

DOI: 10.24850/j-tyca-16-4-1

Artículos

Inmovilización de antraquinona-2-sulfonato en carbón activado granular para la biotransformación reductiva de contaminantes electrofílicos

Immobilization of anthraquinone-2-sulfonate on granular activated carbon for the reductive biotransformation of electrophilic contaminants

Yasser Aleman¹

Lea Lopez²

Denisse Serrano³, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7797-1038>

Edna R. Meza⁴, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4620-6541>

Luis H. Alvarez⁵, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1809-9304>

¹Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Cd. Obregón, México, yasser.aleman@hotmail.com

²Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITT), Departamento de Ingeniería Bioquímica, Tuxtla Gutiérrez, México, lopz_fly@outlook.com



³Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), Departamento de Ciencias del Agua y Medio Ambiente, Cd. Obregón, México, denisse.serrano@itson.edu.mx

⁴Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), Departamento de Ciencias del Agua y Medio Ambiente, Cd. Obregón, México, edna.meza@itson.edu.mx

⁵Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Cd. Obregón, México, luis.alvarez@itson.edu.mx

Autor para correspondencia: Luis H. Alvarez, luis.alvarez@itson.edu.mx

Resumen

En este estudio el carbón activado granular (CAG) fue utilizado como material de soporte para inmovilizar antraquinona-2-sulfonato (AQS) para ser aplicado como mediador redox (MR) en fase sólida durante la biotransformación reductiva del colorante naranja de metilo (NM) y Cr(VI), utilizando lodo anaerobio. La modificación del CAG se realizó mediante la reacción de Lucas, alcanzando una capacidad de adsorción de 0.447 mmol/g. El material modificado (CAG-Q) mejoró la tasa de reducción del NM y Cr(VI) en comparación al control con lodo anaerobio libre de CAG-Q. Los resultados cinéticos indican que la tasa de reducción del NM con el lodo + CAG-Q fue 4.6- y 2.2-veces más alta que las tasas observadas por los cultivos con lodo anaerobio y con lodo + CAG, respectivamente. Además, la eficiencia de reducción en el cultivo con

CAG-Q alcanzó 89.7%, con el lodo anaerobio en ausencia de MR fue 24.9%, evidenciando que la reducción indirecta catalizada con el MR en fase sólida fue el mecanismo utilizado. Para el Cr(VI), la tasa de reducción más alta fue en el cultivo con lodo + CAG, seguida del cultivo con lodo + CAG-Q, alcanzando incrementos de 4.4- y 1.3-veces comparado con el lodo anaerobio, respectivamente. Sin embargo, además de los procesos de reducción directa e indirecta, el proceso de adsorción también fue responsable de la eliminación de Cr(VI). Los resultados indican que el uso de materiales modificados con MR representan una estrategia promisoría para el tratamiento de contaminantes electrofílicos descargados en efluentes de diferentes sectores industriales.

Palabras clave: mediador redox, biotransformación reductiva, lodo anaerobio, contaminantes electrofílicos.

Abstract

In this study the granular activated carbon (GAC) was used as supporting material to immobilize anthraquinone-2-sulfonate (AQS) to be applied as solid-phase redox mediator (RM) during the reductive biotransformation of methyl orange (MO) and Cr(VI), using anaerobic sludge. The modification of GAC was conducted using the Lucas reaction, achieving an adsorption capacity of 0.447 mmol/g. The modified material (GAC-Q) improved the reduction rate of both MO and Cr(VI), compared to the control with anaerobic sludge lacking GAC-Q. The kinetics results indicate that the reduction rate of MO with sludge + GAC-Q were 4.6- and 2.2-fold higher than the reduction rates of anaerobic sludge and with sludge

+ GAC, respectively. In addition, the reduction efficiency in the culture with sludge + GAC-Q achieved 89.7%, and with the anaerobic sludge lacking RM was 24.9%, evidencing that the indirect reduction catalyzed with the solid-phase RM was the main mechanism. For the Cr(VI), the highest reduction rate was achieved in the culture with sludge + GAC, followed by the culture with sludge + GAC-Q, with increments of 4.4- and 1.3-fold compared to the anaerobic sludge, respectively. Nonetheless, the adsorption process was also responsible for the Cr(VI) removal in addition to the direct and indirect reduction processes. The results indicate that the use of modified materials con RM represents a promissory strategy for the treatment of electrophilic pollutants discharged in effluents of different industrial sectors.

Keywords: redox mediator, reductive biotransformation, anaerobic sludge, electrophilic contaminants.

Recibido: 22/03/2023

Aceptado: 06/05/2024

Publicado Online: 21/05/2024

Introducción

Aunado al beneficio económico de los diferentes sectores industriales, se genera una gran cantidad de contaminantes tóxicos y recalcitrantes que son descargados en las aguas residuales. Algunos contaminantes descargados por la industrias química, petroquímica y textil como colorantes azo, nitroaromáticos, polihalogenados y metaloides son susceptibles reducirse; es decir aceptan electrones debido a los grupos funcionales electrofílicos de su estructura (Van der Zee y Cervantes, 2009; Watanabe *et al.*, 2009). La naturaleza electrofílica de dichos compuestos limita su tratamiento por métodos aerobios convencionales, pero bajo condiciones anaerobias, los compuestos pueden sufrir una biotransformación reductiva, generando productos que pueden ser tratados aeróbicamente en una etapa siguiente (Field *et al.*, 1995). Sin embargo, aun cuando la biotransformación anaerobia es viable para este tipo de contaminantes, la velocidad del proceso puede ser baja debido a la toxicidad de los compuestos sobre los microorganismos anaerobios (Cervantes *et al.*, 2008) o bien por limitaciones de transferencia de electrones, que eventualmente ocasionan un desempeño ineficiente o el colapso de los biorreactores anaerobios (Rodgers y Bunce, 2001; Van der Zee *et al.*, 2001).

La adición de sustancias húmicas o sus análogos quinona han sido utilizados como mediadores redox (MR) durante la biotransformación reductiva de contaminantes recalcitrantes electrofílicos. El proceso de reducción microbiológica de un contaminante mediado con quinonas o sustancias húmicas presenta un proceso de óxido-reducción bajo los

siguientes pasos: 1) oxidación anaerobia de un sustrato orgánico por acción microbiana, con la subsecuente liberación de electrones; 2) las bacterias utilizan los MR (e.g. quinonas) como un aceptor de electrones intermediario, lo cual promueve una reacción de reducción; 3) los MR se re-oxidan o ceden los electrones al contaminantes electrofílico, lo cual promueve su reducción y la generación de productos cuya estructura química es distinta al compuesto contaminantes inicial (Figura 1).

La adición de MR ayuda a contrarrestar las limitaciones de toxicidad y de transferencia de electrones, observándose un incremento en las velocidades del proceso en varios ordenes de magnitud (Van der Zee y Cervantes, 2009). A pesar de las ventajas de usar MR en procesos de biotransformación reductiva, su aplicación en sistemas de tratamiento de aguas residuales es limitada debido a la solubilidad que presentan, lo cual implicaría la adición continua de dosis para mantener la capacidad catalítica, lo que incrementaría el costo. Para prevenir el lavado de los MR y mantener sus capacidades catalíticas en los biorreactores, se han aplicado diferentes materiales no solubles o estrategias de inmovilización.

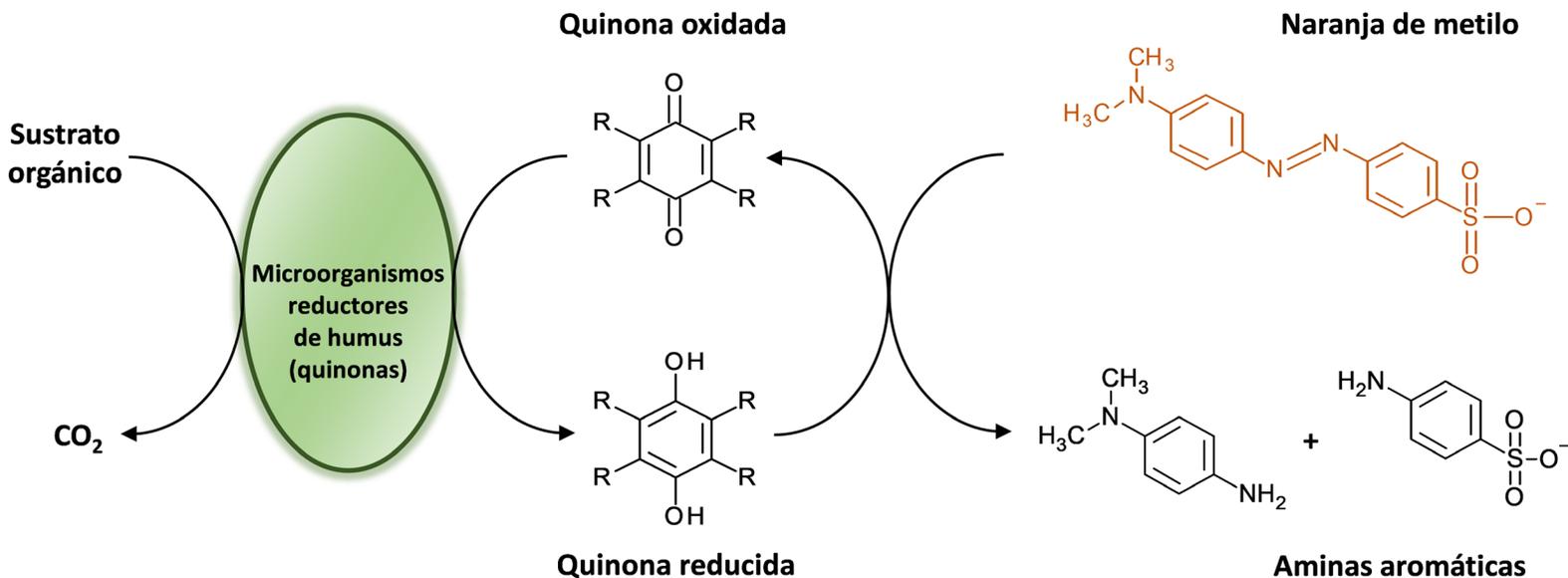


Figura 1. Decoloración reductiva de naranja de metilo por microorganismos mediada con quinonas. La reducción puede ocurrir en ausencia de la quinona, en donde los microorganismos transfieren directamente los electrones al naranja de metilo.

Algunos ejemplos de materiales con capacidad de transferencia de electrones son materiales a base de carbón (Pereira et al., 2010; Van Der Zee et al., 2003), humina (Zhang et al., 2014) y planta de henna (Huang et al., 2015). Dentro de las estrategias de inmovilización de MR se han utilizado carbón activado (Alvarez et al., 2017), espuma de poliuretano (Zhou et al., 2015), alginato de bario y calcio (Guo et al., 2007; Rodriguez et al., 2019), resinas de intercambio iónico (Cervantes et al., 2010), fieltro de carbón activado (Li et al., 2009), tela de carbón activado (Amezquita-Garcia et al., 2016; Castañon et al., 2019) y óxidos metálicos (Alvarez et al., 2010, 2012; Alvarez y Cervantes, 2012). El uso de estos

materiales demostró diferentes capacidades durante la biotransformación reductiva de contaminantes electrofílicos, principalmente en la reducción de colorantes azo, en tanto los estudios de reducción de metales y específicamente con Cr(VI) son escasos. Las estrategias de inmovilización sobre los distintos materiales incluyen principalmente procesos físicos como adsorción, encapsulación e intercambio iónico, los cuales presentan la desventaja de no mantener la capacidad catalítica durante largos periodos, debido al desprendimiento o desorción de los MR (Alvarez y Cervantes, 2011). Por otro lado, estrategias de inmovilización de MR por enlaces covalentes han mostrado mantener alta capacidad catalítica durante largos periodos, en biorreactores anaerobios para biotransformar colorantes azo (Alvarez et al., 2017). El objetivo de este estudio es inmovilizar químicamente la antraquinona-2-sulfonato (AQS) en carbón activado granular (CAG) mediante la reacción de Lucas. Una vez modificado, se evaluará la capacidad catalítica del CAG durante la biotransformación reductiva de naranja de metilo (NM) y Cr(VI) en pruebas en lote, utilizando lodo anaerobio.

Materiales y métodos

Lodo anaerobio y carbón activado

El lodo granular anaerobio utilizado como inóculo se colectó de un reactor anaerobio de flujo ascendente (reactor UASB) instalado en una industria cervecera en Cd. Obregón, México. El lodo se mantuvo en refrigeración (4 °C) hasta su uso y nunca fue previamente adaptado a condiciones similares a las que se usaron en este estudio. Previo a su uso, el lodo granular fue lavado con agua destilada y disgregado con un tamiz de 0.4 mm, para su posterior uso como inóculo en los experimentos cinéticos. El CAG utilizado para inmovilizar la AQS (Sigma Aldrich) es de origen mineral y fue adquirido en Clarimex (carbón 8 X 30); fue tamizado para obtener partículas entre 0.7 – 1.0 mm, y posteriormente se lavó con agua destilada para eliminar polvos finos y finalmente se secó a 70 °C.

Modificación del carbón activado

Para la modificación del CAG con AQS se utilizó en un primer paso el reactivo de Lucas. El reactivo se preparó disolviendo 25 g de $ZnCl_2$ en 250 mL de HCl concentrado; a esta solución se adicionaron 10 g de CAG y se dejó reaccionar en agitación constante durante 24 h para promover el intercambio de los grupos $-OH$ presentes en el CAG por los grupos $-Cl$ del reactivo de Lucas. Después, las partículas de CAG-Cl se agregaron a una solución acuosa 7.5 mM de AQS a pH 7.0, permitiendo reaccionar

durante 24 h para promover el intercambio de los grupos -Cl del CAG-Cl por los grupos sulfonato de la AQS, para finalmente obtener el CAG modificado (CAG-Q). El cálculo de la capacidad de adsorción se realizó mediante un balance de masa a partir de los datos experimentales, utilizando la siguiente ecuación:

$$q = \frac{(C_o - C_e) V}{m}$$

donde:

q = capacidad de adsorción (mmol/g)

C_o y C_e = concentración inicial y en equilibrio, respectivamente de AQS (mmol)

V = volumen de solución de AQS (L)

m = masa de CAG (g)

Además, para evaluar la fuerza de inmovilización de la AQS, el material modificado se sometió a tres ciclos de lavado con el medio mineral utilizado en los experimentos cinéticos, e identificar un posible desprendimiento de la molécula AQS. Después de cada lavado se determinó la capacidad de adsorción resultante, la cual se debe a una posible desorción (q_d), mediante la ecuación:

$$q_d = q - \frac{C_e V}{m}$$

Experimentos cinéticos

Se prepararon dos ensayos experimentales para evaluar el efecto del CAG-Q sobre la biotransformación reductiva de los contaminantes NM (Sigma Aldrich) y $K_2Cr_2O_7$ (Fermont), equivalente a Cr(VI). Ambos ensayos fueron preparados con las mismas condiciones experimentales que se describen a continuación. Se utilizaron botellas serológicas de 120 mL con un volumen de trabajo de 50 mL de medio mineral compuesto por (g/L): $NaHCO_3$ (3), NH_4Cl (0.3), K_2HPO_4 (0.2), $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (0.03), $CaCl_2$ (0.01) y 1 mL/L de elementos traza. La solución de elementos traza consistió en (g/L): $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ (2), H_3BO_3 (0.05), $ZnCl_2$ (0.05), $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (0.04), $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (0.5), $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (0.05), $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ (0.09), $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (2), $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (0.09), $Na_2SeO \cdot 5H_2O$ (0.16), EDTA (1) y 1 mL/L de HCl (36%). El CAG-Q se añadió a una concentración de 1.12 g/L, que equivale a 0.5 mM de AQS inmovilizada, 0.1 g SSV/L de lodo anaerobio disgregado como inóculo y 1 g/L de glucosa como fuente de energía. El colorante NM y Cr(VI) se añadieron a partir de soluciones stock para tener concentraciones experimentales de 150 mg/L y 50 mg/L, respectivamente. Las botellas se sellaron con tapón de hule y arillo de aluminio, tras lo cual se crearon condiciones anaerobias con nitrógeno. Además, se prepararon los controles con CAG, CAG-Q sin lodo y con lodo anaerobio en ausencia de MR. Las botellas fueron puestas en incubación a 30 °C y 150 rpm

Las constantes cinéticas de reducción de primer orden fueron calculadas con la siguiente ecuación:

$$C_t = C_o \cdot e^{-kt}$$

donde:

C_o y C_t = concentración (mg/L) del contaminante al inicio y a un tiempo dado, respectivamente

k (h^{-1}) = constante cinética de primer orden

t (h) = tiempo

Los valores de k fueron calculados con el coeficiente de determinación (r^2) máximo observado considerando al menos seis puntos experimentales. Además, los valores de k fueron analizados mediante un análisis de varianza y prueba Tukey utilizando con Minitab 19 para determinar diferencias entre las medias ($p < 0.05$).

Métodos analíticos

La cuantificación de AQS, NM y Cr(VI) se hizo espectrofotométricamente a las longitudes de onda de 310 nm, 460 nm y 540 nm. Para la determinación de NM y Cr (IV) se tomaron 0.5 mL de muestra que se diluyó con buffer de fosfatos (10.86 g/L $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$; 5.38 g/L $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$) previo a su análisis. La determinación de SSV se hizo siguiendo el procedimiento estándar (APHA, 2005).

Resultados y discusión

Inmovilización de AQS sobre CAG

La inmovilización de AQS sobre el CAG utilizando la reacción de Lucas permitió alcanzar una capacidad de adsorción de 0.447 mmol/g (Figura 2). Después de los tres ciclos de lavado, la cantidad de AQS desorbida no fue considerable, evidenciado por una baja disminución de la capacidad de adsorción de 0.001%, que indica que el método de inmovilización es apropiado. La capacidad de adsorción de AQS es similar al valor reportado previamente de 0.469 mmol/g (Alvarez *et al.*, 2017), que es 1.96 veces mayor a la capacidad de adsorción alcanzada mediante un método físico de adsorción (Alvarez, Del Angel y García-Reyes, 2017), en donde no se utilizó el reactivo de Lucas.

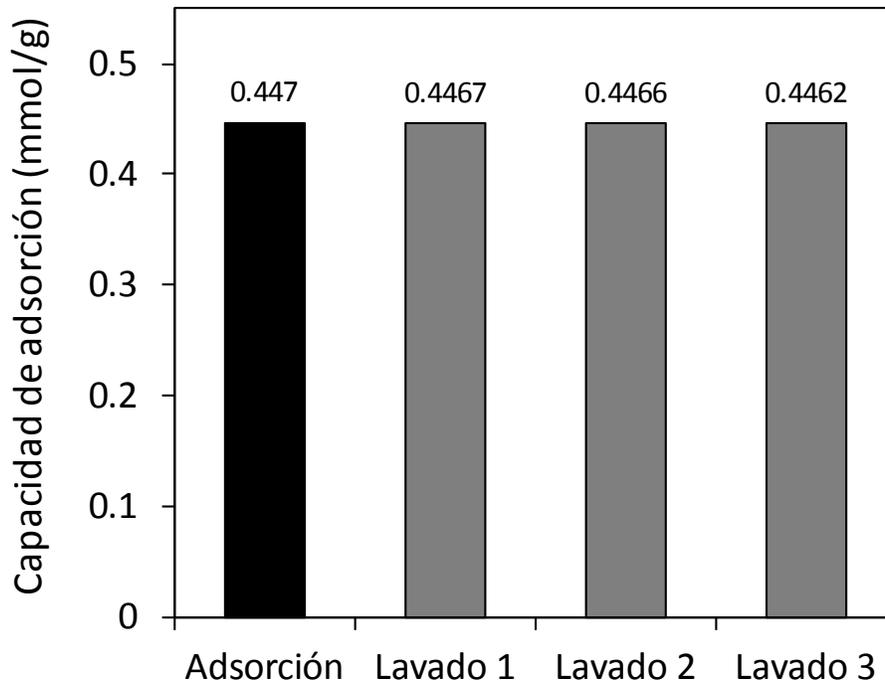


Figura 2. Capacidad de adsorción de AQS sobre CAG antes y después de tres ciclos de lavado.

Decoloración de NM con CAG-Q

La capacidad de CAG-Q de actuar como MR en fase sólida durante la decolorización de NM fue evidenciada con los resultados cinéticos obtenidos después de 13 h de incubación (Figura 3). Los resultados indican que los cultivos con lodo + CAG-Q alcanzaron una eficiencia de decoloración de 89.7%, que es 1.9 y 3.6 veces más alta a las eficiencias de los cultivos con CAG sin modificar y con lodo anaerobio en ausencia de MR, respectivamente (Tabla 1). El control con CAG-Q sin lodo, en donde

no hay un proceso de reducción debido a la ausencia de microorganismos, la decoloración se debe a un proceso de adsorción, en donde se alcanzó la eficiencia de eliminación más baja (22.8%). Esto indica que la eficiencia de decoloración con lodo + CAG (89.7%) se debe a los procesos de reducción con eficiencia de 66.9%, que representa la diferencia con respecto a la eficiencia de adsorción con CAG-Q.

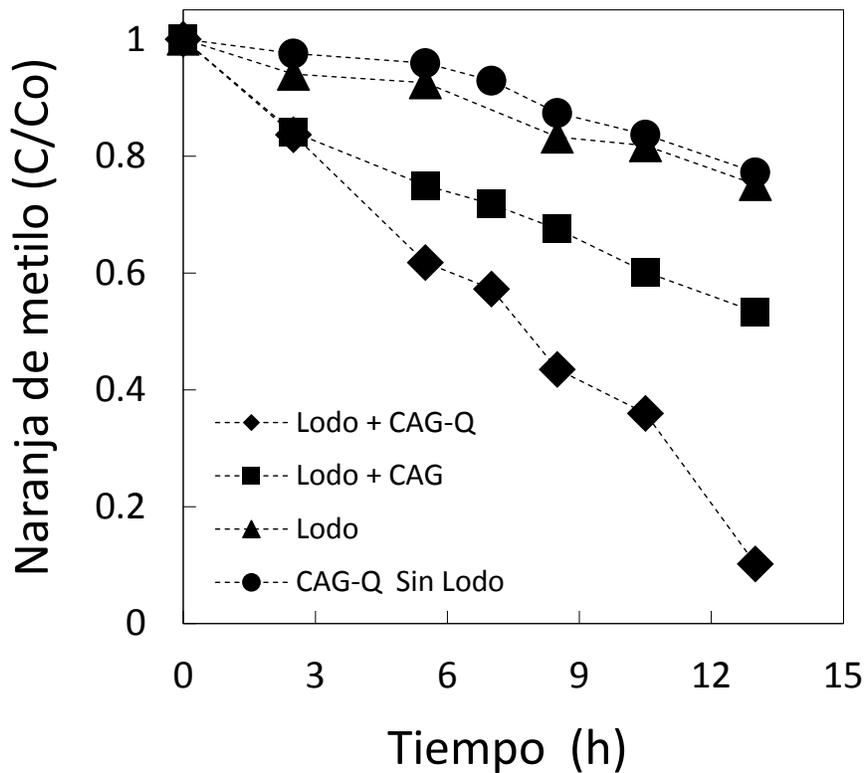


Figura 3. Cinéticas de reducción de NM en sistemas en lote bajo las distintas condiciones experimentales.

Tabla 1. Tasas de reducción de primer orden (k) y eficiencias de reducción de naranja de metilo.

Tratamiento	k (h^{-1}) ^a	r^2 ^b	Incremento en k ^c	Decoloración (%)
Lodo	0.021 ± 0.001 a	0.9661	---	24.9 ± 0.6 a
Lodo + CAG	0.046 ± 0.003 b	0.9899	2.2 ± 0.13 a	46.6 ± 3.8 b
Lodo + CAG-Q	0.098 ± 0.005 c	0.9825	4.6 ± 0.23 b	89.7 ± 5.4 c

Los valores representan el promedio ± desviación estándar.

Letras diferentes después de cada valor indican diferencia significativa en las medias ($P < 0.05$).

^aConstante de tasa de reducción de primer orden (k).

^bCoefficiente de determinación de para las cinéticas de primer orden.

^cIncremento en k respecto al control (k de CA o CAQ/ k de control).

La adsorción puede atribuirse a una atracción electrostática entre la carga negativa del naranja de metilo localizada en el grupo sulfonato (SO_3^-) y cargas positivas en la superficie del CAG. Las tasas de decoloración del NM indican diferencias significativas entre los principales tratamientos. Por ejemplo, con lodo + CAG-Q se observó la tasa más alta, seguida del cultivo con lodo + CAG y por último el cultivo con lodo sin material (Tabla 1). Las tasas observadas con CAG-Q y CAG (inoculados) fueron 4.6 y 2.2 veces más altas a la tasa observada por el control con lodo anaerobio. Estos resultados confirman que la AQS mantuvo su capacidad catalítica después de ser inmovilizada en el CAG, considerando que las tasas y eficiencias de reducción más bajas se obtuvieron en los

cultivos con CAG y lodo anaerobio. Además, los resultados también indican que la producción de equivalentes electrónicos a partir de la oxidación microbiana del sustrato es la principal responsable del proceso de decoloración y que el proceso de adsorción de NM sobre el CAG-Q no fue relevante.

La decolorización de colorantes azo está fundamentada en la reducción del enlace azo ($R-N=N-R$) que ocurre bajo condiciones anaerobias. La reducción de los enlaces azo produce aminas aromáticas que pueden ser posteriormente tratadas bajo condiciones aerobias de manera efectiva (Chen *et al.*, 2014; Venkata Mohan *et al.*, 2012). Además, se ha demostrado que la velocidad de reducción de los colorantes azo mejora con el uso de MR al incrementar la velocidad de transferencia de electrones desde el donador primario de electrones hasta el aceptor final (grupo azo) (Van der Zee y Cervantes, 2009). Por tal motivo, la inmovilización de MR es una estrategia que se ha usado en los últimos años como un tratamiento potencial de aguas residuales que contengan colorantes azo (Martinez *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2022), ya que permite mantener sus capacidades catalíticas en procesos de reducción de contaminantes electrofílicos. La Tabla 2 muestra los resultados de la biotransformación de colorantes azo utilizando MR inmovilizados por métodos químicos en diferentes soportes. El incremento en la tasa de reducción de NM que se alcanzó en este estudio, que fue 4.6 veces mayor, es más alto al valor de la mayoría de los resultados reportados en la Tabla 2, pero con valores similares a los incrementos reportados por Lu *et al.* (2010, 2015), quienes alcanzaron incrementos de 4.0 y 5.0 veces respecto a los controles sin MR.

Distintos MR han sido inmovilizados bajo estrategias que incluyen encapsulamiento en alginato de calcio, alcohol polivinílico y agar (Guo et al., 2007), adsorción en nanopartículas de óxidos metálicos (Alvarez et al., 2010) y resinas de intercambio iónico (Cervantes et al., 2011). Bajo estos métodos de inmovilización los MR se han desprendido de los materiales, por lo que también se pierde la capacidad catalítica y eventualmente los biorreactores disminuyen su eficiencia, imposibilitando su aplicación en sistemas de tratamiento a largo plazo (Alvarez y Cervantes, 2011). Sin embargo, la inmovilización de AQS por el método de Lucas empleado en este estudio ha demostrado ser efectiva en biorreactores en continuo durante 250 días operación, durante la decolorización de rojo congo acoplada a la oxidación de *p*-cresol (Alvarez et al., 2017).

Tabla 2. Impacto de la inmovilización química/covalente de mediadores redox en diferentes materiales sobre la biotransformación de colorantes azo.

Mediador redox ¹	Material de soporte ²	Método de inmovilización	Contaminante	Resultado ³	Referencia
AQS	EPU	Covalente	Rojo ácido 27	+ 5.0 TD	(Lu et al., 2010)
AQS	EPU	Covalente	Rojo reactivo X-3B	+ 4.0 ED	(Lu et al., 2015)
AQS	PET	Químico	Rojo ácido 18 Rojo ácido 27 Rojo reactivo 2 Rojo ácido 73 Amarillo ácido 36	+ 1.6 a 3.7 TD	(Zhang et al., 2014)
Riboflavina	Celulosa	Químico	Amarillo reactivo 17	+ 1.5 TD	(Martins et al., 2015)
AQS	Ceramsita	Covalente	Amarillo reactivo 36 Rojo reactivo 2 Rojo ácido 27 Naranja ácido 7	98% ED	(Yuan et al., 2012)
AQS	rOG-EPU	Covalente	Rojo ácido 18	+75% ED	(Zhou et al., 2018)
AQS	TCA	Covalente	Rojo reactivo 2	+3.3 TD	(Castañon et al., 2019)
AQS	CAG	Covalente	Rojo congo	+2.7 TD	(Alvarez et al., 2017)
AQS	CAG	Químico	Naranja de metilo	+ 4.6 TD	Este estudio

¹AQS: antraquinona-2-sulfonato

²EPU: espuma de poliuretano; PET: polietileno tereftalato; rOG: óxido de grafeno reducido; TCA: tela de carbón activado; CAG: carbón activado granular.

³+ "X" es el número de veces que se incrementó la TD (tasa de decoloración) o ED (eficiencia de decoloración) respecto a los controles sin mediador redox.

Reducción y eliminación de Cr(VI) con CAG-Q

Los resultados cinéticos indican que el cultivo con lodo + CAG alcanzó la eficiencia de eliminación de Cr(VI) más alta, seguido por los cultivos con lodo + CAG-Q y lodo sin material (Figura 4). La eficiencia de eliminación de Cr(VI) alcanzada con lodo + CAG fue 96.5% después de 195 h de incubación, que representa incrementos de 1.9 y 2.5 veces mayores a las eficiencias alcanzadas por los cultivos lodo + CAG-Q y lodo anaerobio, respectivamente. De manera similar a la eficiencia, la tasa de reducción más alta fue en los cultivos con lodo + CAG, alcanzando 0.0102 h^{-1} y con el lodo + CAG-Q el valor fue 0.003 h^{-1} , en ambos casos las tasas fueron superiores a la tasa obtenida por el control sin lodo anaerobio, logrando incrementos de hasta 4.4 y 1.3 veces, respectivamente (Tabla 3).

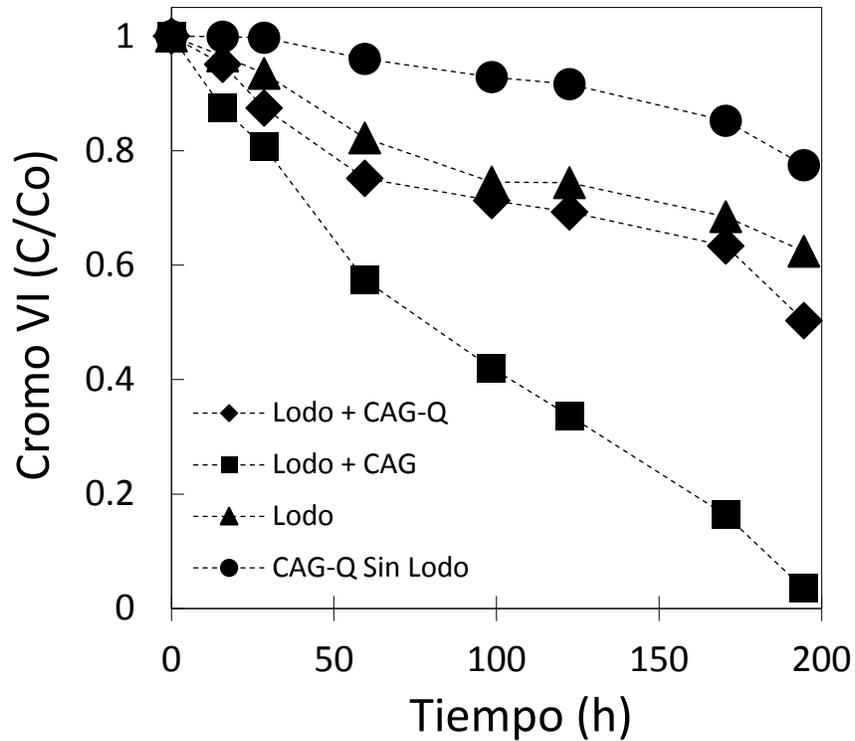


Figura 4. Cinéticas de reducción de Cr(VI) en sistemas en lote bajo las distintas condiciones experimentales.

Tabla 3. Tasas de eliminación de primer orden (k) y eficiencias de eliminación de Cr(VI).

Tratamiento	k (h^{-1}) ^a	r^2 ^b	Incremento en k ^c	Eliminación (%) ^d
Lodo	0.0023 ± 0.0001 a	0.9704	---	37.6 ± 2.6 a
Lodo + CAG	0.0102 ± 0.0007 b	0.9844	4.4 ± 0.13 a	96.5 ± 2.8 b
Lodo + CAG-Q	0.0030 ± 0.0001 c	0.9394	1.3 ± 0.23 b	49.7 ± 3.9 c

Letras diferentes después de cada valor indican diferencia significativa en las medias ($P < 0.05$).

^aConstante de tasa de reducción de primer orden (k).

^bCoefficiente de determinación de para las cinéticas de primer orden.

^cIncremento en k respecto al control (k de CA o CAQ/ k de control).

^dEficiencia de eliminación del contaminante por reducción/adsorción.

A diferencia de la biotransformación reductiva observada con el colorante NM, en donde el efecto catalítico del CAG-Q tuvo un papel relevante, los resultados con Cr(VI) sugieren que se presentaron tres procesos que incluyen adsorción, reducción directa y reducción indirecta. La eliminación de Cr(VI) en el cultivo con lodo + CAG alcanzó una eficiencia de 96.5%, debido en parte a la reducción directa por el lodo anaerobio, pero también al proceso de adsorción sobre el CAG. Considerando que en el cultivo con el lodo anaerobio en ausencia de CAG se alcanzó una reducción de Cr(VI) de 37.6% (Tabla 3), podemos entonces asumir que la contribución del proceso de adsorción fue responsable de eliminar 58.9% del Cr(VI). En tanto, la eficiencia de

eliminación de Cr(VI) en el cultivo con el CAG-Q sin lodo anaerobio fue baja ($\sim 20\%$) y se atribuye a un proceso de adsorción. En el cultivo con lodo anaerobio y CAG-Q la eficiencia aumentó a 49.7% y puede atribuirse a los tres mecanismos, en donde la reducción indirecta mediada por la AQS inmovilizada participa con 12.1%.

La adsorción de Cr(VI) sobre el CAG no es un mecanismo aislado. En un reporte previo se documentó que la reducción de Cr(VI) a Cr(III) puede ocurrir como paso posterior a la adsorción, en función de las características del material adsorbente. Inicialmente el Cr(VI) es adsorbido por atracción electrostática a través de los grupos funcionales aniónicos presentes en la superficie del CAG, seguido por un proceso de reducción de Cr(VI) por acción de los grupos funcionales ácidos del CAG, que actúan como donadores de electrones para que se produzca el Cr(III) (Valentín-Reyes et al., 2019). Se observó además que la tasa de adsorción de Cr(VI) sobre el CAG fue más alta durante las primeras horas del experimento cinético, alcanzando la concentración de equilibrio en poco menos de 2 días (Valentín-Reyes et al., 2019), que coincide con el resultado de este estudio en donde la concentración de Cr(VI) bajo $\sim 40\%$ en ese mismo tiempo (Figura 4). Por otro lado, la conversión de Cr(VI) a Cr(III) vía reducción directa puede llevarse por una gran variedad de microorganismos que usan el Cr(VI) como aceptor final de electrones a través de enzimas intracelulares o extracelulares como cromato reductasas. Algunas enzimas cromato reductasas no sólo reducen el Cr(VI), sino también tienen la capacidad de reducir otros compuestos como colorantes azo, V(V), Mo(VI) (Ahmad et al., 2021). Además, la reducción de Cr(VI) puede potencialmente ocurrir por otras especies reductoras como ácidos

orgánicos, aminoácidos, Fe(II) y sulfuro (Pradhan *et al.*, 2017; Wani, Wani y Wahid, 2018).

Conclusiones

La inmovilización de AQS sobre el CAG mediante el reactivo de Lucas permitió mantener la capacidad catalítica del MR para la biotransformación reductiva del NM y Cr(VI). La decoloración del NM ocurrió vía indirecta mediante la reducción del enlace azo, debido a la capacidad redox de la AQS inmovilizada, alcanzando tanto la tasa de reducción (0.098 h^{-1}) como la eficiencia de decoloración (89.7%) más altas. Por otro lado, aun cuando el proceso de adsorción de Cr(VI) sobre el CAG no modificado tuvo un papel relevante en su eliminación, también se observó que la actividad catalítica del MR inmovilizado participó mediante la reducción indirecta, alcanzando una tasa de reducción 1.3 veces mayor al control sin MR. Estos resultados demuestran que los MR inmovilizados permiten la reducción de contaminantes electrofílicos, incluyendo contaminantes metálicos como el Cr(VI).

Agradecimientos

Al Instituto Tecnológico de Sonora por el respaldo financiero otorgado para la realización de este estudio mediante el Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI-2024).

Referencias

- Ahmad, W.A., Venil, C.K., Nkhalambayausi Chirwa, E.M., Wang, Y.T., Sani, M.H., Samad, A.F.A., Kamaroddin, M.F.A., Donati, E.R., Urbietta, M.S., Zakaria, Z.A., 2021. Bacterial Reduction of Cr(VI): Operational Challenges and Feasibility. *Curr. Pollut. Reports* 7, 115–127. DOI: <https://doi.org/10.1007/S40726-021-00174-8/METRICS>
- Alvarez, Luis H, Arvizu, I.C., García-Reyes, R.B., Martinez, C.M., Olivo-Alanis, D., Del Angel, Y.A., 2017. 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.05.032>
- Alvarez, L.H., Cervantes, F.J., 2012. Assessing the impact of alumina nanoparticles in an anaerobic consortium: Methanogenic and humus reducing activity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3759-4>
- Alvarez, L.H., Cervantes, F.J., 2011. (Bio)nanotechnologies to enhance environmental quality and energy production. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 86. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.2697>
- Alvarez, L H, Del Angel, Y.A., García-Reyes, B., 2017. Improved Microbial and Chemical Reduction of Direct Blue 71 Using Anthraquinone-2,6-disulfonate Immobilized on Granular Activated Carbon. *Water. Air. Soil Pollut.* 228. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3212-5>

- Alvarez, L.H., Jimenez-Bermudez, L., Hernandez-Montoya, V., Cervantes, F.J., 2012. Enhanced dechlorination of carbon tetrachloride by immobilized fulvic acids on alumina particles. *Water, Air, Soil Pollut.* 223. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0994-3>
- Alvarez, L.H., Perez-Cruz, M.A., Rangel-Mendez, J.R., Cervantes, F.J., 2010. Immobilized redox mediator on metal-oxides nanoparticles and its catalytic effect in a reductive decolorization process. *J. Hazard. Mater.* 184. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.08.032>
- Amezquita-Garcia, H.J., Rangel-Mendez, J.R., Cervantes, F.J., Razo-Flores, E., 2016. Activated carbon fibers with redox-active functionalities improves the continuous anaerobic biotransformation of 4-nitrophenol. *Chem. Eng. J.* 286, 208–215.
- APHA, 2005. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater.*
- Castañón, D, Alvarez, L.H., Peña, K., García-Reyes, R.B., Martinez, C.M., Pat-Espadas, A., 2019. Azo dye biotransformation mediated by AQS immobilized on activated carbon cloth in the presence of microbial inhibitors. *Environ. Pollut.* 252. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.050>
- Castañón, Daniel, Alvarez, L.H., Peña, K., García-Reyes, R.B., Martinez, C.M., 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.050>

- Cervantes, F.J., Garcia-Espinosa, A., Moreno-Reynosa, M.A., Rangel-Mendez, J.R., 2010. Immobilized Redox Mediators on Anion Exchange Resins and Their Role on the Reductive Decolorization of Azo Dyes. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1747–1753. DOI: <https://doi.org/10.1021/es9027919>
- Cervantes, F.J., Gonzalez-Estrella, J., Marquez, A., Alvarez, L.H., Arriaga, S., 2011. Immobilized humic substances on an anion exchange resin and their role on the redox biotransformation of contaminants. *Bioresour. Technol.* 102, 2097–2100. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.021>
- Cervantes, F.J., Lopez-Vizcarra, M.I., Siqueiros, E., Razo-Flores, E., 2008. Riboflavin prevents inhibitory effects during the reductive decolorization of Reactive Orange 14 by methanogenic sludge. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 83, 1703.
- Chen, B.Y., Xu, B., Qin, L.J., Lan, J.C.W., Hsueh, C.C., 2014. Exploring redox-mediating characteristics of textile dye-bearing microbial fuel cells: Thionin and malachite green. *Bioresour. Technol.* 169, 277–283. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.084>
- Field, J.A., Stams, A.J.M., Kato, M., Schraa, G., 1995. Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Antonie Van Leeuwenhoek* 67, 47–77. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00872195>

- Guo, J., Zhou, J., Wang, D., Tian, C., Wang, P., Salah Uddin, M., Yu, H., 2007. Biocalalyst effects of immobilized anthraquinone on the anaerobic reduction of azo dyes by the salt-tolerant bacteria. *Water Res.* 41, 426–432. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.10.022>
- Huang, J., Wu, M., Chen, J., Liu, X., Chen, T., Wen, Y., Tang, J., Xie, Z., 2015. Enhanced azo dye removal in a continuously operated up-flow anaerobic filter packed with henna plant biomass. *J. Hazard. Mater.* 299, 158–164.
- Li, L., Zhou, J., Wang, J., Yang, F., Jin, C., Zhang, G., 2009. Anaerobic biotransformation of azo dye using polypyrrole/anthraquinonedisulphonate modified active carbon felt as a novel immobilized redox mediator. *Sep. Purif. Technol.* 66, 375–382. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.12.019>
- Lu, H., Wang, J., Lu, S., Wang, Y., Liu, G., Zhou, J., Quan, Z., 2015. Influence of azo dye concentration on activated sludge bacterial community in the presence of functionalized polyurethane foam. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 175, 2574–2588. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12010-014-1452-7>
- Lu, H., Zhou, J., Wang, J., Si, W., Teng, H., Liu, G., 2010. Enhanced biodecolorization of azo dyes by anthraquinone-2-sulfonate immobilized covalently in polyurethane foam. *Bioresour. Technol.* 101, 7185–7188. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.007>

- Martinez, C.M., Alvarez, L.H., Celis, L.B., Cervantes, F.J., 2013. Humus-reducing microorganisms and their valuable contribution in environmental processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5350-7>
- Martins, L.R., Baêta, B.E.L., Gurgel, L.V.A., de Aquino, S.F., Gil, L.F., 2015. Application of cellulose-immobilized riboflavin as a redox mediator for anaerobic degradation of a model azo dye Remazol Golden Yellow RNL. *Ind. Crops Prod.* 65, 454–462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.059>
- Pereira, L., Pereira, R., Pereira, M.F.R., Van der Zee, F.P., Cervantes, F.J., Alves, M.M., 2010. Thermal modification of activated carbon surface chemistry improves its capacity as redox mediator for azo dye reduction. *J. Hazard. Mater.* 183, 931–939.
- Pradhan, D., Sukla, L.B., Sawyer, M., Rahman, P.K.S.M., 2017. Recent bioreduction of hexavalent chromium in wastewater treatment: A review. *J. Ind. Eng. Chem.* 55, 1–20. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JIEC.2017.06.040>
- Ren, Z., Ma, P., Lv, L., Zhang, G., Li, W., Wang, P., Liu, X., Gao, W., 2022. Application of exogenous redox mediators in anaerobic biological wastewater treatment: A critical review. *J. Clean. Prod.* 372, 133527. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2022.133527>
- Rodgers, J.D., Bunce, N.J., 2001. Treatment methods for the remediation of nitroaromatic explosives. *Water Res.* 35, 2101–2111. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00505-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00505-4)

- Rodriguez, S.Y., Cantú, M.E., Garcia-Reyes, B., Garza-Gonzalez, M.T., Meza-Escalante, E.R., Serrano, D., Alvarez, L.H., 2019. Biotransformation of 4-nitrophenol by co-immobilized *Geobacter sulfurreducens* and anthraquinone-2-sulfonate in barium alginate beads. *Chemosphere* 219–225. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.041>
- Valentín-Reyes, J., García-Reyes, R.B., García-González, A., Soto-Regalado, E., Cerino-Córdova, F., 2019. Adsorption mechanisms of hexavalent chromium from aqueous solutions on modified activated carbons. *J. Environ. Manage.* 236, 815–822. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2019.02.014>
- Van Der Zee, F.P., Bisschops, I.A.E., Lettinga, G., Field, J.A., 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, 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. DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.10073>
- Van der Zee, F.P., Cervantes, F.J., 2009. Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: A review. *Biotechnol. Adv.* 27, 256–277. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.01.004>

- Venkata Mohan, S., Suresh Babu, P., Naresh, K., Velvizhi, G., Madamwar, D., 2012. Acid azo dye remediation in anoxic-aerobic-anoxic microenvironment under periodic discontinuous batch operation: Bio-electro kinetics and microbial inventory. *Bioresour. Technol.* 119, 362–372. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.05.125>
- Wani, P.A., Wani, J.A., Wahid, S., 2018. Recent advances in the mechanism of detoxification of genotoxic and cytotoxic Cr (VI) by microbes. *J. Environ. Chem. Eng.* 6, 3798–3807. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2018.05.042>
- Watanabe, K., Manefield, M., Lee, M., Kouzuma, A., 2009. Electron shuttles in biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20, 633–641.
- Yuan, S.Z., Lu, H., Wang, J., Zhou, J.T., Wang, Y., Liu, G.F., 2012. Enhanced bio-decolorization of azo dyes by quinone-functionalized ceramsites under saline conditions. *Process Biochem.* 47, 312–318. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2011.11.015>
- Zhang, D., Zhang, C., Li, Z., Suzuki, D., Komatsu, D.D., Tsunogai, U., Katayama, A., 2014. Electrochemical stimulation of microbial reductive dechlorination of pentachlorophenol using solid-state redox mediator (humins) immobilization. *Bioresour. Technol.* 164, 232–240. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.071>

- Zhang, H., Lu, H., Zhang, S., Liu, G., Li, G., Zhou, J., Wang, J., 2014. A novel modification of poly(ethylene terephthalate) fiber using anthraquinone-2-sulfonate for accelerating azo dyes and nitroaromatics removal. *Sep. Purif. Technol.* 132, 323–329. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2014.05.042>
- Zhou, Y., Lu, H., Wang, J., Li, J., Zhou, J., Jin, R., 2015. Catalytic performance of functionalized polyurethane foam on the reductive decolorization of Reactive Red K-2G in up-flow anaerobic reactor under saline conditions. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 38, 137–147.
- Zhou, Y., Lu, H., Wang, J., Zhou, J., Leng, X., Liu, G., 2018. Catalytic performance of quinone and graphene-modified polyurethane foam on the decolorization of azo dye Acid Red 18 by *Shewanella* sp. RQs-106. *J. Hazard. Mater.* 356, 82–90. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2018.05.043>