.
- Kwon M & Finneran K (1998) Biotransformation products and

- mineralization potential for hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) in abiotic versus biological degradation pathways with anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) and *Geobacter metallireducens*. *Biodegradation* 19: 705–715.
- Kwon MJ & Finneran KT (2006) Microbially mediated biodegradation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine by extracellular electron shuttling compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 5933–5941.
- Lee CH, Lewis TA, Paszczynski A & Crawford RL (1999) Identification of an extracellular catalyst of carbon tetrachloride dehalogenation from *Pseudomonas stutzeri* strain KC as pyridine-2,6-bis(thiocarboxylate). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 261: 562–566.
- Li L, Wang J, Zhou J, Yang F, Jin C, Qu Y, Li A & Zhang L (2008) Enhancement of nitroaromatic compounds anaerobic biotransformation using a novel immobilized redox mediator prepared by electropolymerization. *Bioresour. Technol.* 99: 6908–6916.
- Li L, Zhou J, Wang J, Yang F, Jin C & Zhang G (2009) Anaerobic biotransformation of azo dye using polypyrrole/anthraquinonedisulphonate modified active carbon felt as a novel immobilized redox mediator. *Sep. Purif. Technol.* 66: 375–382.
- Lu H, Zhou J, Wang J, Si W, Teng H & Liu G (2010) Enhanced biodecolorization of azo dyes by anthraquinone-2-sulfonate immobilized covalently in polyurethane foam. *Bioresour. Technol.* 101: 7185–7188.
- Martínez CM, Alvarez LH, Celis LB & Cervantes FJ (2013a) Humus-reducing microorganisms and their valuable contribution in environmental processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 10293–10308.
- Martínez CM, Celis LB & Cervantes FJ (2013b) Immobilized humic substances as redox mediator for the simultaneous removal of phenol and Reactive Red 2 in a UASB reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 9897–9905.
- Mezohegyi G, Goncalves F, Órfão JJM, Fabregat A, Fortuny A, Font J, Bengoa C & Stuber F (2010) Tailored activated carbons as catalysts in biodegradation of textile azo dyes. *Appl. Catal. B: Environ.* 94: 179–185.
- Mezohegyi G, Fabregat A, Font J, Bengoa C, Stuber F & Fortuny A (2009) Advanced bioreduction of commercially important azo dyes: modeling and correlation with electrochemical characteristics. *Ind. Eng. Chem. Res.* 48: 7054–7059.
- Mezohegyi G, Kolodkin A, Castro UI, Bengoa C, Stuber F, Font J & Fabregat A (2007) Effective anaerobic decolorization of azo dye Acid Orange 7 in continuous upflow packed bed reactor using biological activated carbon system. *Ind. Eng. Chem. Res.* 46: 6788–6792.



# Artículos

- Oh SY, Cha DK & Chiu PC (2002) Graphite-mediated reduction of 2,4-dinitrotoluene with elemental iron. *Environ. Sci. Technol.* 36: 2178-2184.
- Oh SY & Chiu PC (2009) Graphite- and soot-mediated reduction of 2,4-dinitrotoluene and hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine. *Environ. Sci. Technol.* 43: 6983-6988.
- Pearce CI, Guthrie JT & Lloyd JR (2008) Reduction of pigment dispersions by *Shewanella* strain J18 143. *Dyes Pigm.* 76: 696-705.
- Pereira L, Pereira, R, Pereira MFR, van der Zee FP, Cervantes FJ & Alves MM (2010) Thermal modification of activated carbon surface chemistry improves its capacity as redox mediator for azo dye reduction. *J. Hazard. Mater.* 183:931-939.
- Perminova I, KarpoukL, Shcherbina N, Ponomarenko S, Kalmykov S & Hatfield K (2007) Preparation and use of humic coatings covalently bound to silica gel for Np(V) and Pu(V) sequestration. *J. Alloy. Compd.* 444-445: 512-517.
- Perminova IV, Kovalenko AN, Schmitt-Kopplin P, Hatfield K, Hertkorn N, Belyaeva EY & Petrosyan VS (2005) Design of quinonoid-enriched humic materials with enhanced redox properties. *Environ. Sci. Technol.* 39: 8518-8524.
- Picardal FW, Arnold RG, Couch H, Little AM & Smith ME (1993) Involvement of cytochromes in the anaerobic biotransformation of tetrachloromethane by *Shewanella putrefaciens* 200. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 3763-3770.
- Ramalho PA, CardosoMH, Cavaco-Paulo A & Ramalho MT (2004) Characterization of azo reduction activity in a novel ascomycete yeast strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 2279-2288.
- Ratasuk N & Nanny MA (2007) Characterization and quantification of reversible redox sites in humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 41: 7844-7850.
- Rios-Del Toro E, Celis LB, Cervantes FJ & Rangel-Mendez JR (2013) Enhanced microbial decolorization of methyl red with oxidized carbon fiber as redox mediator. *J. Hazard Mater.* 260: 967-974.
- Stevenson FJ (1994) *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions.* John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Su Y, Zhang Y, Wang J, Zhou J, Lu X & Lu H (2009) Enhanced bio-decolorization of azo dyes by co-immobilized quinone-reducing consortium and anthraquinone. *Bioresour. Technol.* 100: 2982-2987.
- Van der Zee FP, Bisschops IA, Lettinga G & Field JA (2003) Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes. *Environ. Sci. Technol.* 37: 402-408.
- Van der Zee FP & Cervantes FJ (2009) Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: A review. *Biotechnol. Adv.* 27: 256-277.
- Wang J, Li L, Zhou J, Lu H, Liu G, Jin R & Yang F (2009) Enhanced



# Artículos

- biodecolorization of azo dyes by electropolymerization-immobilized redox mediator. *J. Hazard. Mater.* 168: 1098-1104.
- Wiegant WM (1987) The spaghetti theory on anaerobic sludge formation, or the inevitability of granulation, in *Granular anaerobic sludge: Microbiology and technology*, ed by Lettinga G, Zehnder AJB, Grotenhuis JTC & Hulshoff Pol LW. The Netherlands: Pudoc. Wageningen.
- Workman DJ, Woods SL, Gorby YA, Fredrickson JK & Truex MJ (1997) Microbial reduction of vitamin B12 by *Shewanella alga* strain BrY with subsequent transformation of carbon tetrachloride. *Environ. Sci. Technol.* 31: 2292-2297.
- Xu W, Dana KE & Mitch WA (2010) Black carbon-mediated destruction of nitroglycerin and RDX by hydrogen sulfide. *Environ. Sci. Technol.* 44: 6409-6415.
- Yudov MV, Zhilin DM, Pankova AP, Rusanov AG, Perminova IV, Petrosyan VS & Matorin DN (2005) Synthesis, metal-binding properties and detoxifying ability of sulphonated humic acids, in: Perminova IV, Hatfield K & Hertkorn N Eds. Use of humic substances to remediate polluted environments: from theory to practice. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 485-498.