

Propiedades catalíticas del humus y su potencial aplicación en la degradación de contaminantes prioritarios

Glendy J. León-García¹, Elías Razo-Flores² y Francisco J. Cervantes^{1,2*}

¹Departamento de Ciencias del Agua y del Medio Ambiente, Instituto Tecnológico de Sonora,
5 de Febrero 818 Sur, Cd. Obregón, Sonora, CP 85000, México.

²División de Ingeniería Ambiental y Manejo de Recursos Naturales, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica
(IPICYT), Camino a la Presa San José 2055, Col. Lomas 4^a. Sección, San Luis Potosí, CP 78216, México

Enviado 31 Julio 2006, Revisado 9 Mayo 2007, Aceptado 30 Mayo 2007

Potential application of catalytic properties of humus on the degradation of priority pollutants

Abstract

This review provides the state of the art of the catalytic roles of humic substances on the (bio)transformation of priority pollutants. Both biological and abiotic mechanisms are implicated during the conversion of different contaminants in which humic substances play a role. Quinone moieties are the main functional groups involved in the catalytic properties of humus. A large diversity of microorganisms can utilize humic substances as terminal electron acceptors during the anaerobic biodegradation of organic compounds, including recalcitrant pollutants, such as toluene and benzene, which can be mineralized in a few weeks by humus reducing microorganisms. Quinones and humus can also serve as electron shuttles (redox mediators) during the reductive transformation of electron-withdrawing pollutants (e.g. nitroaromatics, azo dyes, polyhalogenated pollutants and oxidized metalloids). The transfer of electrons mediated by humic substances enhances the reductive transformation of several pollutants increasing up to 500-fold the rates of conversion. Reduced quinones and humus can also support the microbial reduction of different electron acceptors (e.g. nitrate, fumarate, arsenate, selenate and perchlorate) by acting as electron donors. The catalytic properties of humus could be applied for the bioremediation of contaminated aquifers and for the anaerobic treatment of industrial wastewaters containing distinct priority pollutants.

Keywords: humus, redox mediators, priority pollutants, bioremediation, wastewaters.

Resumen

El presente trabajo describe las funciones catalíticas de las sustancias húmicas en la (bio)transformación de contaminantes prioritarios. Durante la conversión de diversos contaminantes en los que las sustancias húmicas juegan un papel importante, están implicados tanto mecanismos biológicos como químicos. Se sabe que las quinonas, grupos funcionales muy abundantes en los ácidos húmicos, son las principales estructuras involucradas en las propiedades catalíticas del humus. Una amplia gama de microorganismos distintos pueden utilizar las sustancias húmicas como aceptor final de electrones en su cadena respiratoria, durante la biodegradación anaerobia de una gran variedad de compuestos orgánicos. Contaminantes recalcitrantes, como el tolueno y el benceno, también pueden ser mineralizados por microorganismos reductores del humus en unas cuantas semanas. Las quinonas y el humus también pueden actuar como transportadores de electrones (medidores redox) durante la transformación reductiva de contaminantes electrofilicos (nitroaromáticos, colorantes azo, solventes polihalogenados y metaloides oxidados). La transferencia de electrones a través de sustancias húmicas incrementa la velocidad de estas conversiones reductivas hasta 500 veces. Las sustancias húmicas reducidas también pueden actuar como donadores de electrones para microorganismos que reducen otros aceptores de electrones con un potencial redox más alto, como nitrato, fumarato, arseniato, seleniato y perclorato. Las propiedades catalíticas del humus tienen un gran potencial para ser aplicadas en la restauración de acuíferos contaminados y en el tratamiento de aguas residuales conteniendo diversos contaminantes prioritarios.

Palabras clave: humus, mediadores redox, contaminantes prioritarios, biorremediación, aguas residuales.

* Autor para correspondencia

E-mail: fjcervantes@ipicyt.edu.mx; Tel. (52-444) 834-2041 Fax: (52-444) 834-2010

Tabla 1. Diversidad de microorganismos reductores de humus o quinonas reportados en la literatura.

Familia	Microorganismo	Aceptor de electrones*	Crecimiento*	
<u>Archaea:</u>				
Methanococcales	<i>Methanococcus thermolithotrophicus</i>	AQDS	ND	
	<i>Methanococcus voltaei</i>	AQDS	-	
Methanobacteriales	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	AQDS	ND	
	<i>Methanobacterium palustre</i>	AQDS & AH	-	
Methanosarcinales	<i>Methanosarcina barkeri</i>	AQDS & AH	-	
	<i>Methanobolus vulcani</i>	AQDS	-	
	<i>Methanosphaera cuniculi</i>	AQDS & AH	-	
Methanomicrobiales	<i>Methanospirillum hungatei</i>	AQDS	-	
Methanopyrales	<i>Methanopyrus kandleri</i>	AQDS	ND	
Thermoproteales	<i>Pyrobaculum islandicum</i>	AQDS & AH	ND	
	<i>Pyrodictium abyssi</i>	AQDS	ND	
	<i>Thermococcus celer</i>	AQDS	ND	
Thermococcales	<i>Pyrococcus furiosus</i>	AQDS	ND	
Archaeoglobales	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	AQDS	ND	
<u>Bacteria:</u>				
γ-Proteobacteria	<i>Pantoea agglomerans</i>	AQDS	+	
	<i>Shewanella alga</i>	AQDS & AH	+	
	<i>Shewanella putrefaciens</i>	AQDS	ND	
	<i>Shewanella sacchrophila</i>	AQDS	ND	
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	AQDS	ND	
	<i>Geospirillum barnseii</i>	AQDS	ND	
	<i>Wolinella succinogenes</i>	AQDS & AH	ND	
	<i>Escherichia coli</i> K12	AQS & L	ND	
	α-Proteobacteria	<i>Sphingomonas xenophaga</i> BN6	AQS	ND
	β-Proteobacteria	<i>Ralstonia eutropha</i> 335	AQS	ND
δ-Proteobacteria	<i>Geobacter metallireducens</i>	AQDS & AH	+	
	<i>Geobacter sulfurreducens</i>	AQDS & AH	ND	
	<i>Geobacter humireducens</i>	AQDS & AH	ND	
	<i>Geobacter</i> JW-3	AQDS & AH	+	
	<i>Geobacter</i> TC-4	AQDS & AH	+	
	<i>Geobacter grbiciae</i>	AQDS	ND	
	<i>Desulfovibrio</i> G11	AQDS	-	
	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	DMBQ, NQ,	ND	
	<i>Desulfuromonas acetexigens</i>	AQDS	ND	
	<i>Desulfuromonas</i> SDB-1	AQDS	+	
	<i>Desulfuromonas</i> FD-1	AQDS	+	
	Deinococci	<i>Deinococcus radiodurans</i>	AQDS	-
	Thermotogales	<i>Thermotoga maritima</i>	AQDS	ND
	Gram positivas	<i>Thermoanaerobacter siderophilus</i>	AQDS	+
<i>Bacillus subtilis</i>		AQS, AQDS & L	ND	
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>		AH	-	
<i>Enterococcus cecorum</i>		AH	-	
<i>Lactococcus lactis</i>		AH	-	
<i>Lactococcus lactis</i>		ACNQ	ND	
<i>Lactobacillus plantarum</i>		ACNQ	ND	
<i>Desulfotobacterium dehalogenans</i>		AQDS & AH	+	
<i>Desulfotobacterium</i> PCE1		AQDS	+	

*AQDS, 2,6-disulfonato de antraquinona; AQS, 2-sulfonato de antraquinona; ACNQ, 2-amino-3-carboxi-1,4-naftoquinona; NQ, 1,4-naftoquinona; DMBQ, 2,6-dimetil-1,4-benzoquinona; L, lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona); AH, ácidos húmicos; ND, no determinado.

Introducción

El humus es la materia orgánica transformada y estabilizada que se acumula en el suelo y en los sedimentos acuáticos y que constituye la fracción orgánica más abundante de la biosfera. La estructura del humus está formada por diferentes macromoléculas complejas que son muy resistentes a la biodegradación. Por esta razón, el humus es considerado como un material recalcitrante, lo cual se ve reflejado en la vida media de sus componentes que puede llegar a ser mayor a 500 años (Stevenson, 1994). A pesar de su sobresaliente estabilidad en el ambiente, muchos estudios recientes han indicado que el humus puede jugar un papel importante en la transformación de compuestos orgánicos e inorgánicos en ambientes anaerobios, como el suelo y los sedimentos de acuíferos. Los estudios iniciales revelaron que las quinonas, estructuras muy abundantes en el humus, son las responsables de las propiedades catalíticas del humus que pueden facilitar múltiples reacciones (Field et al., 2000; Scott et al., 1998). Los ácidos húmicos constituyen la fracción del humus que contiene una mayor concentración de quinonas (Stevenson, 1994). Por esta razón, los ácidos húmicos han mostrado un mayor impacto catalítico, comparado con las otras fracciones del humus (humina y ácidos fúlvicos), en la conversión de diferentes contaminantes (Field et al., 2000). A continuación se explican las diferentes funciones que puede cumplir el humus en la (bio)transformación de diferentes compuestos orgánicos e inorgánicos.

El humus como aceptor final de electrones en la respiración microbiana

La primera indicación de que el humus podría jugar un papel importante en el transporte de electrones durante la respiración anaerobia de microorganismos fue reportado por Lovley et al. (1996a). En este estudio se probó la capacidad de diferentes bacterias, como *Geobacter metallireducens*, para oxidar diferentes sustratos empleando ácidos húmicos o el compuesto modelo antraquinona 2,6-disulfonato (AQDS) como únicos aceptores de electrones. Se encontró que la

conversión de acetato y otros compuestos a CO₂ estaba acoplada a la reducción de las quinonas en el humus o de AQDS a sus correspondientes hidroquinonas (forma reducida de las quinonas). A partir de entonces, se ha reportado una gran variedad de microorganismos reductores del humus (MRH) que son capaces de oxidar diferentes sustratos simples acoplado a este proceso respiratorio. La mayoría de los MRH son bacterias reductoras de Fe(III) de la familia *Geobacteraceae* (Coates et al., 1998; Lovley et al., 1996a), pero la gran diversidad incluye también otros tipos de bacterias reductoras del Fe(III) como *Pantoea agglomerans* (Francis et al., 2000) y *Thermoanaerobacter siderophilus* (Slobodkin et al., 1999). Además, existen microorganismos sulfato-reductores, halorespiradores, fermentativos y metanogénicos, que también pueden acoplar la reducción de sustancias húmicas a la oxidación anaerobia de diferentes sustratos (Benz et al., 1998; Cervantes et al., 2002). La extensa variedad de microorganismos que son capaces de usar el humus como aceptor final de electrones coincide con la diversidad de ambientes en los que se ha reportado la capacidad de reducir el humus. En efecto, se ha reportado que muchos inóculos originados de plantas de tratamiento de aguas residuales, sedimentos marinos, sedimentos contaminados o ricos en materia orgánica y suelos con diferentes características oxidan una gran variedad de sustratos acoplado a la reducción de sustancias húmicas (Cervantes et al., 2000a; Coates et al., 1998). Entre los sustratos oxidados están acetato, lactato, etanol, glucosa, hidrógeno, propionato y piruvato, entre otros. La Tabla 1 resume la gran diversidad de microorganismos que son capaces de utilizar sustancias húmicas como aceptor final de electrones en su cadena respiratoria.

Reactividad de las hidroquinonas con metales y sus implicaciones

Las hidroquinonas, formadas durante la reducción microbiana del humus, son muy reactivas con diferentes óxidos metálicos, que son muy abundantes en diferentes sedimentos y suelos, como la magnetita (Fe₃O₄, Lovley et al., 1996a) o la vernadita (MnO₂, Stone y Morgan, 1984),

permitiendo con ello su regeneración al estado oxidado. De hecho, aún se desconoce cuál es el principal mecanismo de reducción de óxidos de Mn(IV) y Fe(III) en sedimentos acuáticos; por un lado, podría ser que la forma principal de reducción de estos metales es por acción directa de los microorganismos; por otro lado, es posible que la principal forma de reducción de estos minerales sea mediante la participación de MRH a través del mecanismo mostrado en la Figura 1. Lo anterior, es corroborado por experimentos de campo en los que se han adicionado ácidos húmicos a acuíferos contaminados, lo cual ha acelerado considerablemente la reducción de óxidos de Fe(III) logrando velocidades de reducción entre 1 y 3 mM Fe h⁻¹ (Lovley et al., 1998; Anderson y Lovley, 1999; Kevin y Lovley, 2000). La regeneración de las hidroquinonas en el humus a su estado oxidado permite que una vez más se encuentren disponibles para ser reducidas por los MRH durante la oxidación anaerobia de diferentes contaminantes (Figura 1).

Este mecanismo de reciclaje en el humus implica que, para lograr la oxidación de compuestos orgánicos en sedimentos o suelos ricos en óxidos metálicos, no necesariamente se requerirá la participación de una gran cantidad de humus. De hecho, existen microorganismos que no son capaces de reducir óxidos férricos directamente, pero mediante la participación de quinonas como acarreadores de electrones, logran acoplar este proceso a la oxidación de diferentes sustratos (Benz et al., 1998; Cervantes et al., 2002) con velocidades de reducción de hasta ~1.5 mM Fe h⁻¹ (Cervantes et al., 2002). Las propiedades catalíticas de las quinonas han permitido también que diferentes microorganismos, que son incapaces de reducir colorantes azo directamente, logren su decoloración cuando algún mediador redox es incluido en el proceso (dos Santos et al. 2006).

Las propiedades redox que le confieren las quinonas a las sustancias húmicas no son la única forma en que éstas impactan en el destino de diferentes metales en ambientes acuáticos. Adicionalmente, las sustancias húmicas tienen propiedades quelantes (Lovley et al., 1996b) que permiten ligar diferentes metales, como óxidos de Fe(III), permitiendo que éstos sean más accesibles

para microorganismos reductores. Lo anterior se puso de manifiesto cuando se adicionaron ácidos húmicos a acuíferos contaminados con benceno, conteniendo altos niveles de óxidos férricos, lo cual propició una rápida reducción de óxidos férricos acoplada a la biodegradación de benceno por microorganismos reductores de Fe(III). Lovley et al. (1996b) atribuyeron posteriormente esta aceleración del proceso microbiano tanto a las propiedades quelantes del humus, como a sus propiedades redox (Figura 1).

Oxidación anaerobia de compuestos recalcitrantes acoplada a la reducción del humus

Después de que fue descubierta la reducción del humus como un proceso respiratorio microbiano, surgieron múltiples reportes que indicaron que no solamente se podrían oxidar compuestos simples a través de este proceso fisiológico, sino también diferentes compuestos recalcitrantes. El primer estudio que reportó la participación del humus como aceptor final de electrones en la oxidación anaerobia de contaminantes de difícil degradación, fue el descrito por Bradley et al. (1998). En este trabajo se encontró que un sedimento rico en materia orgánica fue capaz de convertir los solventes clorados [1,2-¹⁴C]cloruro de vinilo y [1,2-¹⁴C]dicloroetano a ¹⁴CO₂ cuando se agregaron ácidos húmicos como aceptores finales de electrones. Después de 50 días de incubación, se logró la mineralización del 85% del [1,2-¹⁴C]cloruro de vinilo y el 25% del [1,2-¹⁴C]dicloroetano adicionado. Mientras tanto, la conversión ocurrida en la ausencia de sustancias húmicas fue despreciable. El papel de las quinonas como aceptores de electrones fue verificado al incubar el mismo sedimento con [1,2-¹⁴C]cloruro de vinilo como única fuente de energía y AQDS como aceptor de electrones. En estas incubaciones se observó el acoplamiento entre la conversión del solvente a ¹⁴CO₂ y la reducción de AQDS a AH₂QDS (forma reducida de AQDS). Posteriormente, se reportó que también compuestos aromáticos pueden ser oxidados biológicamente mediante el empleo de quinonas como aceptores de electrones. En primera instancia, se observó que los

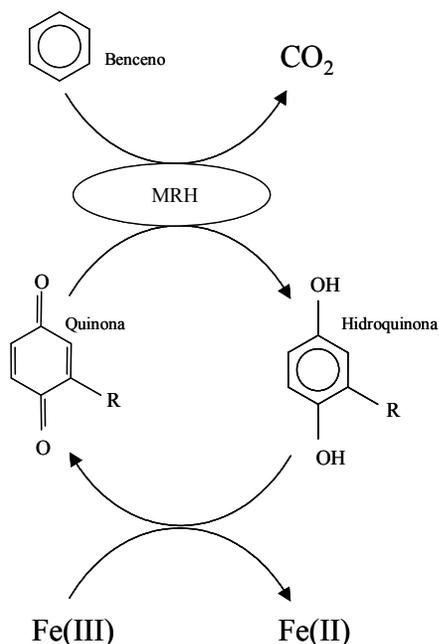


Figura 1. Posible mecanismo de reciclaje de quinonas, involucradas como aceptores de electrones durante la oxidación anaerobia del benceno por microorganismos reductores del humus (MRH), por medio de la reacción con metales oxidados como el hierro férrico.

inóculos obtenidos de diferentes plantas de tratamiento de aguas residuales industriales fueron capaces de degradar benzoato, fenol y *p*-cresol ligado a la reducción de AQDS. Todos estos compuestos fueron convertidos a metano, por los mismos inóculos, cuando se incubaron en la ausencia de AQDS. Sin embargo, la adición de AQDS comoceptor final de electrones permitió que la biodegradación de estos contaminantes estuviera acoplado a la reducción de quinonas y no a la metanogénesis (Cervantes et al., 2000b). Posteriormente se descubrió que los inóculos obtenidos de diferentes sedimentos acuáticos fueron capaces de mineralizar [¹³C]tolueno cuando se proporcionó humus o AQDS comoceptor final de electrones en las incubaciones. En los controles en los que no se adicionaron sustancias húmicas no hubo conversión de [¹³C]tolueno, mientras que el 50 y el 85 % del [¹³C]tolueno adicionado en los

cultivos con ácidos húmicos y AQDS, respectivamente, fue convertido a ¹³CO₂ (Cervantes et al., 2001a). El proceso de mineralización de [¹³C]tolueno estuvo acoplado a la reducción estequiométrica del humus y AQDS.

Estos estudios han sido las primeras demostraciones de que el humus no solamente puede participar comoceptor final de electrones para la conversión de sustratos simples, sino también, para estimular la degradación de contaminantes prioritarios. Esto podría tener importantes repercusiones en la biorremediación de sitios contaminados si se considera la gran abundancia del humus en lugares como pantanos, lagos, humedales, sedimentos ricos en materia orgánica, composta, etc. Además, el humus podría tener el mismo impacto catalítico en sitios en los que no es muy abundante, ya que su alta reactividad con óxidos de Fe(III) y Mn(IV), los

cuales son muy abundantes en el suelo y sedimentos acuáticos, le permite ser reciclado y actuar en múltiples ocasiones como aceptor de electrones.

Aplicación del humus en la biorremediación de sitios contaminados

La amplia gama de compuestos, incluyendo contaminantes prioritarios, que pueden ser degradados por los MRH sugiere que el humus puede jugar un papel importante en la biorremediación de sitios contaminados. Existen resultados alentadores que indican que la adición de humus o AQDS a diferentes sedimentos contaminados con petróleo estimuló la biodegradación de benceno y naftaleno en estos sitios (Anderson y Lovley, 1999; Lovley et al., 1996b). Lo anterior, permitió que el benceno, a concentraciones entre 6 y 10 μM , fuera mineralizado rápidamente (1-2 semanas) cuando se adicionaron ácidos húmicos a acuíferos contaminados (Anderson y Lovley, 1999; Lovley et al., 1996b). También se cree que la adición de AQDS a un sedimento contaminado permitió la biodegradación de metil *tert*-butil éter (MTBE), el cual es un aditivo de la gasolina muy recalcitrante tanto bajo condiciones anaerobias (Finneran y Lovley, 2001) como aerobias (Fiorenza y Rifai, 2003). Sin embargo, las evidencias mostradas por Finneran y Lovley (2001) no demuestran claramente los mecanismos mediante los cuales los ácidos húmicos adicionados en el acuífero permitió la degradación de 50 mg MTBE L^{-1} en 120 días de incubación. En todos estos casos, los sedimentos han presentado una alta concentración de Fe(III) en diferentes formas, lo cual ha permitido reciclar las quinonas del humus durante el proceso de degradación. Otro sedimento que fue incapaz de degradar tolueno, cuando se adicionó óxido férrico como aceptor de electrones, pudo llevar a cabo la conversión total de tolueno (1 mM) cuando se le adicionó una concentración muy baja de ácidos húmicos (Cervantes et al., 2001a). Efectivamente se encontró que la degradación del tolueno estuvo acoplada a la reducción de Fe(III) en estas incubaciones a través del mecanismo descrito en la Figura 1, lo cual fue corroborado por la

recuperación del 65% del óxido férrico en forma de Fe(II) después de 11 semanas de experimentación. Considerando estos antecedentes, es importante tomar en cuenta la aplicación del humus a sitios contaminados para estimular su biorremediación. Esta idea resulta atractiva puesto que presenta muchas ventajas respecto a otras técnicas de biorremediación. En primer lugar, el humus es muy abundante y su obtención no representa una inversión mayor, como la que se requiere para inyectar oxígeno a acuíferos contaminados mediante técnicas aerobias. En segundo término, se debe tomar en cuenta las propiedades inertes del humus lo que significa que su aplicación a sitios contaminados no conlleva la acumulación de intermediarios o productos indeseables. Esto es ventajoso si se compara con otras tecnologías en las que se necesita inyectar nitrato o sulfato, los cuales pueden ocasionar problemas de eutrofización, cuando se aplican para la degradación de contaminantes (Anderson y Lovley, 2000; Hutchins et al., 1991). Otra ventaja importante es la mayor solubilidad que presentan los ácidos húmicos, fracción que contiene una mayor cantidad de quinonas en el humus (Stevenson, 1994), en el agua respecto a otros aceptores de electrones alternos (O_2 , Fe(III) y Mn(IV)), lo cual garantiza un buen transporte y disponibilidad para los microorganismos involucrados. Adicionalmente, se deben considerar las propiedades del humus para sorber metales pesados y compuestos orgánicos (Stevenson, 1994). Lo anterior, permite atenuar los efectos tóxicos de los contaminantes sobre los consorcios responsables de su degradación. Por lo tanto, la aplicación del humus para estimular la biorremediación de sitios contaminados debe ser considerada como una alternativa potencial.

El humus en el transporte de electrones para la biodegradación reductiva de contaminantes

Las quinonas en el humus no solamente pueden actuar como aceptores de electrones en la oxidación microbiana de muchos compuestos orgánicos. Las sustancias húmicas también pueden estimular la (bio)transformación de contaminantes conteniendo grupos electrofilicos, como los grupos azo y nitro, así como compuestos policlorados y

metales radiactivos, a través del transporte de electrones entre una fuente externa de electrones y estos contaminantes (Figura 2). Los mecanismos catalíticos del humus y las quinonas involucran procesos abióticos y biológicos en los que las sustancias húmicas aceleran las transformaciones reductivas en uno a varios órdenes de magnitud (Field et al., 2000).

Existen algunos ejemplos que ilustran el papel que juega el humus en la conversión reductiva de contaminantes policlorados. Por ejemplo, la reducción química de hexacloroetano (HCA) a tetracloroetileno, también conocido como percloroetileno (PCE), por medio de diferentes agentes reductores (sulfuro, Fe^{2+} y azufre elemental) fue acelerada hasta 10 veces por la adición de diferentes quinonas en los medios de reacción (Curtis & Reinhard, 1994). La reducción química de octaclorodibenzo-*p*-dioxinas (octa-CDDs) a sus respectivas tetra-CDDs solamente pudo ser llevada a cabo cuando diferentes análogos del humus fueron incluidos en los sistemas de reacción, mientras que no hubo conversión en la ausencia de las sustancias húmicas (Barkovskii y Adriaens, 1998). El humus también ha acelerado procesos biológicos para la degradación de contaminantes policlorados. La conversión de tetracloruro de carbono a clorofórmico ocurrió a una velocidad mayor cuando se adicionó materia orgánica del suelo a cultivos de la bacteria *Shewanella putrefaciens*. Se encontró en estos estudios que la fracción de ácidos húmicos en la materia orgánica fue la que contribuyó en mayor

medida en la aceleración del proceso lográndose una degradación de 270-442 μg de tetracloruro por g de ácidos húmicos (Collins y Picardal, 1999). La adición de AQDS, a niveles por debajo del estequiométrico, a incubaciones de un lado granular aumentó hasta 6 veces la velocidad de conversión de tetracloruro de carbono (100 μM en una semana de incubación) y además, permitió una mayor producción de cloruro (entre 40-50%) a partir de este contaminante (Cervantes et al., 2004). Lo anterior indica que las quinonas contribuyen a aumentar no solamente la velocidad de conversión de compuestos clorados, sino también, el grado de mineralización. A partir de este lodo granular se obtuvo un enriquecimiento bacteriano capaz de acoplar la reducción de ácidos húmicos a la conversión de tetracloruro de carbono usando diferentes sustratos como fuente de electrones (Cervantes et al., 2004).

Otro tipo de contaminantes que pueden ser convertidos aceleradamente por medio del humus o compuestos análogos (quinonas) son los colorantes tipo azo. Debido a que el enlace $-N=N-$ es muy electrofílico se requiere de condiciones reductivas para poder convertir este tipo de colorantes a sus correspondientes aminas aromáticas (Donlon et al. 1996). La reducción del enlace azo ocurre muy lentamente en muchos tipos de colorantes azo por lo que se requiere de la aplicación de sustancias húmicas, como acarreadores de electrones, para acelerar el proceso decolorante. La reducción de varios colorantes azo a sus aminas aromáticas fue acelerada por medio de la adición de diferentes

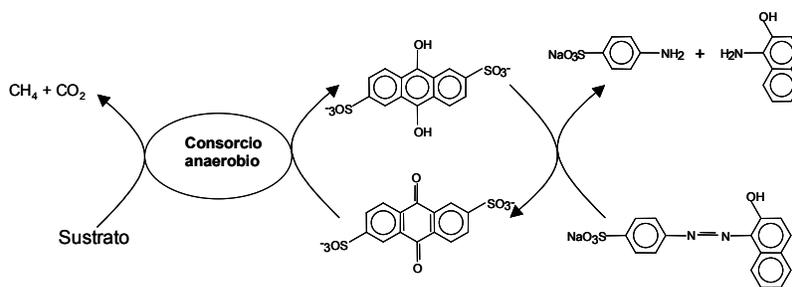


Figura 2. Mecanismo hipotético en el que el compuesto modelo del humus antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS) actúa como mediador redox, durante la reducción del colorante Naranja Ácido 7. La AQDS es reducida por el consorcio anaerobio durante la biodegradación de un sustrato y la AQDS, una vez reducida a su correspondiente hidroquinona (AH₂QDS), canaliza los electrones al enlace electrofílico del colorante azo, logrando su conversión a aminas aromáticas.

quinonas a cultivos bacterianos de *Sphingomonas sp.* BN6, usando glucosa como fuente de electrones (Kudlich et al., 1997). El mecanismo de acción se describe en la Figura 2. A partir de este descubrimiento, se ha probado la eficiencia de diferentes quinonas en la decoloración de diferentes colorantes azo en reactores de tratamiento de aguas residuales (Cervantes et al., 2001c; Laszlo, 2000; van der Zee et al., 2001). Los estudios muestran que es posible lograr un proceso decolorante eficiente aún cuando se opera a tiempos de residencia hidráulicos de 2 horas, lo cual tiene importantes implicaciones en el tratamiento de aguas residuales de la industria textil. Se ha observado que la adición de quinonas a reactores de tratamiento de aguas ha permitido atenuar o eliminar la toxicidad de colorantes muy recalcitrantes sobre consorcios anaerobios (van der Zee et al. 2001). También se ha observado que quinonas con diferentes estructura y potencial redox, muestran un impacto distinto en la reducción de colorantes azo, dependiendo también del tipo de colorante involucrado (Encinas-Yocupicio et al. 2006). La aplicación de condiciones termofílicas, en conjunto con el papel catalítico de las quinonas, a reactores anaerobios de tratamiento aguas, ha permitido desarrollar procesos estables y muy

eficientes durante el tratamiento de efluentes de la industria textil (dos Santos et al. 2005).

Los compuestos nitroaromáticos que contienen uno o más grupos –nitro son otro grupo de contaminantes que requieren de condiciones reductoras para poder ser convertidos a sus correspondientes aminoaromáticos (Razo-Flores et al. 1999). Como en los casos anteriores, la aplicación de diferentes sustancias húmicas a sistemas de conversión ha permitido aumentar hasta 500 veces la velocidad de reducción del grupo –nitro al correspondiente grupo –amino (Dunnivant et al., 1990; Schwarzenbach et al., 1990). Para este tipo de conversiones, la mayoría de los estudios se han enfocado a evaluar los mecanismos químicos implicados en la reducción de compuestos nitroaromáticos utilizando sulfuro como agente reductor y diferentes quinonas o sustancias húmicas como mediadores redox. Sin embargo, no existen estudios que describan la contribución de procesos biológicos en la reducción de este tipo de contaminantes.

La reducción de metales radiactivos, como U(VI) y Tc(VII), es otro proceso en el que se ha mostrado el papel catalítico del humus. El microorganismo *Deinococcus radiodurans* R1 pudo reducir ambos radionucleótidos a sus formas insolubles, usando

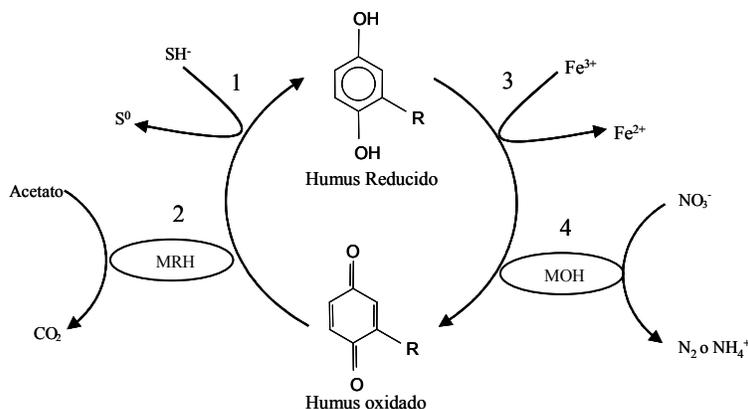


Figura 3. Posibles mecanismos en los que participan las sustancias húmicas durante la conversión de contaminantes orgánicos e inorgánicos. 1) Reducción química del humus por un agente reductor (sulfuro); 2) reducción microbiana del humus por microorganismos reductores del humus (MRH) utilizando acetato como donador de electrones; 3) reducción de metales oxidados (Fe+3) por medio de humus reducido; 4) reducción de nitrato por microorganismos oxidantes del humus (MOH).

lactato como donador de electrones cuando se incubó con AQDS. Por el contrario, en la ausencia de quinonas no hubo reducción de los metales radiactivos (Fredrickson et al., 2000). Este tipo de conversiones tienen importantes implicaciones en la dispersión de estos compuestos radiactivos. En efecto, al reducir los radionucleótidos, se convierten a sus formas insolubles, impidiendo de esta manera la dispersión de los contaminantes en acuíferos.

En todos estos casos en los que se ha demostrado el papel catalítico del humus, no fue necesario adicionar las sustancias húmicas en abundancia ya que, durante el transporte de electrones, las quinonas pueden ser recicladas infinitas veces (Figura 2).

Sustancias húmicas reducidas como donadores de electrones

Las propiedades catalíticas de las quinonas no solamente se limitan a su utilización como aceptores finales de electrones en la cadena respiratoria y a su intervención en procesos reductivos como mediadores redox. Adicionalmente, las hidroquinonas (forma reducida de las quinonas) pueden actuar como donadores de electrones en la reducción microbiana de diferentes aceptores de electrones con un potencial redox más positivo. Los aceptores de electrones que han sido reducidos por microorganismos que fueron capaces de utilizar hidroquinonas como donadores de electrones en el proceso respiratorio incluyen al nitrato, fumarato, perclorato y a los metaloides tóxicos arseniato y seleniato (Bruce et al. 1999; Lovley et al. 1999). En el caso del nitrato, se ha reportado que puede ser reducido tanto a nitrógeno molecular (vía desnitrificación), como a amonio (vía reducción desasimilativa de nitrato a amonio). Además, se ha reportado recientemente que una gran variedad de microorganismos, obtenidos de diferentes sedimentos acuáticos, pueden llevar a cabo la desnitrificación utilizando sustancias húmicas reducidas (Coates et al. 2002).

Tendencias y perspectivas

La información mostrada anteriormente muestra que el humus puede jugar un papel importante en la transformación de múltiples contaminantes orgánicos e inorgánicos actuando como aceptor o acarreador de

electrones en procesos químicos y biológicos. La Figura 3 resume las principales reacciones en las que las quinonas están involucradas durante la conversión de diferentes contaminantes.

Los últimos estudios se han enfocado a elucidar los diferentes mecanismos que utilizan los MRH para reducir las sustancias húmicas. Algunos reportes indican que hay microorganismos, como especies del género *Shewanella*, que excretan de la célula sus propios acarreadores de electrones que les permite reducir el humus (Newman y Kolter, 2000). Otros microorganismos, como *Geobacter metallireducens*, desarrollan estrategias alternas para reducir aceptores de electrones insolubles como el humus y óxidos férricos, a través de la formación de flagelos (Childers et al., 2002). Los últimos estudios también se han enfocado a elucidar la diversidad y distribuciones de los MRH (Cervantes et al., 2002). No todos los microorganismos probados han sido capaces de reducir quinonas por lo que es importante determinar la diversidad y distribución de los MRH en el ambiente. Debido a que esta rama de la microbiología es relativamente nueva, aún quedan sin responder muchas incertidumbres respecto al papel que puede jugar el humus en diferentes ecosistemas. Entre los principales aspectos que aún quedan por elucidar se encuentran:

- Los diferentes mecanismos que utilizan los MRH para lograr la reducción del humus.
- La variedad de contaminantes que pueden ser biodegradados por MRH a través del papel catalítico del humus.
- La colaboración sintrófica de los diferentes grupos de microorganismos, en diferentes ecosistemas, para lograr la conversión simultánea de diferentes contaminantes.
- Nuevos mecanismos químicos y biológicos involucrados en el reciclaje de las quinonas en el humus.

Estos y otros aspectos deberán ser abordados en futuras investigaciones con el fin de comprender mejor el impacto de las sustancias húmicas en la conversión de diferentes contaminantes. Un mejor entendimiento de los mecanismos involucrados permitirá una mayor certidumbre en la aplicación de

las sustancias húmicas para restaurar diferentes sitios contaminados o para el tratamiento de aguas residuales.

Bibliografía

- Anderson, R. T. y D. R. Lovley., 1999. Naphthalene and benzene degradation under Fe(III)-reducing conditions in petroleum-contaminated aquifers. *Bioremediation Journal*, 3: 121-135.
- Anderson, R. T. y D. R. Lovley., 2000. Anaerobic bioremediation of benzene under sulfate-reducing conditions in a petroleum-contaminated aquifer. *Environmental Science and Technology*, 34: 2261-2266.
- ANIG., 1998. Anuario estadístico de la industria química mexicana. Asociación Nacional de la Industria Química. 313 pp. México, D. F.
- Barkovskii, A. L. y P. Adriaens., 1998. Impact of humic constituents on microbial dechlorination of polychlorinated dioxins. *Environmental Toxicology Chemistry*, 17: 1013-1020.
- Benz, M., Schink, B. y Brune, A., 1998. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermentative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 4507-4512.
- Bradley, P. M., F. H. Chapelle y D. R. Lovley., 1998. Humic acids as electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of vinyl chloride and dichloroethene. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 3102-3105.
- Bruce, R. A., L. A. Achenbach, y J. D. Coates., 1999. Reduction of (per)chlorate by a novel organism isolated from paper mill waste. *Environmental Microbiology*, 1:319-329.
- Cervantes, F. J., Dijkstra, W., Duong-Dac, T., Ivanova, A., Lettinga, G. y Field, J. A., 2001a. Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus as terminal electron acceptors. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 4471-4478.
- Cervantes, F. J., van der Velde, S., Lettinga, G. y Field, J. A., 2000a. Competition between methanogenesis and quinone respiration for ecologically important substrates in anaerobic consortia. *FEMS Microbiology Ecology*, 34: 161-171.
- Cervantes, F. J., van der Velde, S., Lettinga, G. y Field, J. A., 2000b. Quinones as terminal electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of phenolic compounds. *Biodegradation*, 11: 313-321.
- Cervantes, F.J., De Bok F. A. M., Duong-Dac T., Stams, A. J. M., Lettinga G. y Field J. A., 2002. Reduction of humic substances by halo-respiring, sulphate-reducing and methanogenic microorganisms. *Environmental Microbiology*, 4: 51-57.
- Cervantes, F.J., van der Zee, F.P., Lettinga, G. y Field, J.A., 2001c. Enhanced decolorisation of acid orange 7 in a continuous UASB reactor with quinones as redox mediators. *Water Science and Technology*, 44: 123-128.
- Cervantes, F.J., Vu-Thi-Thuy, L., Lettinga, G. y Field, J.A., 2004. Quinone-respiration improves dechlorination of carbon tetrachloride by anaerobic sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64: 702-711.
- Childers, S. E., Ciuffo, S. y Lovley, D. R., 2002. *Geobacter metallireducens* accesses insoluble Fe(III) oxide by chemotaxis. *Nature*, 416: 767-769.
- Coates, J. D., Ellis, D. J., Roden, E., Gaw, K., Blunt-Harris, E. L. y Lovley, D. R., 1998. Recovery of humics-reducing bacteria from a diversity of sedimentary environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 1504-1509.
- Coates, J. D., K. A. Cole, R. Chakraborty, S. M. O'Connor, y L. A. Achenbach., 2002. Diversity and ubiquity of bacteria capable of utilizing humic substances as electron donors for anaerobic respiration. *Applied and Environmental Microbiology*, 68:2445-2452.
- Collins, R. y Picardal, F., 1999. Enhanced anaerobic transformation of carbon tetrachloride by soil organic matter. *Environmental Toxicology Chemistry*, 18: 2703-2710.
- Curtis, C. y Reinhard M., 1994. Reductive dehalogenation of hexachloroethane, carbon tetrachloride, and bromoform by anthrahydroquinone disulphonate and humic acid. *Environmental Science and Technology*, 28: 2393-2401.
- Donlon, B., Razo-Flores, E., Luijten, M., Swarts, H., Lettinga, G. y Field, J. (1997). Detoxification and partial mineralization of the azo dye mordant orange 1 in a continuous anaerobic sludge-blanket reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47: 83-90.
- Dunnivant, F., Schwarzenbach R. y Macalady D., 1992. Reduction of substituted nitrobenzenes in aqueous solutions containing natural organic matter. *Environmental Science and Technology*, 26: 2133-2142.
- Encinas-Yocupicio A.A., Razo-Flores E., Sánchez-Díaz F., dos Santos A.B., Field J.A. y Cervantes F.J., 2006. Catalytic effects of different redox mediators on the reductive decolorization of azo dyes. *Water Science and Technology*, 54(2): 165-170.
- Field, J. A., Cervantes, F. J., van der Zee, F. P. y Lettinga, G., 2000. Role of quinones in the biodegradation of priority pollutants: a review. *Water Science and Technology*, 42: 215-222.
- Finneran, K. T. y Lovley D. R., 2001. Anaerobic degradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) and tert-butyl alcohol (TBA). *Environmental Science and Technology*, 35: 1785-1790.
- Fiorenza, S. y Rifai, H., 2003. Review of MTBE biodegradation and bioremediation. *Bioremediation Journal*, 7: 1-35.
- Francis, C. A., Obraztsova, A. Y. y Tebo, B. M., 2000. Dissimilatory metal reduction by the facultative anaerobe *Pantoea agglomerans* SP1. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 543-548.
- Fredrickson, J. K., Kostandarithes, H. M., Li, S. W., Plymale, A. E. y Daly, M. J., 2000. Reduction of Fe(III), Cr(VI), U(VI), and Tc(VII) by *Deinococcus radiodurans* R1. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2006-2011.
- Hutchins, S. R., Sewell G. W., Kovacs D. A. y Smith G. A., 1991. Biodegradation of aromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms under denitrifying conditions. *Environmental Science and Technology*, 25: 68-76.
- Kudlich, M., Keck, A., Klein, J. y Stolz, A., 1997. Localization of the enzyme system involved in anaerobic reduction of

- azo dyes by *Sphingomonas* sp. Strain BN6 and effect of artificial redox mediators on the rate of azo dye reduction. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3691-3694.
- Laszlo, J. A., 2000. Regeneration of azo-dye-saturated cellulosic anion exchange resin by *Burkholderia cepacia*. *Environmental Science and Technology*, 34: 167-172.
- Lovley, D. R., Coates, J. D., Blunt-Harris, E. L., Phillips, E. J. P. y Woodward, J. C., 1996a. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 382: 445-448.
- Lovley, D. R., Fraga, J. L., Blunt-Harris, E. L., Hayes, L. A., Phillips, E. J. P., y Coates, J. D., 1998. Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reduction. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 26: 152-157.
- Lovley, D. R., Woodward J. C. y Chapelle F. H., 1996b. Rapid anaerobic benzene oxidation with a variety of chelated Fe(III) forms. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 288-291.
- Nevin, K.P. y Lovley, D.R., 2000. Potential for nonenzymatic reduction of Fe(III) via electron shuttling in subsurface sediments. *Environ. Sci. Technol.* 34: 2472-2478.
- Newman, D. K., y Kolter, R., 2000. A role for excreted quinones in extracellular electron transfer. *Nature*, 405: 94-97.
- Razo-Flores, E., Lettinga, G. y Field, J.A., 1999. Biotransformation and biodegradation of selected nitroaromatics under anaerobic conditions. *Biotechnology Progress*, 15: 358-365.
- Schwarzenbach, R., Stierli, R., Lanz, K. y Zeyer, J., 1990. Quinone and iron porphyrin mediated reduction of nitroaromatic compounds in homogeneous aqueous solution. *Environmental Science and Technology*, 24: 1566-1574.
- Scott, D. T., McKnight, D. M., Blunt-Harris, E. L., Kolesar, S. E. y Lovley, D. R., 1998. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms. *Environmental Science and Technology*, 32: 2984-2989.
- Slobodkin, A. I., Tourova, T. P., Kuznetsov, B. B., Kostrikin, N. A., Chernyh, N. A., y Bonch-Osmolovskaya, E. A., 1999. *Thermoanaerobacter siderophilus* sp. nov., a novel dissimilatory Fe(III)-reducing, anaerobic, thermophilic bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49: 1471-1478.
- Stevenson, F. J., 1994. *Humus chemistry: genesis, Composition, Reactions*, 2nd ed. Wiley, New York.
- Stone, A. T. y Morgan J. J., 1984. Reduction of manganese(III) and manganese(IV) oxides by organics. I. Reaction with hydroquinone. *Environmental Science and Technology*, 18: 450-456.
- van der Zee, F. P., Bouwman, R. H. M., Strik, D. P. B. T. B., Lettinga, G., y Field, J. A., 2001. Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 75: 691-701.
- Zachara, J.M., Fredrickson, J. K., Li, S. M., Kennedy, D. W., Smith, S. C. y Gassman, P. L., 1998. Bacterial reduction of crystalline Fe³⁺ oxides in single phase suspensions and subsurface materials. *American Mineralogist*, 83: 1426-1443.