

PREMIO ALFREDO SÁNCHEZ MARROQUÍN CATEGORÍA LICENCIATURA

Biotransformación de colorantes azo por microorganismos reductores del humus

Iris Arvizu^{1*}, Luis H. Alvarez², Verónica Almaguer³, Bernardo Garcia-Reyes¹,
Daniel Olivo¹, Yair Del Angel¹

¹ *Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Universidad S/N. Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, NL, 66455, México.*

² *Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro., Ciudad Obregón, Sonora, 85000 México.*

³ *Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Universidad S/N. Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, NL, 66455 México.*

Correo electrónico: [*criss_arvizu@hotmail.com](mailto:criss_arvizu@hotmail.com)

RESUMEN

El humus constituye la fracción de materia orgánica más abundante que está distribuida en ambientes acuáticos y terrestres. La evidencia acumulada en las últimas dos décadas indica que las sustancias húmicas y sus análogos quinonas tienen un papel relevante en el transporte, destino y la conversión redox de compuestos orgánicos e inorgánicos tanto en reacciones químicas como microbiológicas. Algunos de los compuestos que son susceptibles a ser convertidos o biotransformados por microorganismos utilizando el humus o quinonas como mediadores redox (MR) son colorantes tipo azo, compuestos nitroaromáticos y halogenados y metaloides. En este trabajo se presenta la contribución que han tenido los microorganismos en procesos de óxido-reducción, específicamente en la biotransformación de colorantes tipo azo.

Palabras clave: sustancias húmicas, quinonas, mediadores redox, microorganismos, colorantes azo.

ABSTRACT

Humus constitutes the most abundant fraction of organic matter distributed in aquatic and terrestrial environments. Accumulated evidence in last two decades indicates that humic substances and their quinones analogues play important roles in transport, fate, and redox conversion of organic and inorganic compounds in both chemical and microbial conditions. Between the compounds susceptible to be converted or biotransformed by microorganisms using humic substance or quinones acting as redox mediators are azo dyes, nitroaromatics and halogenated compounds, and metalloids. In this review it is presented the contribution of microorganisms in redox processes, specifically during the biotransformation of azo dyes.

Key words: humic substances, quinones, redox mediators, microorganisms, azo dyes.

INTRODUCCIÓN

Con la mayor demanda de productos textiles, la industria textil y sus aguas residuales han aumentado proporcionalmente, convirtiéndola en una de las principales fuentes de graves problemas de contaminación en todo el mundo. En particular, la descarga de efluentes coloreados en el medio ambiente es indeseable, no solo por su color, sino también porque muchos colorantes de aguas residuales y sus productos de descomposición son tóxicos y/o mutagénicos (Dos Santos et al., 2007). Los colorantes azo son utilizados para el proceso de teñido de textiles y se estima que las cantidades que no se fijan a las fibras dependen de la clase de colorante empleado, variando del 2 % cuando se usan colorantes básicos al 50 % cuando se usan colorantes reactivos (Páez et al., 2009). Una alternativa que se ha visualizado para tratar efluentes que contienen colorantes azo es el uso de mediadores redox (MR), que son compuestos capaces de acelerar la transferencia de electrones entre los

compuestos donadores y aceptores de electrones en procesos anaerobios de decoloración (Cervantes et al., 2000a). A pesar de la gran ventaja, el empleo de MR puede resultar poco promisorio debido a los costos de operación que implica la adición continua de los catalizadores. Una estrategia que permitiría utilizar los MR en biorreactores en continuo y sin necesidad de adicionarlos de manera constante, es inmovilizándolos en materiales soporte (Cervantes et al., 2011). En esta revisión se abordan las estrategias que se han utilizado en los últimos años para el uso de MR en sistemas biológicos continuos para la biotransformación de los colorantes tipo azo.

Biodiversidad de microorganismos reductores de quinonas y humus

El estudio pionero que reportó la capacidad de los microorganismos para utilizar sustancias húmicas como aceptores finales de electrones fue reportado por Lovley et al. (1996a). Inicialmente se observó que la aplicación del humus como agente quelante aumentaba la biodisponibilidad de óxidos de

Fe(III). Este proceso promovió una mayor biodegradabilidad de hidrocarburos por los microorganismos en comparación con compuestos quelantes sintéticos (Lovley et al., 1996b), incluso considerando que el humus presentó una capacidad inferior como quelante comparada con los compuestos sintéticos. A partir de ahí, Lovley et al. (1996a) plantearon la hipótesis de que algunos microorganismos podrían ser capaces de transferir electrones derivado de la oxidación de contaminantes hacia grupos redox en las quinonas presentes en el humus. Experimentos posteriores demostraron que las bacterias reductoras de hierro *Geobacter metallireducens* y *Shewanella algae* pueden utilizar las sustancias húmicas y el compuesto modelo antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS) como aceptores finales de electrones acoplado a la oxidación de acetato e hidrógeno. La mayoría de los microorganismos reductores del humus han mostrado también capacidad para reducir Fe(III), además, microorganismos desnitrificantes, sulfatoreductores, halorespiradores, fermentativos e incluso metanogénicos han mostrado capacidad para reducir el humus (Cervantes et al., 2000b). Sin embargo, la reducción del humus o quinonas no es universal, ya que hay bacterias reductoras de Fe(III) incapaces de utilizar el humus o

quinonas como aceptores de electrones (Weelink et al., 2009). Microorganismos con la capacidad de transferir electrones hacia el humus o quinonas han mostrado también la capacidad de crecer, lo que se reconoce como respiración de humus. Sin embargo, la oxidación anóxica de sustratos acoplada a la reducción de humus por diferentes microorganismos, incluyendo las pruebas en arqueas, no mostraron crecimiento detectable, lo que sugiere una actividad bioquímica no específica (Martinez et al., 2013).

Los hallazgos anteriormente descritos han permitido que durante los últimos años se utilice a las sustancias húmicas y las quinonas como MR para acelerar la conversión de contaminantes prioritarios como colorantes azo, compuestos aromáticos y alifáticos halogenados, nitroaromáticos y metaloides. (Van der Zee & Cervantes, 2009). Este proceso es llamado catálisis, debido a que los mediadores no afectan la estequiometría general de la reacción. Una reacción catalizada realiza un mecanismo diferente del que sigue la reacción no catalizada. Dicho mecanismo tiene una energía total de activación menor que la reacción no catalizada, lo cual explica la rapidez en la velocidad de reacción (Rios Del Toro et al., 2012).

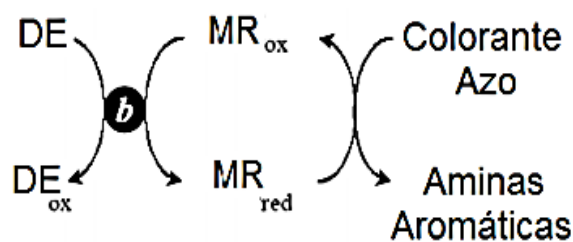


Figura 1. Representación del mecanismo biológico anaeróbico de reducción de colorante azo acoplado con un MR mediador redox, DE donador de electrones (García, 2008).

Colorantes tipo azo

Los colorantes tipo azo son los más empleados en la industria textil. Un ejemplo se muestra en la Figura 2, en donde su principal característica son los grupos funcionales cromóforos que están representados por el enlace $-N=N-$ y la presencia de grupos sulfónicos que permiten una fuerte fijación a los grupos catiónicos de fibras. Han sido reportadas tres familias, monoazo, diazo y triazo, cada una de ellas existe con diferentes propiedades (León et al., 2010), siendo los colorantes monoazo dispersos los de mayor consumo debido a que se usan para teñir fibras e hilos de poliéster, acetato, nylon y acrílico (García & Brillas, 2016). Los colorantes azo son muy estables en el medio ambiente debido a su persistencia en condiciones naturales de oxidación y reducción, exposición a la luz y

biodegradación. Actualmente existen cerca de 100,000 diferentes tipos de colorantes en el mercado, de los cuales aproximadamente el 40% son colorantes tipo azo (Dharshini & Sumathy, 2018).

Se han probado diferentes métodos para eliminar los colorantes azo de aguas residuales para evitar los problemas ambientales que ocasiona y los peligrosos efectos sobre los seres vivos. Varios estudios han informado que los tratamientos fisicoquímicos como la coagulación, la adsorción o la filtración por membranas selectivas permiten la decoloración en las aguas residuales, con la desventaja que se generan grandes volúmenes de lodo o requieren mantenimiento regular para adsorbentes o regeneración de membranas (García et al., 2011).

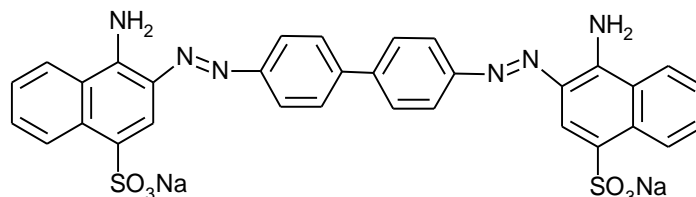


Figura 2. Estructura química del colorante Rojo Congo.

Aplicación de mediadores redox

La digestión anaerobia ha tomado gran importancia en el tratamiento de colorantes gracias a la implementación de MR (Olivo et al., 2015). Debido a que los colorantes azo son compuestos electrofílicos, su eliminación requiere un método reductivo mediante una reacción de oxidación-reducción, en la cual el colorante actúa como un aceptor de electrones en condiciones anaerobias, conduciendo a la reducción de su grupo cromóforo y la pérdida de color (Walker et al., 1971). Además, ya ha sido ampliamente documentado que bajo condiciones anaerobias es más eficiente en la degradación de colorantes que su contraparte aeróbica (Baeta et al., 2012; Dos Santos et al., 2006; Méndez-Paz et al., 2005). La transferencia de electrones libera pequeñas cantidades de energía químicamente ligada, disminución en la energía libre, la cual es usada para el crecimiento de los organismos anaerobios, este proceso suele involucra un consorcio complejo de microorganismos que llevan a cabo la degradación de la materia contaminante principalmente en tres etapas: hidrólisis, acetogénesis y metanogénesis (Gonzalez & Escamilla, 2006).

La eficacia de los tratamientos anaerobios en la degradación de efluentes textiles ha sido ampliamente estudiada y demostrada tanto en cultivos mixtos como cultivos puros. Los cultivos mixtos de microorganismos presentan la ventaja de que las distintas cepas presentes en el consorcio

atacan a las moléculas o los compuestos azo de colorante de forma diferente y complementaria. La identificación química de los productos de degradación de los colorantes muestra que la decoloración tiene lugar mediante una vía reductiva. La reducción anaerobia de colorantes consiste en la ruptura reductiva de los enlaces azo presentes en la estructura de estos compuestos. Es decir, los enlaces tipo azo ($-N=N-$) son reducidos para formar aminas aromáticas (Cervantes, 2008), esto mediante una variedad de enzimas citoplasmáticas con baja especificidad por el sustrato llamadas azorreductasas, que también son capaces de reducir quinonas (Ryan et al., 2010).

La adición de MR o la presencia de sales tiene la capacidad de acelerar la descomposición de colorantes azo como se ha mencionado anteriormente. A su vez, la aplicación de sistemas de alta velocidad, tales como el reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB) o lecho expandido de lodos granulares (EGSB), en los cuales los tiempos de residencia hidráulicos desacoplan de los tiempos de retención de sólidos, facilitan la eliminación de los colorantes de las aguas residuales (López et al., 2007). Dadas las obvias ventajas que ofrece la digestión anaerobia, su bajo costo de instalación y operación, han sido considerada como una potencial alternativa en el tratamiento de los efluentes textiles

El tratamiento de colorantes azo ha resultado ser un trabajo lento y complicado de

llevar acabo (Alvarez et al., 2017a). Se ha demostrado que el uso de MR puede ayudar a resolver el problema, tal como se muestra en los estudios presentados en la Tabla 1. Los MR permiten alcanzar altas tasas de decoloración, mejorando la degradación de colorantes azo al actuar como acarreadores de electrones y aumentando las velocidades de reacción en uno o varios órdenes de magnitud (Guzman et al., 2002). Entre algunos de los MR reportados están la riboflavina (Field & Brady, 2003; Dos Santos et al., 2005a), la melanina (Turik et al., 2002; Brigé et al., 2008), quinonas (Cervantes et al., 2000a; Alvarez et al., 2017a) como la antraquinona-2-sulfonato, lawsona y AQDS (Dos Santos et al., 2004; Yaniris & Obaya 2006; León et al., 2010). Durante los últimos años se ha acumulado suficiente evidencia que indica que las quinonas y sustancias húmicas pueden desempeñar un rol importante como MR en procesos de

reducción anaerobia y en la biotransformación otro tipo de contaminantes recalcitrantes, como los polihalogenados, nitroaromáticos, cresoles (Field et al., 2000). Sin embargo, aún con la ventaja que ofrecen los MR, su adición continua surge como su principal desventaja, ya que son solubles en concentraciones catalíticamente activas. A pesar de que han demostrado un considerable incremento en la eficiencia de reducción en colorantes azo, la dosificación de estos implica gastos recurrentes. Además, la descarga continua del MR, el cual se perdería durante el lavado del reactor, ocasionaría efectos ambientales adversos (Van Der Zee et al., 2003). Por tal motivo, desde hace varios años se han implementado estrategias de inmovilización de MR en soportes como el carbón activado (CA), el cual presenta grupos activos en su superficie que pueden promover la adsorción (Páez et al., 2009).

Tabla 1. Mediadores redox utilizados para la decoloración de colorantes Azo

Colorante	Mediador redox	Referencia
Rojo reactivo 2	AQDS	(Van der Zee et al., 2001)
Amarillo mordant 10	Riboflavina	(Field & Brady, 2003)
Rojo reactivo 23		
Naranja reactivo 7		
Amarillo 3	AQS	(Rau et al., 2002)
Rojo reactivo 14	Lawsona	
Amarillo reactivo 23		
Negro reactivo 1		
Rojo reactivo 2	AQDS	(Dos Santos et al., 2004)
Naranja ácido 7	AQS	

Artículos

Amarillo mordant 10	Riboflavina	
Rojo reactivo 2	Riboflavina	(Dos Santos et al., 2005)
Naranja reactivo 2		
Rojo reactivo 2	Sustancias húmicas	(Martínez et al., 2013)
4-fenilazofenol		
Amarillo mordant 10	Sustancias húmicas	(Tan et al., 1999)
Naranja reactivo 14		
Azul directo 53	AQDS	(Cervantes et al., 2010)
Azul directo 71	Lawsona	
Rojo de metilo	Menadiona	
Rojo ácido	Ization	(Liu et al., 2009)
Rojo reactivo	Lawsona	
Rojo reactivo 120	AQDS	(Li et al., 2009)

Carbón activado como mediador redox

Una manera de contrarrestar la adición continúa de mediadores redox es el uso de un soporte para para su inmovilización dentro de los reactores. Sin embargo, el uso de CA es una alternativa disponible, ya que contiene diversos grupos funcionales en su superficie, siendo los grupos quinona lo de mayor importancia por su capacidad de transferencia de electrones (Mezohegyi et al., 2007). Van der Zee et al. (2003), evaluaron la decoloración de rojo reactivo 2 en un reactor UASB, al cual se agregó CA como MR, alcanzándose una alta capacidad de decoloración mayor al 90%, comparado con el 40% obtenido por el reactor control que no contenía CA (Van Der Zee et al., 2003). Así mismo, Amezcua et al. (2017) usaron fibras de CA como soportes para la formación de una biopelícula y como MR para la biotransformación continua de 4-nitrofenol.

Los resultados indican que las fibras, con una alta concentración de grupos carbonilo, mejoraron la biotransformación de 4-nitrofenol hasta 2.1 veces comparando con el reactor control.

Aplicación de mediadores redox inmovilizados

Diferentes mecanismos de inmovilización han sido utilizados para el estudio de la estructura, actividad catalítica y otras propiedades de proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas. Sin embargo, respecto a los MR, existen pocas publicaciones (García, 2008). Cervantes et al., (2011) reportaron por primera vez la inmovilización de un MR en CA, que presentó una gran capacidad de adsorción de AQDS, alcanzando 1,500 mg/g. En un estudio más reciente realizado por Alvarez et al., (2017b) se evaluó la capacidad de AQDS inmovilizado

en granular durante la decoloración reductora del azul directo 71 en condiciones microbianas y químicas, obteniendo una capacidad de absorción de 0.227 mmol/g. El anclaje de AQDS en carbón granular mejoró su capacidad de transferencia de electrones hasta 2.05 veces (Alvarez et al., 2017b). En otro estudio también se inmovilizó antraquinona-2-sulfonato en CA para evaluar su capacidad de reducir el colorante rojo congo en un reactor UASB. En ese estudio se evaluó de manera simultánea la eliminación de *p*-cresol acoplado a la reducción de rojo congo en reactores que operaron durante 250 días, siendo el período más largo de operación reportado en la literatura alcanzando (Alvarez et al., 2017a). En los

reactores se alcanzaron eficiencias de decoloración de 83.9%, en el período I, 88% en el II y 79.90 % en el III, en comparación con los obtenidos en el reactor con CA pero sin el MR que fueron 67.7% en el período I, 67.1 % en el II y 57.1% en el III. En un cuarto periodo se añadió glucosa y *p*-cresol, aumentando la eficiencia de decoloración a 87% para CA-AQS y 72% para CA. En el último periodo la eficiencia de los reactores disminuyó drásticamente cuando *p*-cresol fue la única fuente de energía, pero la eficiencia de los reactores mejoró hasta obtener un 84% (CA-AQS) y 71% (CA), tal como puede observarse en la Figura 3.

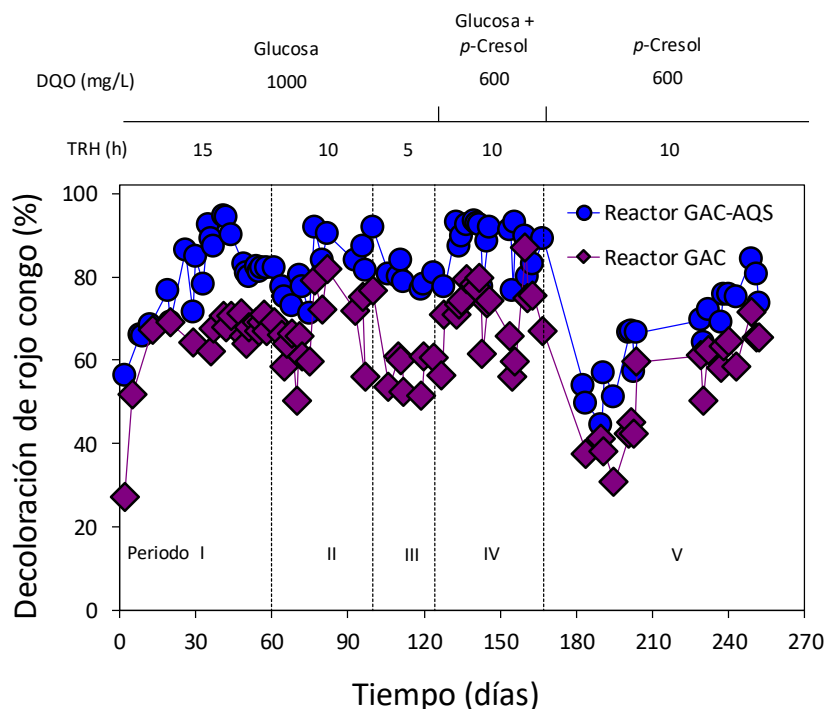


Figura 3. Desempeño de los reactores UASB en los 252 días de operación respecto a el porcentaje que presenta de decoloración el RC (adaptado de Alvarez et al., 2017a).

Artículos

Otro material de soporte para la inmovilización de AQDS y 1,2- naftoquinona-4-sulfonato se llevó a cabo en resinas de intercambio iónico alcanzando capacidades máximas de adsorción de 1.4 mmol de naftoquinona/g y 1.8 mmol AQDS/g (Cervantes et al., 2010). Por otro lado, la degradación anaeróbica del colorante azo remazol golden yellow usando riboflavina inmovilizada en celulosa como MR, fue 56%

mejor que los experimentos realizados sin un MR. La eficiencia de eliminación de color después de 48 h de degradación promedió 89.4% en experimentos con la riboflavina inmovilizada y 72% sin la adición del MR (Martins et al., 2014). Otros estudios que muestran la inmovilización de MR se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Estudios que muestran la inmovilización de MR en distintos materiales.

Contaminante	Soporte	Mediador Redox	Resultados	Referencia
Rojo reactivo	α -Al ₂ O ₃		Aumentó hasta 7.5	(Alvarez et al., 2010)
	ZnO	AQDS	veces la tasa de	
	Al(OH) ₃		decoloración.	
Rojo reactivo 2				
Rojo de metilo	Resinas de intercambio aniónico	NQS	Aumentó hasta 8.8	(Cervantes et al., 2010)
Naranja de metilo		AQDS	veces la tasa de decoloración.	
Rojo congo	Carbón activado	AQDS	El desempeño del reactor con CA-AQS alcanza una eficiencia mayor de decoloración.	(Alvarez et al., 2017a)
Azul directo 71	Carbón activado	AQDS	Eficiencias de	(Del Angel et al., 2016)
Rojo congo			decoloración de hasta 98.06%.	
Rojo reactivo 2	Tela de carbón activado	AQDS	Incremento de 3.29 la decoloración respecto al control.	(Castañón et al., 2019)

Conclusión

El uso de sustancias húmicas y quinonas actuando como mediadores redox ha demostrado tener un papel relevante en la respiración anaerobia de diferentes bacterias. Las aplicaciones biotecnológicas de este proceso microbiológico han permitido el tratamiento de aguas residuales que contienen contaminantes recalcitrantes como colorantes azo, y otros compuestos que pueden ser descargados por industrias químicas y petroquímicas. La inmovilización de mediadores redox puede permitir su aplicación en biorreactores a escala real, beneficiando la cinética del proceso al acelerar la biotransformación de los contaminantes. Con esto, se puede contribuir a abatir los problemas de contaminación ambiental asociados a las descargas de ese tipo de compuestos.

Referencias

- Alvarez LH, Arvizu IC, García-Reyes RB, Martínez CM, Olivo-Alanis D & Del Angel YA (2017a) Quinone-functionalized activated carbon improves the reduction of congo red coupled to the removal of p-cresol in a UASB reactor. *J. Hazard. Mater.* 338: 233–240.
- Alvarez LH, Del Angel YA & García-Reyes B (2017b) Improved microbial and chemical reduction of direct blue 71 using anthraquinone-2,6-disulfonate immobilized on granular activated carbon. *Water Air Soil Poll.* 228: 38.
- Alvarez LH, Perez MA, Rangel JR & Cervantes FJ (2010) Immobilized redox mediator on metal-oxides nanoparticles and its catalytic effect in a reductive decolorization process. *J. Hazard. Mater.* 184: (1-3):268-72.
- Castañón D, Alvarez LH, Peña K, García RB, Martínez CM & Pat-Espadas A (2019) Azo dye biotransformation mediated by AQS immobilized on activated carbon cloth in the presence of microbial inhibitors. *Environ. Pollut.* 252: 1163–1169.
- Cervantes F, Pérez J, Gómez J (2000a) Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 42: 73–82.
- Cervantes FJ (2008) Reducción de colorantes azo por distintos grupos microbianos en consorcios anaerobios. *Biotechnol. y Bioingeniería.* 12:6–20.
- Cervantes FJ, Garcia-Espinosa A, Moreno-Reynosa MA & Rangel-Mendez JR (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, Valenzuela KMC & Ochoa HAA (2011) Inmovilización de un mediador redox en carbón activado y su aplicación en la reducción biológica de colorantes azo. *Acta Química Mex.* 62–70.
- Cervantes FJ, Van Der Velde S, Lettinga G & Field JA (2000b) Quinones as terminal electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of phenolic

- compounds. *Biodegradation* 11:313–321.
- Del Angel Y (2016) Biotransformación reductiva de colorantes azo utilizando un consorcio anaerobio enriquecido y mediadores redox inmovilizados en carbón activado. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. pp. 1-70.
- Dharshini MRP & Sumathy VJH (2018) Biodegradation of textile azo dyes using fungi. *Int. J. Med. Pharm. Res.* 2(3) 611-621.
- Dos Santos AB, Bisschops IAE, Cervantes FJ & Van Lier JB (2004) Effect of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic 30 and thermophilic 55 treatments for decolourisation of textile wastewaters. *Chemosphere* 55:1149–1157.
- Dos Santos AB, De Madrid MP, Stams AJM, Van Lier JB & Cervantes FJ (2005) Azo dye reduction by mesophilic and thermophilic anaerobic consortia. *Biotechnol. Prog.* 21: 1140–1145.
- Field JA & Brady J (2003) Riboflavin as a redox mediator accelerating the reduction of the azo dye Mordant Yellow 10 by anaerobic granular sludge. *Water Sci. Technol.* 48: 187–193.
- García-Segura S & Brillas E (2016) Combustion of textile monoazo, diazo and triazo dyes by solar photoelectro-fenton: decolorization, kinetics and degradation routes. *Appl. Catal. B Environ.* 181: 681–691.
- García S, Centellas F, Arias C, Garrido JA, Rodríguez RM, Cabot PL & Brillas E (2011) Comparative decolorization of monoazo, diazo and triazo dyes by electro-fenton process. *Electrochim. Acta* 58: 303–311.
- García Espinosa A (2008) Inmovilización de mediadores redox en matrices poliméricas y su aplicación en la biotransformación reductiva de un colorante azo. Tesis de Maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. San Luis Potosí, S.L.P. pp. 0-101
- Gonzalez LV & Escamilla EM (2006) Estudio de la degradación de un colorante azo rojo reactivo en un biorreactor anaerobio de flujo ascendente En: Retos de la investigación del agua en México, pp. 413-428. Edition: Primera, UNAM, Editors: Úrsula Oswald Spring.
- León GJ, Razo E & Cervantes FJ (2010) Propiedades catalíticas del humus y su potencial aplicación en la degradación de contaminantes prioritarios. *Rev. Latin. Rec. Nat.* 3:118-128.
- Li L, Zhou J, Wang J, Yang F, Jin C & Zhang G (2009) Anaerobic biotransformation of azo dye using polypyrrole/anthraquinone disulphonate modified active carbon felt as a novel immobilized redox mediator. *Sep. Purif. Technol.* 66: 375–382.
- Liu G, Zhou J, Wang J, Zhou M, Lu H & Jin R

- (2009) Acceleration of azo dye decolorization by using quinone reductase activity of azoreductase and quinone redox mediator. *Bioresour. Technol.* 100: 2791–2795.
- López C, Moreira Vilar MT, Feijoo Costa G & Lema JM (2007) Tecnologías para el tratamiento de efluentes de industrias textiles. *Afinidad* 64: 561–573.
- Guzman DM, Moroyoqui PG & Carrillo FJ (2002) Impacto de un mediador redox en la reducción de colorantes tipo azo de baja tasa de decoloración en un reactor tipo UASB. Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. OVII-3.
- Lovley DR, Coates JD, Blunt-Harris EL, Phillips EJP & Woodward JC (1996a) Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature* 382: 445–448.
- Lovley DR, Woodward JC & Chapelle FH (1996b) Rapid anaerobic benzene oxidation with a variety of chelated Fe(III) Forms. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 288–91.
- Martinez CM, Alvarez LH, Celis LB & Cervantes FJ (2013) Humus-reducing microorganisms and their valuable contribution in environmental processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 10293–10308.
- Martínez CM, Celis LB & Cervantes FJ (2013) 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, Kolodkin A, Castro UI, Bengoa C, Stuber F, Font J, Fabregat A & Fortuny 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.
- Olivo DS, Garcia RB, Alvarez LH & Garza MT (2015) Inmovilización de mediadores redox para la biotransformación anaerobia de un colorante azo. Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Guadalajara, Jalisco.
- Páez MS, Villegas EE & Alvis A (2009) Treatment of direct red 23 azo dye by anaerobic/aerobic sequencing batch reactors. *Inf. Technol.* 20: 83–90.
- Rau J, Knackmuss HJ & Stolz A (2002) Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 36: 1497–504.
- Rios Del Toro EE (2012) Modificación química de fibras de carbón activado y su aplicación en procesos de óxido-reducción. Tesis de Maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. San Luis Potosí, S.L.P. pp.113
- Martins LR, Lobo BE, Alves LV, de Aquino SF & Gil LF (2014) Application of cellulose-immobilized riboflavin as a redox mediator for anaerobic degradation of a model azo dye Remazol Golden Yellow RNL. *Ind Crop Prod.* 65: 454-462.

- Ryan A, Wang C, Laurieri N, Westwood I & Sim E (2010) Reaction mechanism of azoreductases suggests convergent evolution with quinone oxidoreductases. *Protein Cell* 1:780–790.
- Dos Santos AB, Cervantes FJ & Van Lier JB (2007) Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters : perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresour. Technol.* 98: 2369–2385.
- Tan NCG, Prenafeta-Boldú FX, Opsteeg JL, Lettinga G & Field JA (1999) Biodegradation of azo dyes in cocultures of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51: 865–871.
- Van Der Zee FP, Bisschops IAE, 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, Bouwman RHM, Strik DPBTB, Lettinga G & Field JA (2001) Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors. *Biotechnol. Bioeng.* 75: 691–701.
- 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.
- Walker R, Gingell R & Murrells DF (1971) Mechanisms of azo reduction by streptococcus faecalis i. optimization of assay conditions. *Xenobiotica* 1: 221–229.
- Weelink SAB, van Doesburg W, Saia FT, Rijpstra WIC, Röling WFM, Smidt H & Stams AJM (2009) A strictly anaerobic betaproteobacterium *Georgfuchsia toluolica* gen. nov., sp. nov. degrades aromatic compounds with Fe(III), Mn(IV) or nitrate as an electron acceptor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 70: 575–85.
- Yaniris L & Obaya MC (2006) La digestión anaerobia y los reactores UASB, generalidades. *ICIDCA.* 1: 13–21.