



## Reducción de Colorantes Azo por Distintos Grupos Microbianos en Consorcios Anaerobios

Francisco J. Cervantes

División de Ciencias Ambientales, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), Camino a la Presa San José 2055, Col. Lomas 4ª. Sección, C. P. 78216, San Luis Potosí, SLP, México. E-mail: [fcervantes@ipicyt.edu.mx](mailto:fcervantes@ipicyt.edu.mx).

### Introducción

Los colorantes azo son ampliamente utilizados en diferentes sectores industriales como la fabricación de textiles, alimentos, cosméticos y fármacos (dos Santos *et al.* 2007). El sector que más demanda colorantes azo es el textil, ya que representan más del 70% de los colorantes usados durante la tinción de telas. Muchos colorantes presentan un grado de fijación muy pobre en las telas, que puede llegar hasta un 50%, por lo que una cantidad importante de ellos termina en las aguas residuales del proceso de tinción (van der Zee 2002). La descarga de los colorantes azo al ambiente representa un serio problema por las implicaciones que tiene tanto para la salud pública como para los ecosistemas. En efecto, muchos colorantes azo y sus productos de degradación (aminas aromáticas) pueden generar alergias, mutaciones o cáncer. Además, la descarga de estos contaminantes a ecosistemas acuáticos impide el desarrollo de las plantas debido a que la coloración que imparten inhibe la fotosíntesis. Aunado a lo anterior, muchos colorantes han mostrado efectos tóxicos sobre especies acuáticas (dos Santos *et al.* 2006b).

El sector textil es una de las industrias que demanda mayor cantidad de agua para los procesos de producción. Para la fabricación de telas de algodón, por ejemplo, la demanda de agua varía enormemente entre 120 y 750 m<sup>3</sup>/ton, mientras que para la elaboración de fibras de nylon y de poliéster, la demanda es entre 100-150 y 60-130 m<sup>3</sup>/ton, respectivamente (Cervantes 2007).

Considerando todo lo anterior, es evidente que este sector industrial requiere de sistemas de tratamiento de aguas eficientes que permitan reutilizar sus efluentes a través de circuitos cerrados. Los sistemas biológicos han emergido como una alternativa viable para el tratamiento de efluentes del sector textil. Los colorantes azo no pueden ser degradados en sistemas biológicos aerobios convencionales. Sin embargo, bajo condiciones anaerobias, estos compuestos pueden ser reducidos a aminas aromáticas, las cuales no son biodegradadas normalmente en reactores anaerobios, pero sí en sistemas aerobios. Por lo tanto, el esquema planteado para lograr la mineralización completa de los colorantes azo, es la combinación de un sistema biológico anaerobio seguido de otro aerobio (Field *et al.* 1995). De hecho, múltiples



reportes en la literatura indican la factibilidad de esta estrategia con lo cual se pueden lograr altos niveles de eliminación de materia orgánica y de color (dos Santos *et al.* 2007). Sin embargo, muchos colorantes azo son reducidos muy lentamente en reactores anaerobios (van der Zee *et al.* 2001) por lo que la primera etapa del esquema planteado (etapa anaerobia) es considerada como la etapa limitante en la mayoría de los casos. Para contrarrestar lo anterior, varios catalizadores con propiedades óxido-reductoras (redox) han sido aplicados a sistemas de tratamiento anaerobios logrando un aumento de hasta varios órdenes de magnitud en la velocidad de reducción de varios colorantes (dos Santos *et al.* 2006b; 2007).

El propósito de este artículo es describir los procesos anaerobios implicados en la reducción de colorantes azo en sistemas anaerobios de tratamiento de aguas residuales. Además, el trabajo describe el papel que juegan cada uno de los grupos tróficos involucrados en la reducción de estos contaminantes en consorcios anaerobios.

#### *Procesos involucrados en la digestión anaerobia*

La digestión anaerobia consiste en una serie de reacciones que, en ausencia de oxígeno, degradan la materia orgánica hasta metano y dióxido de carbono como productos finales. Básicamente, el proceso global de digestión anaerobia se puede dividir en tres etapas, de acuerdo con el modelo propuesto por McInerney y Bryant (1981). Las relaciones complejas entre los diferentes grupos microbianos involucrados en la digestión anaerobia se esquematizan en la Figura 1.

En la primera etapa, llamada acidogénesis, los polímeros y otras sustancias complejas son hidrolizadas y fermentadas para dar como productos compuestos simples como el ácido acético, que es el principal precursor del metano, otros ácidos grasos volátiles (AGV) como propiónico, butírico, láctico y valérico, etanol e hidrógeno. En la segunda etapa, con las reacciones de acetogénesis, los ácidos grasos son transformados en ácido acético e hidrógeno. En la tercera etapa, se lleva a cabo la metanogénesis, principalmente mediante dos tipos de reacciones; la acetoclástica que consiste en la descarboxilación del ácido acético y la hidrogenotrófica que consiste en la reducción del dióxido de carbono con hidrógeno.

#### *Acidogénesis: hidrólisis y fermentación*

Consiste en la hidrólisis de las macromoléculas y en la fermentación de los monómeros y oligómeros (ácidos grasos, carbohidratos, aminoácidos y compuestos aromáticos) para producir principalmente AGV de dos a cinco átomos de carbono, ácidos dicarboxílicos, como el succinato, alcoholes (metanol y etanol), CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>. En este nivel intervienen reacciones de interconversión de algunos metabolitos que permiten que el producto sea fermentado después por un grupo complementario de bacterias fermentativas. Por ejemplo, la formación de propionato a partir del succinato o del lactato, la reducción carboxilativa del propionato (C<sub>3</sub>) en butirato (C<sub>4</sub>), entre otras reacciones (Monroy 1998). Las bacterias acidogénicas más representativas pertenecen a los géneros *Clostridium*, *Streptococcus* y *Propionibacterium*, las cuales presentan altas tasas de fermentación en un amplio intervalo de pH (5-9) y tienen una



mayor velocidad de crecimiento comparada con la de los otros grupos microbianos involucrados en la digestión anaerobia. Las bacterias que utilizan el  $H_2$  como fuente de energía (hidrogenotróficas) juegan un papel muy importante en esta etapa, ya que impiden la acumulación de  $H_2$  en los digestores, lo cual inhibiría el proceso global de digestión anaerobia debido a que muchas reacciones serían termodinámicamente no viables (Rittman & MacCarty 2001).

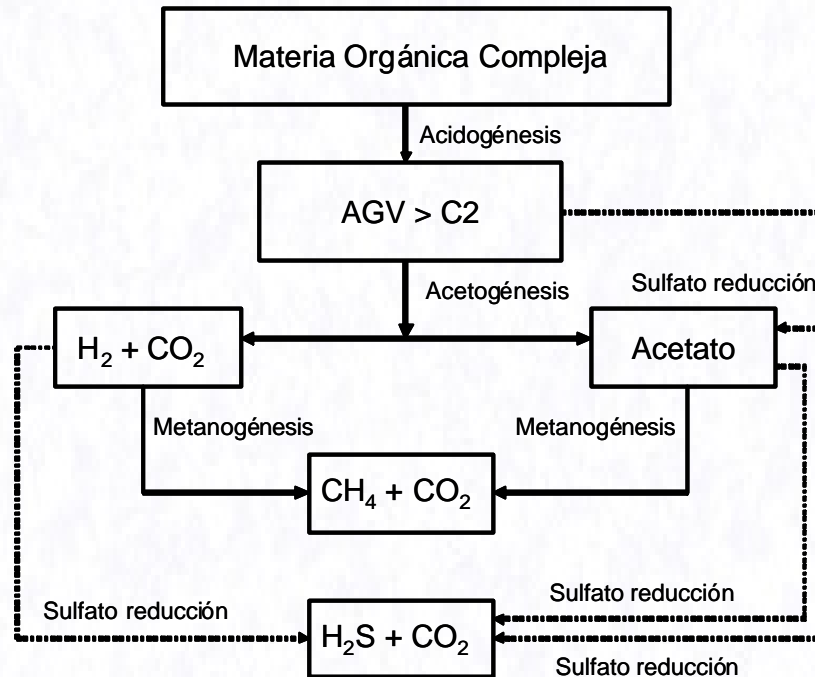


Figura 1. Principales procesos involucrados en la digestión anaerobia de materia orgánica y su relación con la sulfato reducción.

### Acetogénesis

Este proceso consiste en la conversión de los AGV y alcoholes en acetato,  $H_2$  y  $CO_2$ . Lo llevan a cabo un grupo de bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA, por sus siglas en inglés). Para ello es preciso que el  $H_2$ , producido en la acidogénesis y en la acetogénesis, tenga un sumidero continuo, para que el equilibrio termodinámico de las reacciones se desplace hacia la liberación de energía libre (pasando de una  $\Delta G' > 0$  a una  $\Delta G' < 0$ ). En caso contrario, se inhibirán las bacterias OHPA debido a un impedimento termodinámico del proceso global (Tabla 1). Las arqueobacterias metanogénicas hidrogenotróficas son las encargadas de consumir el  $H_2$  producido en las dos etapas anteriores. Lo anterior, implica una transferencia de  $H_2$  entre especies, la cual funciona armónicamente en consorcios anaerobios gracias a la relación sintrófica tan estrecha entre las bacterias OHPA y las arqueobacterias hidrogenotróficas. Esta relación sintrófica es muy importante, ya que permite la producción continua de acetato a partir de los otros AGV presentes en un digestor. La presión parcial de  $H_2$ , en digestores anaerobios, no deberá



exceder de  $10^{-4}$  atm para que las reacciones sean favorables desde el punto de vista termodinámico. Las arqueobacterias metanogénicas tienen una alta afinidad por el  $H_2$ , lo cual permite que los niveles de  $H_2$  usualmente se encuentren por debajo de  $10^{-6}$  atm en los digestores (Monroy 1998).

**Tabla 1.** Estequiometría y cambio de energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) de algunas reacciones acetogénicas (adaptada de Monroy 1998)

Reacción	$\Delta G^\circ$ (kJ/mol)
$CH_3CHOHCOO^- + 2 H_2O \rightleftharpoons CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2 H_2$	- 4.2
Lactato	
$CH_3CH_2OH + H_2O \rightleftharpoons CH_3COO^- + H^+ + 2 H_2$	+ 9.6
Etanol	
$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2 H_2O \rightleftharpoons 2 CH_3COO^- + H^+ + 2 H_2$	+ 48.1
Butirato	
$CH_3CH_2COO^- + 3 H_2O \rightleftharpoons CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3 H_2$	+ 76.1
Propionato	
$4 CH_3OH + 2 CO_2 \rightleftharpoons 3 CH_3COOH + 2 H_2O$	- 2.9
Metanol	
$2 HCO_3^- + 4 H_2 + H^+ \rightleftharpoons CH_3COO^- + 4 H_2O$	- 70.3
Bicarbonato	

### Metanogénesis

Es el último proceso bioquímico implicado en la digestión anaerobia y consiste en la producción de metano a partir de un pequeño grupo de sustratos que incluye la mezcla  $H_2/CO_2$ , el formiato, el acetato, el metanol y las metil-aminas. Algunos microorganismos metanogénicos pueden utilizar también etanol, ciclopentanol y 2propanol como donadores de electrones para reducir el  $CO_2$ . En la mayoría de los digestores anaerobios, los principales sustratos son la mezcla  $H_2/CO_2$ , el formiato y el acetato. Este último, representa el origen del 73% del metano producido.

Los dos principales grupos de arqueobacterias metanogénicas son:

- 1) Hidrogenotróficas no acetoclásticas. Utilizan la mezcla  $H_2/CO_2$  y en su mayoría, el formiato. Los géneros más representativos son *Methanobrevibacter* y *Methanobacterium*. La reacción ocurre de acuerdo con la siguiente estequiometría:



- 2) Acetoclásticas. Utilizan el acetato como principal fuente de carbono y energía. La reacción ocurre de acuerdo con la siguiente estequiometría:



Este grupo de arqueobacterias metanogénicas se subdivide en dos:

- i) las del género *Methanosarcina* que, además del acetato, pueden utilizar metanol, metil-aminas y algunas cuantas especies, hidrógeno



- ii) las del género *Methanosaeta*, antiguamente conocido como *Methanothrix*, que utilizan únicamente acetato como fuente de energía.

Los microorganismos metanogénicos pertenecen a las *Archaeobacteria*, un grupo filogenético distinto de los *Eukaryotes* y *Prokaryotes*. Las arqueobacterias difieren de las bacterias en la composición del DNA y de su pared celular. Las arqueobacterias metanogénicas contienen ácido murámico en su pared celular, lo cual las hace ser no susceptibles a la acción de antibióticos (penicilina, vancomicina y cefalosporina) que afectan la pared celular de las bacterias. Las arqueobacterias metanogénicas son anaerobias estrictas muy sensibles al oxígeno que requieren potenciales redox menores a - 330 mV para crecer de manera óptima (Macarie & Guyot 1995).

#### *Sulfato reducción*

Muchos efluentes industriales, como los generados de fábricas de textiles, alimentos marinos y papel, contienen elevadas concentraciones de sulfato. Estas aguas residuales, al ser tratadas en sistemas anaerobios, permiten el crecimiento de bacterias sulfato-reductoras (BSR), las cuales aprovechan una amplia gama de sustratos orgánicos para reducir el sulfato hasta sulfuro. La sulfato reducción se define como el proceso respiratorio mediante el cual las BSR obtienen energía al utilizar al sulfato como aceptor final de electrones (Rittman & McCarty 2001).

La presencia de sulfato en aguas residuales incrementa considerablemente la complejidad de las rutas de biodegradación en un digestor anaerobio (Figura 1). Bajo este escenario, las BSR compiten con los otros grupos tróficos involucrados en la digestión anaerobia (acidogénicos, acetogénicos y metanogénicos) por los sustratos disponibles en el agua residual a tratar. Desde el punto de vista termodinámico y cinético, las BSR superan a las arqueobacterias metanogénicas durante su crecimiento en sistemas anaerobios (Tabla 2). La competencia entre estos dos procesos es de suma importancia, dado que determina en qué grado se generarán los dos principales productos de estos procesos (sulfuro y metano). La importancia de esta competencia se incrementa cuando se tratan aguas residuales con una relación baja de materia orgánica (generalmente referida como demanda química de oxígeno, DQO) y sulfato. Para descargas industriales con una relación DQO/sulfato mayor a 0.67, se contará con la cantidad de materia orgánica requerida para lograr la reducción completa del sulfato hasta sulfuro. Para lograr una eliminación completa de la DQO, además de la sulfato-reducción, deberá ocurrir también la metanogénesis de manera complementaria. Para los casos en los que la relación DQO/sulfato sea menor a 0.67, se requerirá la adición de sustrato complementario para lograr el proceso completo de reducción de sulfato (Fernández-Polanco & García-Encina 2006).

El sulfuro generado por las BSR juega un papel importante en la competencia de estas bacterias con los microorganismos metanogénicos, ya que ejerce un efecto tóxico sobre éstas. Sin embargo, en general, se ha reportado que para el tratamiento de efluentes cuya relación



DQO/sulfato es mayor a 10, se puede lograr una alta eficiencia metanogénica, complementaria a la reducción de sulfato a sulfuro por las BSR (Fernández-Polanco & García-Encina 2006).

Tabla 2. Estequiometría para la degraedación de propionato, acetate e hidrógeno por bacterias sulfato-reductoras y arqueobacterias metanogénicas (adaptada de Fernández-Polanco & García-Encina 2006) (? G<sup>o</sup> a 37°C en kJ/reacción)

Reacciones	? G <sup>o</sup>
<b>Propionato</b>	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3 \text{H}_2\text{O} ? \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 3 \text{H}_2$	+76.0
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 0.75 \text{SO}_4^{2-} ? \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + 0.75 \text{HS}^- + 0.25 \text{H}^+$	-37.7
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 1.75 \text{SO}_4^{2-} ? 3 \text{HCO}_3^- + 1.75 \text{HS}^- + 0.5 \text{H}^+ + 0.25 \text{OH}^-$	-88.9
<b>Acetato</b>	
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} ? \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31.0
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} ? 2 \text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47.6
<b>Hidrógeno</b>	
$4 \text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ ? \text{CH}_4 + 3 \text{H}_2\text{O}$	-32.7
$4 \text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ ? \text{HS}^- + 4 \text{H}_2\text{O}$	-38.1

#### Reducción de colorantes azo bajo condiciones anaerobias

La reducción anaerobia de colorantes azo consiste en la ruptura reductiva de los enlaces azo presentes en la estructura de estos compuestos. Es decir, los enlaces –N=N– son reducidos para formar aminas aromáticas. El primer reporte sobre la reducción de un colorante azo fue publicado por Brohm y Frohwein (1937), cuando estudiaron la reducción de colorantes utilizados en la industria alimentaria por bacterias lácticas aisladas del intestino humano. A partir de entonces, se derivaron múltiples estudios que describen la reducción de colorantes azo por diferentes bacterias aisladas del tracto digestivo de mamíferos (McMullan *et al.* 2001; Stolz 2001; Rau *et al.* 2002). Lo anterior, se explica por el impacto negativo que tienen las aminas formadas de la reducción de los colorantes azo, en la salud pública; muchas de estas aminas han sido identificadas como carcinogénicas (Brown & Devito 1993).

Después, cuando la eliminación de colorantes de las aguas residuales se convirtió en un tema de investigación prioritario, se desarrollaron múltiples estudios que señalaron a una amplia gama de microorganismos facultativos o anaerobios estrictos capaces de reducir una gran variedad de colorantes azo. Por lo anterior, por muchos años, se pensó que la reducción de los colorantes azo era un proceso fortuito y general de los microorganismos anaerobios, que no requería la intervención de enzimas específicas.

Actualmente se conocen varios mecanismos mediante los cuales se reducen los colorantes azo (Figura 2). El mecanismo más estudiado implica la reducción biológica de colorantes azo por una amplia gama de microorganismos anaerobios. Al respecto, se conocen diferentes formas de reducción microbiana; en algunos casos la reducción se lleva a cabo en el citoplasma de las bacterias, mientras que en otros casos, la reducción de los colorantes está asociada a enzimas de la membrana celular (dos Santos *et al.* 2007). Otro mecanismo de reducción de colorantes azo involucra la participación de distintos mediadores redox que canalizan los electrones generados por microorganismos, gracias a la oxidación de diferentes sustratos, hacia los enlaces azo de los colorantes. Se han reportado muchos mediadores redox



capaces de acarrear los electrones durante procesos de reducción de colorantes azo, entre los que destacan aquellos que incluyen en su estructura quinonas o flavinas (dos Santos *et al.* 2007). La participación de estos mediadores redox ha permitido acelerar el proceso de reducción de los colorantes azo, lo cual es de suma importancia ya que la reducción de estos compuestos está asociado a la desaparición del color de las aguas contaminadas. Es decir, el grupo cromóforo de estos colorantes es precisamente el(los) enlace(s) azo. También existen agentes químico reductores, como el sulfuro, que son muy comunes en sistemas de tratamiento de aguas residuales y que son capaces de reducir químicamente a los colorantes azo; ya sea por reducción química directa, o bien, por reducción química asistida por un mediador redox (van der Zee *et al.* 2000).

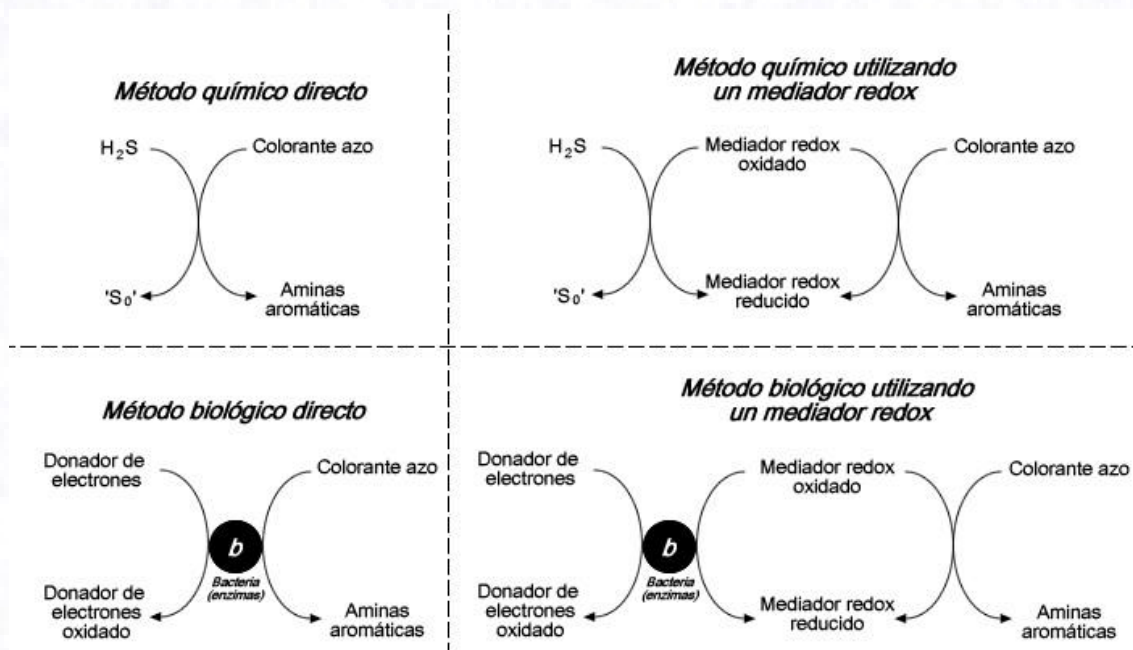


Figura 2. Principales mecanismos biológicos y químicos implicados en la reducción de colorantes azo a aminas aromáticas (van der Zee 2002)

### *Contribución de diferentes grupos microbianos de consorcios anaerobios en la reducción de colorantes azo*

#### *Bacterias Fermentativas*

Como se mencionó anteriormente, los primeros estudios sobre la reducción microbiana de colorantes azo se llevaron a cabo con bacterias fermentativas aisladas del tracto digestivo de mamíferos, debido a la importancia en salud pública que implica la generación de aminas aromáticas de estos procesos. Más recientemente, se ha reportado una gran variedad de microorganismos fermentativos, que comúnmente forman parte de consorcios anaerobios de tratamiento de aguas residuales, capaces de reducir colorantes azo. La velocidad y el grado de reducción de estos colorantes depende del tipo de microorganismo, del tipo de colorante y de la concentración inicial probada (Tabla 3).



Tabla 3. Bacterias facultativas y anaerobias estrictas capaces de reducir colorantes azo (adaptada de dos Santos *et al.* 2007)

Organismo	Colorantes	Actividad	Decoloración (%)	Comentarios
		? mol/mL/h		
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 3626	Amaranto	0.74	-	Concentración de colorante 0.033 mM.
	Naranja de Metilo	0.62	-	
	Naranja II	0.70	-	
	Tartrazina	0.67	-	
		? mol/mL/h		
<i>Bacteroides fragilis</i>	Amaranto	0.30	66.0	Después de 6 horas de incubación.
	Naranja II	0.20	37.0	Concentración de colorante 0.1 mM.
	Tartrazina	0.08	9.0	
<i>Pseudomonas</i> GM3	Violeta Ácido 7	-	97.4	Después de 72 horas de incubación.
	Azul Reactivo 2	-	18.3	
	Verde Ácido 27	-	75.6	Concentración de colorante 100 mg L <sup>-1</sup>
	Rojo Ácido 183	-	20.1	
	Carmino Índigo	-	69.0	
		? mol/min/g proteína		
<i>Sphingomonas xenophaga</i> BN6	Rojo Ácido 27	0.10	-	Concentración de colorante 0.1 mM.
	Naranja Ácido 20	0.10	-	
	Naranja Ácido 7	0.30	-	
	Rojo Ácido 14	0.20	-	
	Amarillo Ácido 23	0.10	-	
	Negro Ácido 1	0.30	-	
		AU x 10 <sup>-2</sup> / mg proteína		
<i>Enterococcus faecalis</i>	Rojo de Metilo	1.81	99.4	Después de 20 horas de incubación.
	Naranja II	1.39	95.1	
	Naranja G	1.20	64.1	Concentración de colorante 0.2 mM
	Amaranto	1.37	99.5	
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	Tartrazina	-	4.0	Después de 150 minutos de incubación. Concentración de colorante 2 mM
	Amarillo Sunset	-	9.0	
	Naranja de Metilo	-	66.0	
	Naranja II	-	72.0	
	Amaranto	-	5.0	
<i>Eubacterium bifforme</i>	Rojo Alura 40	-	0.0	Después de 150 minutos de incubación. Concentración de colorante 2 mM
	Tartrazina	-	4.0	
	Amarillo Sunset	-	22.0	
	Naranja de Metilo	-	79.0	
<i>Eubacterium bifforme</i>	Naranja II	-	81.0	Concentración de colorante 2 mM
	Amaranto	-	19.0	
	Rojo Alura 40	-	11.0	

Es importante señalar que las bacterias hidrolíticas y fermentativas juegan un papel importante en el tratamiento de efluentes de la industria textil, ya que estas descargas





contienen, además de una gran cantidad de colorantes azo, diferentes polímeros, como el almidón, utilizados durante la fabricación y el acabado de las telas (dos Santos *et al.* 2006b).

En experimentos recientes se estudió en detalle el papel que juegan las bacterias fermentadoras de la glucosa en la reducción de diferentes colorantes azo. Para tal efecto, se llevaron a cabo incubaciones de lodo anaerobio granular utilizando vancomicina y 2-bromoetano-sulfonato de sodio (BES) como inhibidores selectivo de las bacterias fermentativas y arqueobacterias metanogénicas, respectivamente (dos Santos *et al.* 2006a). Los cultivos inhibidos con vancomicina presentaron una decoloración muy pobre de los colorantes estudiados, debido a que se impidió la fermentación de la glucosa y, por consiguiente, el proceso anaerobio en general. Mientras tanto, los cultivos inhibidos con BES, en los cuales sólo estaban activas las bacterias acidogénicas, mostraron la misma capacidad para reducir los colorantes azo, comparado con los cultivos en los que no se agregó ningún inhibidor. Lo anterior, indica entonces que las bacterias fermentadoras de la glucosa juegan un papel destacado durante la decoloración de este tipo de contaminantes. En los cultivos inhibidos con BES, los principales productos de fermentación obtenidos fueron acetato, propionato, butirato, y etanol, evidenciando los principales grupos de bacterias fermentativas implicadas en el proceso de decoloración.

#### *Arqueobacterias Metanogénicas*

El papel específico las arqueobacterias metanogénicas en la reducción de colorantes azo se desconocía hasta hace poco, aunque se asumía que podrían jugar un papel importante ya que las altas tasas de decoloración observadas en digestores anaerobios estaban relacionadas con una alta producción de biogás (van der Zee *et al.* 2001; dos Santos *et al.* 2005). Fue hasta los estudios recientes, desarrollados por dos Santos *et al.* (2006a), en los que se evidenció claramente el papel que podrían jugar algunos microorganismos metanogénicos en la reducción de colorantes azo. En primera instancia, se observó que la actividad metanogénica de un lodo anaerobio granular fue despreciable durante la reducción de rojo reactivo 2, rojo reactivo 4 y naranja reactivo 14, cuando se utilizaron sustrato directos de la metanogénesis (acetato, metanol, formiato e hidrógeno). La actividad metanogénica de este consorcio metanogénico sólo se recuperó cuando los colorantes ya habían sido reducidos. De hecho, en cultivos selectivamente inhibidos con BES, en los que se utilizó el hidrógeno y el formiato como donadores de electrones, se observó incluso un aumento en la velocidad de decoloración comparado con los controles incubados sin BES. Lo anterior, podría sugerir que los microorganismos metanogénicos no están implicados en la reducción de colorantes azo. Sin embargo, otros experimentos relacionados indicaron claramente la participación de arqueobacterias metanogénicas en la reducción de colorantes azo. Cultivos puros de *Methanosarcina barkeri* y de una especie relacionada al género *Methanothermobacter* (especie NJ1) redujeron al rojo reactivo 2 utilizando hidrógeno como donador de electrones. Ambas cepas metanogénicas pudieron incluso reducir el colorante aún en presencia del inhibidor de la metanogénesis (BES). Los estudios revelaron que no hubo actividad metanogénica, durante la



reducción de rojo reactivo 2, lo cual sugiere que estos microorganismos utilizaron una vía metabólica alterna, en la que no está involucrada la acetil-coenzima M, para generar los electrones requeridos para la reducción del colorante. Otro cultivo de *Methanothermobacter thermoautotrophicus* ?H no fue capaz de reducir el mismo colorante directamente, pero la adición de riboflavina en el medio de cultivo, como mediador redox, permitió una rápida decoloración de este compuesto (dos Santos *et al.* 2006a). Lo anterior, indica que algunos acarreadores de electrones podrían jugar un papel muy importante para permitir a algunos microorganismos metanogénicos a participar en procesos de decoloración en sistemas anaerobios de aguas residuales.

#### *Bacterias sulfato reductoras*

Las aguas residuales de la industria textil usualmente contienen una concentración alta de sulfato. El sulfato es un aditivo común en las tinas de tinción o puede ser generado a partir de compuestos sulfurados más reducidos, como el sulfuro y la ditionita, que son utilizados en los procesos de tinción de telas (van der Zee *et al.* 2003). La presencia del sulfato en sistemas anaerobios aplicados en el tratamiento de efluentes de la industria textil, podría tener un efecto importante considerando los siguientes puntos: 1) el sulfato podría competir con los colorantes azo por los electrones disponibles en los digestores anaerobios; 2) la generación de electrones a partir de la oxidación de diferentes sustratos, ligado a la sulfato-reducción, podría promover la reducción de colorantes azo a través de cofactores que canalicen los electrones hacia estos contaminantes; y 3) el sulfuro generado de la sulfato-reducción podría contribuir, a través de reacciones químicas, en la reducción de colorantes azo (van der Zee *et al.* 2003; Cervantes *et al.* 2007).

Varios estudios se han desarrollado con el fin de esclarecer qué mecanismos son más importantes durante la reducción de colorantes azo bajo condiciones sulfato-reductoras. Lo anterior surge debido a que, a pesar de los múltiples trabajos que sugieren la participación de BSR en procesos de decoloración, los mecanismos involucrados no han sido elucidados. Algunos estudios señalan que tanto la actividad biológica ligada a la sulfato-reducción, como la reducción por sulfuro generado por BSR, son importantes en los procesos de reducción de colorantes azo. En un estudio reciente se encontró que la reducción de naranja reactivo 14 ocurrió de manera simultánea con la reducción de sulfato en un cultivo con lodo anaerobio granular (Cervantes *et al.* 2006). En el mismo trabajo se encontró que la reducción de NR14 por sulfuro, en incubaciones abióticas, no procedió de manera significativa, pero la adición de riboflavina como mediador redox, propició una alta tasa de decoloración de NR14 por sulfuro. Estudios posteriores corroboraron la contribución de la riboflavina en la transferencia de electrones del sulfuro hacia la reducción de distintos colorantes azo (Cervantes *et al.* 2007). La adición de riboflavina en estos estudios aumentó hasta 44 veces la velocidad de reducción de colorantes azo comparado con los controles sin riboflavina. También, en incubaciones de un lodo granular bajo condiciones sulfato-reductoras, se observó que la reducción del sulfato sólo ocurría durante la preincubación (sin colorantes) o bien, después de que los colorantes habían



sido completamente reducidos. Por lo tanto, se concluyó que el principal mecanismo de reducción de los colorantes azo fue mediante la reducción química por el sulfuro producido durante el periodo de preincubación, en presencia de riboflavina.

### Conclusiones

Las recientes evidencias mostradas en la literatura indican que varios grupos tróficos comúnmente encontrados en consorcios anaerobios de tratamiento de aguas residuales juegan un papel importante en la reducción de colorantes azo. Los principales grupos microbianos involucrados en la reducción de este tipo de contaminantes incluye a las bacterias fermentativas, las arqueobacterias metanogénicas y a las bacterias sulfato-reductoras. Algunos mediadores redox, como la riboflavina, al estar presentes en consorcios anaerobios facilitan la participación de microorganismos en los procesos de decoloración.

### Referencias

- Brohm, K. & Frohwein, E. (1937) Nachweis von durch Säuerungentfarbten künstlichen Eigelbfrabststoffen in Milchspeiseeis. *Zbl. Lebensmitt. Forsch.* 73: 30.
- Brown M.A. & Devito S.C. (1993) Predicting azo dye toxicity. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 23: 249-324.
- Cervantes F.J. (2007) Increase business competitiveness with water recycling. *Asian Water* 3:14-17.
- Cervantes F.J., Enríquez J. E., Mendoza-Hernández M.R., Razo-Flores E. and Field J.A. (2006) The role of sulphate reduction on the reductive decolorization of the azo dye reactive orange 14. *Water Sci. Technol.* 54(2): 171-177.
- Cervantes, F.J., Enríquez, J.E., Galindo-Petatán, E., Arvayo, H., Razo-Flores, E. and Field, J.A. (2007) Biogenic sulphide plays a major role on the riboflavin-mediated decolourisation of azo dyes under sulphate reducing conditions. *Chemosphere In Press.*
- dos Santos A. B., de Madrid M. P., de Bok F. A.M., Stams A.J.M., van Lier J.B. & Cervantes F. J. (2006a) The contribution of fermentative bacteria and methanogenic archaea to azo dye reduction by a thermophilic anaerobic consortium. *Enz. Microbial. Technol.* 39: 38-46.
- dos Santos, A.B., Cervantes, F.J. and van Lier, J.B. (2007) Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. *Biores. Technol.* 98(12): 2369-2385.
- dos Santos, A.B., Traverse, J., Cervantes, F.J. and van Lier, J.B. (2005) Enhancing the electron transfer capacity and subsequent colour removal in bioreactors by applying thermophilic anaerobic treatment and redox mediators. *Biotechnol. Bioeng.* 89: 42-52.
- dos Santos, I.A.E. Bisschops and F.J. Cervantes (2006b) Closing process water cycles and product recovery in textile industry: perspective for biological treatment. En *Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters: Principles & Applications*. Eds. Cervantes F.J., Pavlostathis, S.G. & van Haandel, A. IWA Publishing. pp. 298-320.
- Fernández-Polanco, M. & García-Encina, P.A. (2006) Application of biological treatment systems for sulphate-rich wastewaters. En *Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters: Principles & Applications*. Eds. Cervantes F.J., Pavlostathis, S.G. & van Haandel, A. IWA Publishing. pp. 213-236.
- Field, J.A., Stams, A.J.M., Kato, M. and Schraa, G. (1995) Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Antonie van Leeuwenhoek* 67: 47-77.
- Macarie, H. & Guyot, J.P. (1995) Use of ferrous sulphate to reduce the redox potential and allow the start-up of UASB reactors treating slowly biodegradable compounds. *Environ. Technol.* 16:1185-1192.
- McInerney M.J. & Bryant M.P. (1981) Basic principles of bioconversions in anaerobic digestion and methanogenesis. En *Biomass conversion process for energy and fuels*. Eds. S.S. Sofer & O.R. Zabrosky, Plenum Publishing Corp. pp. 277-296. New York, EUA.



McMullan, G., Meehan, C., Conneely, A., Nirby, N., Robinson, T., Nigam, P., Banat, I.M., Marchant, R. & Smyth, W.F. (2001) Mini review: Microbial decolourisation and degradation of textile dyes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 81-87.

Monroy-Hermosillo, O.A. (1998) Modelamiento y control de un sistema de digestión anaerobia en dos etapas. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana. Pp. 3-10.

Rau, J., B. Maris, R. Kinget, C. Samyn, G. van den Mooter & A. Stolz (2002) Enhanced anaerobic degradation of polymeric azo compounds by *Escherichia coli* in the presence of low-molecular-weight redox mediators. *J. Pharm. Pharmacol.* 54, 1471-1479.

Rittman, B.E. & McCarty, P.L. (2001) Biotecnología del Medio Ambiente: Principios y Aplicaciones. Mc Graw Hill, Madrid, España.

Stolz, A. (2001) Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:69-80.

Van der Zee, F. P. (2002) Anaerobic azo dye reduction. Wageningen University, The Netherlands, pp. 142. ISBN 90-5808-610-0.

Van der Zee, F.P., Bisschops, I.A.E. , Blanchard, V. G., Bouwman, R. H. M., Lettinga, G. & Field (2003) The contribution of biotic and abiotic processes during azo dye reduction in anaerobic sludge. *Water Res.* 37, 3098-3109.

Van der Zee, F.P., Bouwman, R.H.M., Strik, D.P.B.T.B., Lettinga, G. & Field, J.A. (2001) Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors. *Biotechnol. Bioeng.* 75, 691-701.

Van der Zee, F.P., Lettinga, G. & Field, J.A. (2000) The role of (auto)catalysis in the mechanism of anaerobic azo dye reduction. *Water Sci. Technol.* 42: 301-308.