



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

# UNIVERSIDAD DE SONORA

---

**FACULTAD INTERDISCIPLINARIA DE INGENIERÍA**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA  
Y METALURGIA**

**DETERMINACIÓN DE LA REMOCIÓN DE  
ANTIMONATO POR BACTERIAS SULFATO-  
REDUCTORAS: COMPARACIÓN DEL  
DESEMPEÑO EN EXPERIMENTOS EN LOTE A  
CONCENTRACIONES CRECIENTES.**

**Tesis:**

**Que para obtener el título de:**

**INGENIERO QUÍMICO**

**Presenta**

**ANA PATRICIA CANIZALES LABORIN**

**Hermosillo, Sonora**

**Septiembre, 2023.**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

# UNIVERSIDAD DE SONORA

## VOTOS APROBATORIOS

Hermosillo, Sonora, a 25 de Agosto de 2023.

**DR. PAUL ZAVALA RIVERA**  
**JEFE DEL DEPARTAMENTO**  
**INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA**

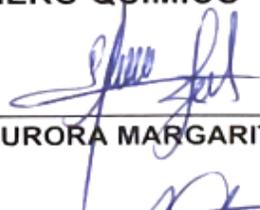
Por medio de la presente, nos permitimos informarle que los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis Profesional "**DETERMINACIÓN DE LA REMOCIÓN DE ANTIMONATO POR BACTERIAS SULFATO-REDUCTORAS COMPARACIÓN DEL DESEMPEÑO EN EXPERIMENTOS EN LOTE A CONCENTRACIONES CRECIENTES**", presentada por:

### **ANA PATRICIA CANIZALES LABORIN**

La han revisado y cada uno de los integrantes da su **VOTO APROBATORIO** ya que cumple con los requisitos parciales para la obtención del Título de:

#### **INGENIERO QUÍMICO**

25/agosto/23  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. AURORA MARGARITA PAT ESPADAS**

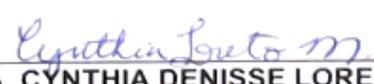
25/agosto/23

  
\_\_\_\_\_  
**DR. FRANCISCO JAVIER ALMENDARIZ TAPIA**

25/agosto/2023

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. GUADALUPE LÓPEZ AVILÉS**

25/agosto/2023

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. CYNTHIA DENISSE LORETO MUÑOZ**

## **DEDICATORIA**

A Dios primeramente quien ha estado conmigo en cada paso que doy, mi fortaleza.

A mis padres por sus esfuerzos incontables para que lograré tener educación y por su apoyo incondicional, por siempre creer que si podia.

A mi querido Alán quien me motiva cada día para ser mejor, quien me brindo de su apoyo y ánimos para culminar este trabajo.

A Angelita, quien fue mi apoyo incondicional durante todo mi recorrido universitario, gracias por tus consejos y por brindarme una sincera amistad.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi directora de tesis, Dra. Aurora Margarita Pat Espadas, por brindarme la oportunidad de colaborar en este proyecto que me ha dejado grandes enseñanzas, por su apoyo, paciencia, y dedicación. Muchas gracias por aportarme de su gran conocimiento y sobre todo por sus palabras de apoyo.

A mis compañeras de laboratorio, Angy, Ana Karen, Dayana y Rosi, por su apoyo durante este tiempo, ustedes hicieron que este tiempo fuera agradable.

A la Dra. Marina Montserrat Atilano Camino por el gran aporte de su conocimiento y sus palabras de apoyo. Gracias.

Al Dr. Daniel Ramos Pérez por el apoyo en el análisis de Sb por MP-AES, por el análisis composicional por SEM-EDS y por la determinación de ácidos orgánicos por HPLC en las muestras analizadas.

Al Q.B José Fulgencio Martínez Rodríguez del Laboratorio de Ecología Molecular y Funcional de la Estación Regional del Noroeste de la UNAM por su invaluable apoyo técnico y en el trabajo en el laboratorio.

Al Laboratorio de Ciencias Ambientales de la Estación Regional del Noroeste del Instituto de Geología y al Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM) por el uso de sus instalaciones, equipos y materiales.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Página</b>
Capítulo 1. Introducción .....	<b>1</b>
1.1 Objetivo general.....	<b>2</b>
1.2 Objetivos específicos.....	<b>2</b>
Capítulo 2. Antecedentes.....	<b>3</b>
2.1 Generalidades del antimonio (Sb).....	<b>3</b>
2.1.1 Química.....	<b>3</b>
2.1.2 Usos y aplicaciones.....	<b>3</b>
2.1.3 Origen y relevancia del antimonio (Sb).....	<b>5</b>
2.1.4 Efectos en el ambiente y ocurrencia del Sb(V).....	<b>7</b>
2.1.5 Antimonato y actividad microbiana.....	<b>8</b>
2.1.6 Efectos en la salud.....	<b>10</b>
2.1.7 Toxicidad.....	<b>11</b>
2.1.8 Tratamientos para la eliminación de Sb.....	<b>12</b>
2.1.8.1 Tratamientos Fisicoquímicos.....	<b>12</b>
2.1.8.2 Tratamientos biológicos.....	<b>13</b>
2.2 Sulfato-reducción.....	<b>14</b>
2.2.1 Ciclo biológico del azufre (S).....	<b>14</b>
2.2.2 Reducción biológica del Sulfato.....	<b>16</b>
2.2.3 Origen de Compuestos inorgánicos.....	<b>18</b>
2.2.4 Bacterias sulfato-reductoras.....	<b>19</b>

2.2.5 Efecto del pH.....	21
2.2.6 Sulfato-reducción como opción para tratamiento de metal(oid)es.....	22
Capítulo 3. Metodología Experimental.....	23
3.1. Inóculo.....	23
3.2 Aclimatación de lodo anaerobio.....	23
3.3 Determinación de sólidos suspendidos volátiles.....	24
3.4 Preparación de solución stock de Sb(V).....	24
3.5 Preparación de experimentos en lote para la remoción de Sb(V).....	24
3.6 Técnicas analíticas.....	27
3.6.1 Determinación de Sulfato.....	27
3.6.2 Determinación de sulfuro disuelto en muestras líquidas.....	28
3.6.3 Determinación de Sb(V).....	28
3.6.4 Medición de pH.....	29
Capítulo 4. Resultados y discusión.....	29
4.1 Efecto de Sb(V) en la sulfato-reducción.....	29
4.2 Consumo de lactato y producción acetato.....	33
4.3 Influencia del pH.....	34
4.4 Remoción de Sb(V).....	35
4.5 Reacción de precipitación del Sb(V).....	38

Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones..... **40**

Referencias..... **42**

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Transformaciones químicas del antimonio en el ambiente.....	<b>10</b>
Figura 2. Ciclo biológico del azufre.....	<b>16</b>
Figura 3. Bioquímica de la reducción del sulfato.....	<b>18</b>
Figura 4. Dependencia del pH en la especiación del sulfuro.....	<b>20</b>
Figura 5. Experimentos en lote sin adición de antimonato.....	<b>26</b>
Figura 6. Experimentos en lote con antimonato.....	<b>27</b>
Figura 7. Botella con precipitados observables en botella de medio sulfato reductor y Sb(V).....	<b>28</b>
Figura 8. Producción de sulfato y sulfuro en botellas con Sb(V) respecto al tiempo en las diferentes etapas experimentales.....	<b>31</b>
Figura 9. Producción de sulfato y sulfuro en controles respecto al tiempo en las diferentes etapas experimentales.....	<b>32</b>
Figura 10. Medición de la concentración de Sb respecto al tiempo de cada etapa experimental.....	<b>36</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla I. Lista representativa de microorganismos con mecanismos resistentes a la presencia de antimonio.....	<b>8</b>
Tabla II. Concentraciones de Sb(V) para cada etapa experimental.....	<b>24</b>
Tabla III. Composición del medio de cultivo Posgate-B modificado.....	<b>25</b>
Tabla IV. Concentraciones iniciales y finales de sulfato y sulfuro por cada etapa experimental a concentraciones crecientes de Sb(V).....	<b>31</b>
Tabla V. Concentraciones iniciales y finales de sulfato y sulfuro por cada etapa experimental de los controles.....	<b>32</b>
Tabla VI. Evaluación de la diferencia de concentraciones de lactato y acetato producido en la actividad sulfato-reductora.....	<b>34</b>
Tabla VII. Valores de pH inicial y final por cada etapa experimental.....	<b>34</b>
Tabla VIII. Medición del Sb(V) removido total por etapa en [ppm] y porcentaje.....	<b>36</b>
Tabla IX. Tabla comparativa de experimentos de remoción de Sb(V).....	<b>38</b>
Tabla X. Resultados del Sb teórico inicial y total removido con el sulfuro producido experimentalmente en cada etapa.....	<b>40</b>

## RESUMEN

En las últimas décadas el antimonio ha tomado lugar como un serio contaminante debido a su alto grado de toxicidad, daños a la salud y al medio ambiente, siendo catalogado como un contaminante con características similares al Arsénico. En el ambiente los dos estados de oxidación más importantes en los que se encuentra este metaloide son la forma pentavalente, como antimonato Sb(V), y la trivalente, como antimonito Sb(III).

La remoción de contaminantes por métodos biológicos, en específico el mecanismo de la sulfato-reducción presenta múltiples ventajas a favor de la remoción de metales y metaloides, por lo que se explora en esta investigación, teniendo como objetivo evaluar la remoción de antimonato empleando una estrategia de aumento progresivo en la concentración del metaloide en experimentos en lote bajo condiciones de sulfato-reducción. Se midieron los parámetros necesarios para determinar la actividad sulfato-reductora (sulfato, sulfuro y pH) y su influencia en la remoción de antimonato. Se empleó como inóculo un consorcio no especializado y se utilizó lactato como donador de electrones. Además, se estableció un control, sin Sb(V), para determinar los cambios en la actividad microbiana.

Los resultados indicaron que la actividad sulfato-reductora es afectada por la adición de Sb(V) dadas las velocidades de la sulfato-reducción. Para 50 ppm la tasa fue de 160.152 mg/L·d, para 100 ppm fue de 131.19 mg/L·d y finalmente para 200 pmm fue de 86.05 mg/L·d, obteniendo una disminución en la tasa de aproximadamente 30 mg/L·d en la segunda etapa con respecto a la primera, al incrementar la concentración de Sb(V). Esta variación no se observó en los controles.

Los resultados de esta investigación aportan a la demostración de la viabilidad del mecanismo de sulfato-reducción aplicado como proceso para eliminar Sb(V)

a concentraciones crecientes, además de sugerir la recuperación de los precipitados de sulfuro de antimonio en forma de  $S_2Sb_3$  para su uso en procesos industriales siendo esta la fuente comercial principal del antimonio.

## 1. Introducción

El antimonio (Sb) es un metaloide que se encuentra en la tabla periódica con el número atómico 51. Este metaloide se ha catalogado cómo altamente tóxico al compartir características similares con el arsénico (As) y en las últimas décadas ha sido objeto de estudio al emerger como un serio contaminante ambiental, además de su uso importante en la industria de las aleaciones.

Por su utilidad en la industria, generalmente podemos encontrarlo en el ambiente combinado con otras sustancias formando compuestos de antimonio y, por otro lado, puede tener origen industrial derivado principalmente de combustibles fósiles, incineradoras y centrales eléctricas.

El Sb puede existir en cuatro estados de oxidación diferentes (V, III, 0, -III), pero las especies químicas del Sb que más abundan en el medio ambiente son la pentavalente Sb(V), en forma de antimonato y trivalente Sb(III), como antimonito (Cervantes, 2019).

Este metaloide que se ha catalogado como un contaminante de grado tóxico en las últimas décadas y se ha vuelto caso de estudio al encontrarse con niveles amplios de contaminación en el ambiente. Por ello el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la actividad de las bacterias sulfato reductoras en su capacidad y desempeño en la remoción de antimonato Sb(V). Se evaluó la respuesta de bacterias sulfato reductoras (BSR) en la remoción de la especie química pentavalente del antimonio Sb(V), bajo condiciones sulfato reductoras y su evolución al encontrarse expuestas a concentraciones elevadas del metaloide: 50, 100 y 200 ppm. La sulfato-reducción es uno de los mecanismos biológicos utilizados para la remoción de metales pesados en medios acuosos con múltiples ventajas, son estos principios lo que se propusieron ser aplicados para la remoción del metaloide (Iwamoto y Nasu, 2001).

Para montar los experimentos en lote se calcularon las cantidades de cada componente (inóculo, medio de cultivo, lactato y antimonio) de acuerdo con el diseño experimental.

Los experimentos fueron realizados con volumen de trabajo de 100 mL en botellas serológicas de 120 mL, por triplicado. Se inyectó a cada botella, lactato (10 Mm) y la cantidad adecuada de solución de Sb(V), de acuerdo con la etapa experimental (Tabla I). Para el caso de los controles se inyectó solamente lactato con la finalidad de medir la actividad sulfato-reductora del inóculo sin la exposición al Sb(V).

En este experimento se monitorearon las concentraciones de sulfato, sulfuro, Sb(V) y pH. Las técnicas utilizadas fueron las siguientes: Método glicerol para medir sulfato en muestras líquidas, método Cord-Ruwisch para determinar sulfuro disuelto en muestras líquidas, técnica de espectrometría de emisión atómica con plasma de microondas para medir concentración de Sb(V) y para la medición del pH se utilizó un potenciómetro (Marca HANNA, modelo HI 22118).

### **1.1. Objetivo General**

Evaluar la remoción de antimonato empleando una estrategia de aumento progresivo en la concentración del metaloide en experimentos en lote bajo condiciones de sulfato-reducción.

### **1.2. Objetivos Específicos**

- 1.2.1. Determinar la actividad sulfato-reductora en experimentos en lote para establecer un control mediante la cuantificación de sulfato y sulfuro.
- 1.2.2. Evaluar la respuesta de las bacterias sulfato-reductoras a la adición de antimonato en tres concentraciones 50, 100 y 200 ppm alimentadas como ciclos consecutivos.

1.2.3. Cuantificar la remoción de antimonato y el efecto sobre la sulfato-reducción.

## **2. Antecedentes.**

### **2.1. Generalidades del antimonio (Sb)**

#### **2.1.1. Química**

El antimonio (Sb) es un semimetal o metaloide que tiene un aspecto de color blanco plateado. Se encuentra ubicado en la tabla periódica con el número atómico 51, contiene una masa atómica de 121.76 u y sus números de oxidación más comunes son  $+3$  y  $+5$ .

Está clasificado como metaloide debido a sus propiedades y características fisicoquímicas que son semejantes a las de un metal, pero estas en menor medida. (Ramírez, 2021)

El antimonio se ha encontrado presente en varios minerales, pero no se encuentra en cantidades abundantes y generalmente se obtiene como un subproducto de refinación mineral con cobre y plomo. Las especies químicas del Sb que más abundan en el medio ambiente son la pentavalente Sb(V), en forma de antimonato y trivalente Sb(III), como antimonito (Cervantes, 2019).

Se ha encontrado en términos de toxicidad por diversos estudios que cuando el antimonio se encuentra en estado trivalente presenta mayor toxicidad (Zhu et al., 2018).

#### **2.1.2. Usos y aplicaciones**

El antimonio (Sb) es ampliamente utilizado en la producción de retardantes de fuego, textiles, papeles, adhesivos, neumáticos, revestimientos de frenos y plásticos (Wang et al., 2013).

El antimonio tiene varias aplicaciones en la industria, una de las principales es la industria de las aleaciones como reforzador de estas.

Por ejemplo, se añade en la aleación de plomo/cobre/estaño para cojinetes de máquinas y en las aleaciones de plomo para baterías que destacan por su alta capacidad de almacenar energía. Esta aleación de plomo con antimonio también es utilizada para fabricar armas y municiones, ya que el material resultante es duro y resistente.

El antimonio también se utiliza en la industria de los semiconductores para determinadas producciones de detectores infrarrojos, diodos y obleas de silicón. En menor medida también es utilizado en la producción de fósforos de seguridad.

Al estar presente en varios minerales es posible tener usos para la fabricación de baterías, material de recubrimiento de cables, fabricación de vidrios refinados, etc. Por ejemplo, en la fabricación de vidrios refinados se utilizan compuestos que contienen antimonio, principalmente óxido de antimonio, que permite obtener vidrios resistentes y refinados, estos son muy demandados en el mercado y utilizados en nuestra vida cotidiana.

Tomando en cuenta una de las propiedades del antimonio al ser un semimetal, como lo es la semiconductividad, hacen al antimonio un elemento ideal para elaborar detectores infrarrojos, diodos y aparatos semiconductores. La relevancia de estos artefactos es que pueden comportarse tanto como aislantes como conductores, característica muy importante en la industria de la tecnología ya que permite elaborar una amplia gama de artefactos (Maldonado, 2021).

Cuando se encuentra en estado puro se aprovechan sus propiedades para la fabricación de sustancias compuestas como esmaltes, pinturas y cerámicas. Tomando en cuenta el color plateado natural que presenta el Sb, específicamente el óxido de antimonio se utiliza en la fabricación de pinturas y pigmentos textiles de distintos colores, además de emplearse como sustituto del plomo al momento de elaborar pinturas (Maldonado, 2021).

Aunque existe información acerca del uso y aplicación del antimonio como medicina para infecciones parasitarias, se ha encontrado que personas que ingieren dosis elevadas de medicina o que son especialmente sensibles a ella experimentan efectos negativos en su salud. Estos efectos sobre la salud alertan acerca de los peligros de la exposición al antimonio, es por eso que en la actualidad está en baja estima, pero siguen registradas y patentadas muchas presentaciones (Prieto, 2022).

### **2.1.3. Origen y relevancia del antimonio Sb**

El antimonio tiene su origen natural de la Corteza terrestre y generalmente se puede encontrar en el ambiente combinado con otras sustancias formando compuestos de antimonio en minerales. La estibina ( $Sb_2S_3$ ) es la fuente comercial más importante del antimonio. La estibina es un mineral que aparece como masas granulares, hojosas y con bastante frecuencia como cristales prismáticos, cuyo desarrollo puede ir desde cristales capilares microscópicos a prismas de longitud multi-decimétrica.

El antimonio se ha logrado posicionar como el noveno metal(oide) más explotado en el planeta y en 2008 su producción se estimó en 165,000 toneladas (Cervantes, 2019).

Algunos de los elementos químicos tienen el potencial de ser altamente tóxicos y entre ellos encontramos a los metaloides, por ejemplo, el antimonio (Sb), arsénico (As) y boro (B), ya que por sus características se consideran que pueden reaccionar en los sistemas biológicos perdiendo uno o más electrones formando iones positivos o cationes, haciéndolos altamente reactivos y tóxicos (Rosas, 2001).

El antimonio ha logrado ser de gran relevancia en el área industrial por sus aplicaciones, pero también en las últimas décadas es que este metaloide

se ha catalogado como un serio contaminante, sobre todo en zonas mineras de China, Australia y partes de Europa, siendo china su mayor productor.

De manera general, el origen del antimonio en las ciudades puede darse debido al área industrial esto derivado principalmente de combustibles fósiles, incineradoras y centrales eléctricas, así como de residuos de los drenajes de minas (ATSDR, 2019).

Sonora es considerado el estado líder en producción minero-metalúrgica del país, esta actividad minera genera enormes cantidades de materiales peligrosos que suelen llegar a aguas superficiales y al poseer grandes minas activas e inactivas a las cercanías de ríos, presenta un riesgo potencial de contaminación en sus corrientes superficiales (Peña, 2019).

Por ejemplo, en el municipio de Nacozari de García existen terreros de jales abandonados desde principios del siglo pasado, por la antigua concentradora que procesó materiales provenientes de minas, donde se acumulan más de 20 millones de toneladas de desechos mineros. En la caracterización química de estos residuos se ha encontrado presencia de arsénico, calcio, cadmio, plomo, zinc, antimonio, bismuto, molibdeno y cromo (Peña, 2019). Debido a su inestabilidad, contenido de tóxicos como el arsénico y la exposición que tienen hacia la población pueden causar daños ambientales y daños a la salud, esto si sus desechos llegarán a ingresar por el Río Nacozari, afluente del río Moctezuma, que desemboca en la presa del Novillo (Peña, 2019).

En un reporte presentado por el Departamento de Geología de la Universidad de Sonora en 2018, se reportó una distribución limitada de antimonio en el municipio de Tepache y presentaba que el antimonio ocurre en vetas portadoras de metal de plata y minerales de arsénico.

#### **2.1.4. Efectos en el ambiente y ocurrencia del Sb(V)**

El Sb y sus derivados son considerados como contaminantes ambientales peligrosos por la EPA (US Environmental Protection Agency) y de acuerdo con sus reportes el máximo nivel de contaminación permitido es de 6 µg/L siendo este valor menor al máximo permitido para el Arsénico. Sin embargo, la abundancia y biodisponibilidad del Sb en el ambiente son alrededor de 10 veces menor que las del As (Cervantes, 2019).

El Sb se puede encontrar, principalmente, en suelos y sedimentos, su fácil adherencia de partículas a otros metales, como hierro o aluminio, hace posible que viaje grandes distancias por medio de ríos o aguas subterráneas a otros lugares e incluso llegar a brotes de aguas superficiales.

La contaminación en ríos se puede producir por la presencia de compuestos o elementos que normalmente no estarían sin la acción del ser humano o por el cambio en el nivel normal de la concentración de las sustancias ya existentes debido a las acciones humanas.

La especie del antimonio en estado de oxidación pentavalente como Sb(V) suele encontrarse predominantemente en ambientes acuáticos óxicos.

Al encontrarse en ambientes acuáticos, las aguas residuales de las minas y las fundiciones que contienen altos niveles de Sb(V) son fuentes importantes de contaminación que amenazan los ecosistemas de las aguas receptoras, así como la salud humana a través del agua potable y la cadena alimentaria (Li et al., 2022).

Aunque se ha mencionado que el antimonio está presente en el medio ambiente en pequeñas cantidades y con frecuencia no se puede conocer por métodos simples en qué forma se encuentra debido a las bajas concentraciones. En diversos estudios se mencionan datos acerca la explotación y usos del Sb, ocasionando un aumento en la contaminación en algunos países; por ejemplo, en regiones mineras e industriales del suroeste de China, se presentan concentraciones de Sb en agua de más de 29 mg/L y en suelos de más de 2 mg/Kg (Li et al., 2016; Cervantes, 2019).

El antimonio es uno de los componentes traza peligrosos en el agua potable por lo que la Unión Europea, la Organización Mundial de la Salud, Estados Unidos y Japón, presentaron estándares de agua potable para antimonio de 5 µg/L, 20 µg/L, 6 µg/L y 2 µg/L, respectivamente (Jo et al., 2017).

Al conocerse que la toxicidad de la especie del antimonio en forma trivalente Sb(III) es mayor a la pentavalente Sb(V), se puede considerar que buscar la oxidación de Sb(III) a Sb(V) es una manera de biorremediación (Cervantes, 2019).

### 2.1.5. Antimonato y actividad microbiana

Los efectos del antimonio sobre los microorganismos no son descritos con mucho detalle, pero si existen estudios sobre cómo los microorganismos han desarrollado diversos sistemas de resistencia al Sb que les permiten tolerar sus efectos nocivos, como ocurre con otros metales y metaloides tóxicos. Estos sistemas comúnmente son compartidos con el As debido a su similitud química (Cervantes, 2019).

La Tabla I representa un listado de las bacterias que muestran resistencia a los efectos del Sb.

**Tabla I.** Lista representativa de microorganismos con mecanismos resistentes a la presencia de antimonio (Cervantes, 2019).

<b>Especie/Género*</b>	<b>Clasificación</b>	<b>Referencia</b>
Escherichia coli (P)	Enterobacteria	Novick y Roth (1968)
Sthaphylococcus aureus (P)	Firmicutes	Silver y col. (1992)
Sthaphylococcus xylosus (P)	Firmicutes	Rosenstein y col. (1992)
Pseudomonas aeruginosa (P)	Gamma-Proteobacteria	Cervantes y Chávez (1992)
E. coli (C)	Enterobacteria	Carlin y col. (1995)
P. aeruginosa (C)	Gamma-Proteobacteria	Cai y col. (1998)
Synechocystis (C)	Cianobacteria	López-Maury y col. (2003)
Agrobacterium tumefaciens (C)	Alfa-Proteobacteria	Shi y col (2018)

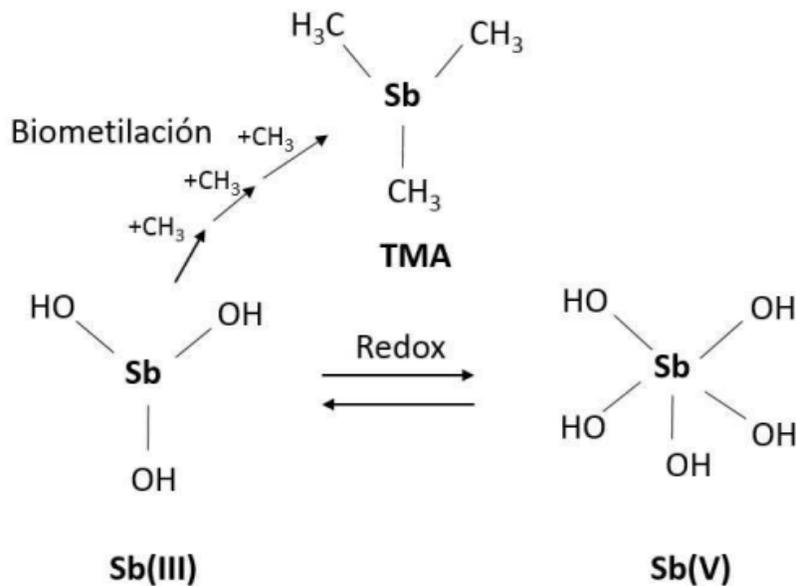
\*P, genes de resistencia a Sb presentes en plásmidos; C, genes cromosómicos.

Al igual que para otros metales y metaloides, como mercurio, selenio y arsénico, se ha encontrado que las transformaciones químicas que experimenta el Sb en el ambiente se relacionan con sus interacciones con microorganismos, los cuales participan activamente en el ciclo biogeoquímico de este elemento (Li et al., 2016).

Dentro de estas interacciones bacterianas podemos encontrarnos con reacciones como se muestra en la figura 1 y observar las reacciones de oxidorreducción del Sb y los procesos de biometilación del Sb(III). Estas transformaciones son parte del ciclo biogeoquímico del metaloide en el cual intervienen de manera importante los microorganismos.

La reducción de Sb(V) a Sb(III) es un proceso que ocurre comúnmente en el ambiente y se da principalmente en condiciones anaeróbicas. Esta transformación redox se lleva a cabo en forma abiótica o en algunos casos con la participación microbiana.

La oxidación microbiana de Sb(III) a Sb(V) es considerada como un proceso de biorremediación por realizar la transformación de una especie química muy tóxica a una forma de menor toxicidad (Cervantes, 2019).



**Figura 1.** Transformaciones químicas del antimonio en el ambiente.

### 2.1.6. Efectos en la salud

Según el informe del Resumen de salud pública de Antimonio (ASTDR,1992) “la mayor parte del antimonio que se encuentra en los sedimentos, los suelos y las rocas está adherida firmemente al polvo y a la tierra o enterrada en minerales. Por esta razón, no es fácil que afecte la salud”.

Sin embargo, la ASTDR en su reseña toxicológica del antimonio presenta que *“La exposición a 9 miligramos de antimonio por metro cúbico de aire (mg/m<sup>3</sup>) durante largo tiempo puede causar irritación de los ojos, la piel y los pulmones. Respirar 2 mg/m<sup>3</sup> de antimonio durante largo tiempo puede causar problemas pulmonares, cardíacos, dolor estomacal, diarrea, vómito y úlceras estomacales”*. Las personas que estuvieron expuestas a una ingesta por bebida de más de 19 ppm de antimonio de una sola dosis vomitaron. No se conoce qué otros efectos de salud pueden ocurrir en las personas que ingieren

antimonio. No existen reportes con datos exactos sobre si el antimonio elemental puede causar cáncer o defectos congénitos que lleguen a afectar la reproducción en los seres humanos, sin embargo, si existen estudios de estos efectos en animales (ATSDR, 1992).

Por otro lado, se han presentado registros que mencionan que compuestos contienen antimonio y que podrían ser carcinogénicos. Como lo menciona la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer “*se ha determinado que el trióxido de antimonio es posiblemente carcinogénico en los humanos, y el trisulfuro de antimonio no es clasificable*” (ASTDR, 2019).

Respirar antimonio cuando se encuentra enlazado con hidrógeno en la fase gaseosa es lo que produce principalmente los efectos sobre la salud.

#### **2.1.7. Toxicidad**

El antimonio (Sb) comparte propiedades químicas y toxicológicas con el arsénico. Su toxicidad depende de su estado de oxidación: es más tóxico el Sb(III) que el Sb(V) (Cervantes, 2019).

Mucha de la información sobre el antimonato Sb(V) se ha extrapolado de los datos reportados para el As, pero se considera que, al menos en algunos aspectos tienen sus características propias.

Aunque se han publicado numerosos estudios sobre la función del Sb en el ambiente, aún se desconocen los detalles de su toxicología y de las transformaciones que experimenta en su ciclo biogeoquímico (Li et al., 2016).

La producción y los usos del antimonio, así como los distintos manejos que se les dan al antimonio pueden generar daños al medio ambiente y estos datos han llevado a la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos a establecer niveles máximos de contaminante de 6 µg/L debido a la toxicidad aguda del Sb (Johnson, 2021).

### **2.1.8. Tratamientos para la eliminación del Sb**

Actualmente existe una gran competitividad entre el uso de tratamientos fisicoquímicos y biológicos para la remoción de metales pesados y metaloides con impacto como contaminantes, siendo estos de gran impacto para el medio ambiente se ha trabajado para buscar mejores opciones para realizar esta tarea. En esta búsqueda, se han encontrado ventajas en el uso de métodos biológicos para la remediación de metales pesados y metaloides, entre las cuales resaltan la baja cantidad de energía requerida, el bajo costo e impacto en el medio ambiente (Garzón et al., 2017).

En los últimos años se ha presentado estudios para lograr remover antimonio, principalmente las especies más predominantes en la naturaleza como Sb(V) y Sb(III).

#### **2.1.8.1. Tratamientos fisicoquímicos**

Los tratamientos fisicoquímicos se caracterizan por utilizar propiedades físicas y químicas de los contaminantes o del suelo para transformar, separar o inmovilizar el contaminante (Vega, 2021).

Estos tratamientos generalmente consisten en procesos como la oxidación/reducción (transformación) de los contaminantes y la solidificación/extracción (inmovilización) de los mismos. Tienen la desventaja que requieren excavaciones en el suelo lo que pudiera significar un costo ambiental y económico.

En base a la bibliografía, se encontró que las tecnologías de eliminación de Sb se dividen principalmente en adsorción, coagulación/floculación, tecnología electroquímica, tecnología de membranas e intercambio iónico (Long et al., 2020).

Long, et al. (2020) menciona que la tecnología de membranas e intercambio iónico logra una alta eficiencia de remoción, sin embargo, la inversión inicial y los

costos operativos impiden el desarrollo de las tecnologías. Las tecnologías de coagulación y electroquímica son los métodos más prácticos, sin embargo, conllevan el riesgo de contaminación secundaria. En su misma revisión concluye que debido a las complejas propiedades del antimonio que incluyen estados de valencia variables y fácil movilidad, no es posible seleccionar una mejor técnica, ya que cada una tiene ventajas e inconvenientes (Long et al., 2020).

Otros autores mencionan que la coagulación con cloruro férrico y la precipitación son los métodos más eficaces y económicos para eliminar el antimonio de una solución acuosa. Además, se ha analizado el efecto sobre la eliminación de Sb usando diferentes proporciones de mezcla de Sb(III), Sb(V) de 0.9/0.1 a 0.1/0.9 mg/L con una carga inicial total de Sb de 1 mg/L. Los resultados indican que la coagulación es una técnica generalmente efectiva para la eliminación de Sb, aunque a proporción mixta de Sb(III) y Sb(V), con una fracción alta de Sb(V), mostró un efecto antagonista sobre la eliminación total de antimonio, esto a pesar de no haber trabajado con concentraciones mayores de 1 mg/L (Inam et al., 2018).

### **2.1.8.2. Tratamientos Biológicos**

Por otro lado, los métodos para remediar el suelo de manera biológica toman el nombre de biorremediación, estos se realizan aprovechando el potencial metabólico de organismos vivos como plantas, bacterias y hongos para eliminar a los metales pesados o contaminantes del suelo (Vega, 2021).

La biorremediación es considerada una tecnología ecológica y de bajo costo, basada en la degradación de contaminantes por procesos microbiológicos, como la bioacumulación, biomineralización, bioprecipitación, biosorción, biolixiviación o biotransformación.

Existen mecanismos utilizados en estos procesos como la sulfato reducción, que esencialmente consiste en la reducción del sulfato y la oxidación del sulfuro,

sulfuro que al lograrse su acumulación y reacción con el metal(oide) logra la precipitación de este.

En condiciones anaeróbicas, el  $H_2S$  producido a través de la reducción de sulfato de BSR puede reducir  $Sb(V)$  a  $Sb(III)$ , junto con la formación posterior de  $Sb(III)$  precipitado  $Sb_2S_3$  (estibina), que disminuye la movilidad de  $Sb$  y su amenaza para el agua potable (Li et al., 2022).

Un estudio reciente mostró la eliminación a altas concentraciones de  $Sb$  en aguas residuales, estas fueron simuladas mediante un cultivo puro de una cepa BSR tolerantes a  $Sb$  que había sido aislada de lodos municipales. La cepa SRB49 pudo eliminar el 95,7 % de  $Sb(V)$  a una concentración de 100 mg/L en 48 h en condiciones óptimas: una temperatura de 37–40°C, un valor de pH inicial de 8 y 4 mM de sulfato. Esta cepa fue identificada como *C. oxamicus* (Li et al. 2022). La literatura nos muestra la viabilidad y capacidad existente de las BSR para la eliminación de  $Sb(V)$ .

En otro estudio, la biorreducción de sulfato por bacterias reductoras de sulfato (BSR) y la reacción redox de  $Sb(V)$  y sulfuro se combinaron para lograr la eliminación de  $Sb(V)$  del drenaje de mina de  $Sb$  en forma de estibina. En este estudio se reportan datos de remoción de 20 a 0,16 mg/L de  $Sb(V)$  en un periodo de siete días de tratamiento con BSR a pH 7 (Wang et al., 2013).

## **2.2 Sulfato-Reducción**

### **2.2.1 Ciclo biológico del Azufre (S)**

La reducción del sulfato mediada biológicamente en ambientes con poco oxígeno es el proceso más dominante en el ciclo del azufre (Figura 2). Los procesos en el ciclo del azufre tienen un fuerte impacto en el medio ambiente, desde pequeña escala hasta a gran escala.

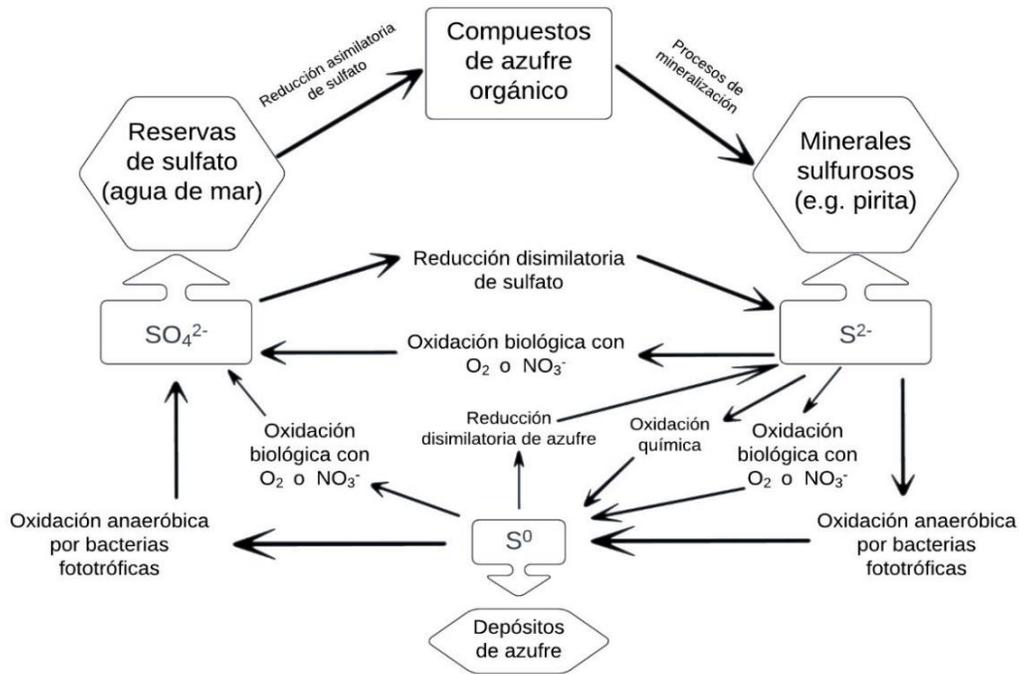
El azufre es un elemento de la naturaleza y a través del proceso de mineralización se transforma en orgánico e inorgánico. Los compuestos inorgánicos del azufre

más relevantes o comúnmente encontrados en medios naturales son sulfuro, polisulfuros, tiosulfato, politionatos, azufre elemental, bisulfito, y sulfato (Martínez, 2008).

Es importante mencionar que estos compuestos inorgánicos de azufre no son sólo producidos por procesos biológicos, procesos abióticos están interconectados con el ciclo biológico del azufre (Martínez, 2008).

Soubie (2019) menciona que los microorganismos que metabolizan el azufre también cumplen funciones esenciales en sus hábitats ya sea degradando o formando biomasa, como lo ejemplifican las actividades degradantes de las bacterias reductoras de sulfato en los sedimentos marinos y las actividades de formación de las bacterias oxidantes del azufre en los respiraderos hidrotermales de aguas profundas.

Es importante mejorar el conocimiento sobre las estimaciones cuantitativas de estos procesos y aprender más sobre sus interdependencias, esto permitirá evaluar mejor en el futuro su impacto ambiental y sus posibles respuestas a los cambios ambientales (Soubie, 2019).



**Figura 2.** Ciclo biológico del azufre (Kuenen y Robertson, 1992).

### 2.2.2 Reducción biológica del Sulfato

El sulfato es la forma más oxidada en la que se encuentra el azufre (+6) y las bacterias sulfato-reductoras lo utilizan como aceptor final de electrones, convirtiéndolo en sulfuro ( $S^{2-}$ ), la forma más reducida. Hay dos formas importantes de distinguir la reducción del sulfato, una es la reducción asimilativa y la otra es la no asimilativa (Martínez, 2008).

La reducción asimilatoria de sulfato no libera sulfuro al ambiente, a excepción de la putrefacción de los organismos muertos (Valdivia, 2017).

Mientras que las bacterias sulfato-reductoras (BSR) son responsables de la reducción no asimilatoria del sulfato, que libera sulfuro al medio.

A gran escala la capacidad de utilizar el ion sulfato como aceptor de electrones para procesos que generan energía implican una reducción del mismo y esta actividad está limitada a las BSR.

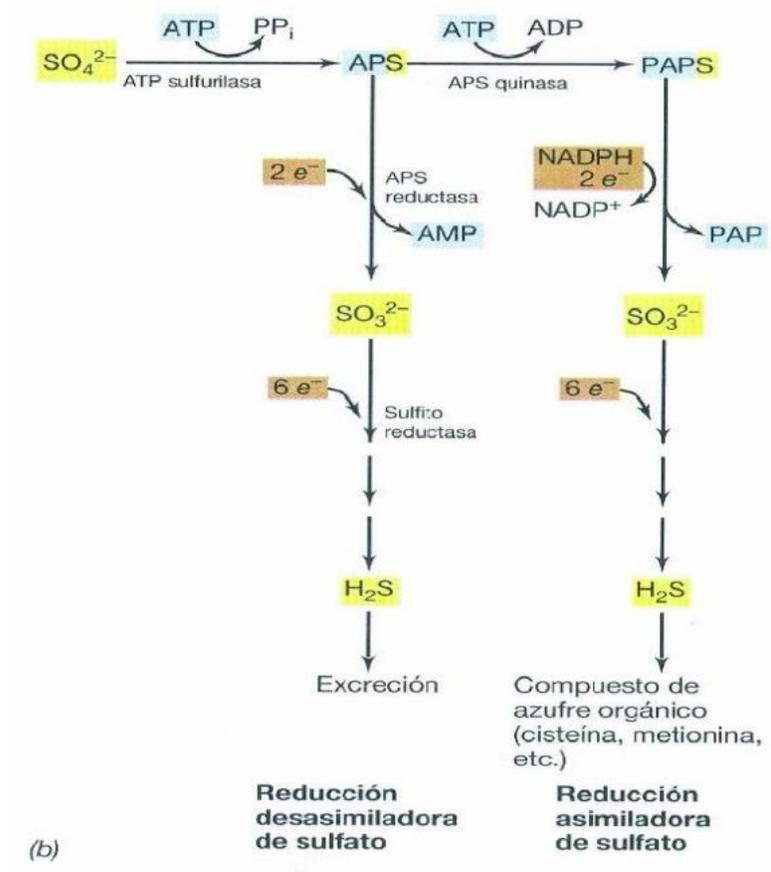
El sulfato es un aceptor de electrones menos favorable que el  $O^2$  o que el  $NO_3^-$ . Sin embargo, cuando se utiliza un donador de electrones que produce NADH o FADH, se dispone de suficiente energía para fabricar ATP (Martínez, 2008).

Se conocen más de 20 géneros de bacterias reductoras desasimilatorias, de las cuales se distinguen dos grupos:

El grupo (a): que comprende las especies que oxidan incompletamente sus sustratos hasta acetato y lo acumulan. Algunos ejemplos son: *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobotulus*, *Desulfofustis*, *Desulfotomaculum*, *Desulfomonile*, *Desulfobacula*, *Archaeoglobus*, *Desulfobulbus*, *Desulforhopalus*, *Thermodesulfobacterium*.

El grupo (b): incluye las especies que en principio son capaces de oxidar compuestos orgánicos, como el acetato, completamente a  $CO_2$ . Algunos ejemplos son: *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, *desulfosarcina*, *Desulfoarculus*, *Desulfacinum*, *Desulforhabdus* y *Thermodesulforhabdu*.

Los sustratos orgánicos comunes, utilizados como donadores de electrones y fuente de carbono, para las BSR son: acetato, lactato, propionato. Para la elección de la fuente de carbono es importante tener en cuenta aspectos como, su precio, su disponibilidad local, el costo del tratamiento del agua residual, la conveniencia para el tratamiento de un agua residual o agua de proceso específica (dependiendo de su volumen, composición, temperatura, pH y salinidad) (Bijmans, 2008).



**Figura 3.** Bioquímica de la reducción del sulfato (Martínez, 2008).

Dado que el sulfato es una molécula muy estable, primero debe ser activada a cargo de dos moléculas de ATP por cada molécula de sulfato. Esta activación es catalizada por la ATP sulfurilasa para producir APS. En el caso de la reducción desasimilativa, APS es reducido directamente a sulfito y este es convertido en varias etapas hasta H<sub>2</sub>S, figura 5. Se destaca el hecho que H<sub>2</sub>S es siempre el producto final y la reducción incompleta del sulfato no ha sido reportada (Martínez, 2008).

### 2.2.3 Origen de compuestos inorgánicos

El sulfuro se forma como producto principal de la respiración de sulfato por bacterias bajo condiciones anaerobias, cuando la materia orgánica y el sulfato no son limitantes. Otros compuestos de azufre como tiosulfato y azufre elemental pueden servir como aceptores de electrones para la respiración produciéndose sulfuro (Martínez, 2008).

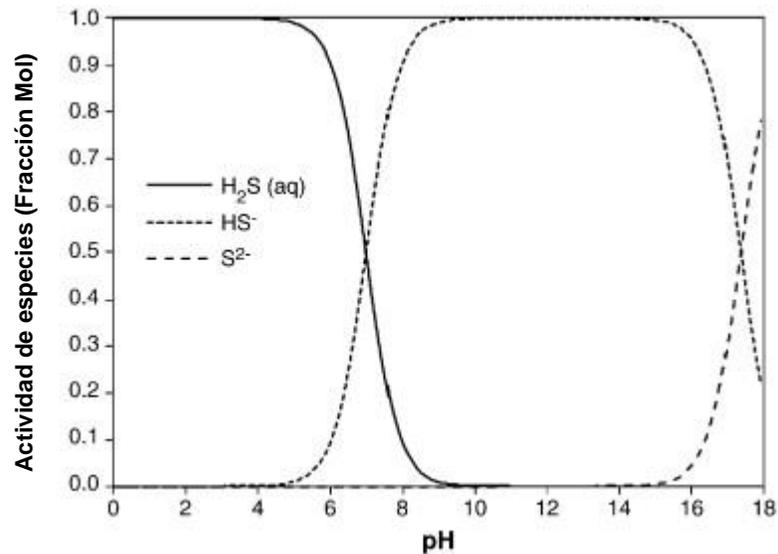
La forma más estable del azufre bajo condiciones anaerobias es el sulfuro.

La disociación del sulfuro de hidrógeno en agua se presenta de acuerdo con las siguientes ecuaciones:



(H<sub>2</sub>S=ácido sulfhídrico, HS<sup>-</sup>=ión hidrosulfuro, S<sup>2-</sup>=ión sulfuro)

La toxicidad del sulfuro tiene dependencia directa con el pH. Podemos encontrar en la fase líquida que el sulfuro total disuelto está presente en la forma no disociada (H<sub>2</sub>S) y como HS<sup>-</sup>, dado que el valor de pK<sub>a</sub> está cerca de 7 (Figura 4), una pequeña variación en el pH en el intervalo de 6-8 afectaría significativamente la concentración de sulfuro libre no disociado H<sub>2</sub>S (Martínez, 2008).



**Figura 4.** Dependencia del pH en la especiación del sulfuro (Lewis, 2010).

Por otro lado, el azufre elemental es formado por la acción de bacterias oxidantes del sulfuro. En algunas especies es el producto final de la oxidación. Contiene más unidades de azufre por masa que cualquier otra forma química.

También se encuentran, el tiosulfato, sulfito, tetracionatos y polisulfuros, como compuestos relevantes del azufre.

#### 2.2.4 Bacterias sulfato-reductoras

Las BSR son microorganismos anaerobios obligados, metabólicamente versátiles provenientes de varias familias y diferentes géneros. Utilizan sulfato u otros compuestos oxidados de azufre como aceptor final de electrones (agente oxidante) para la producción de H<sub>2</sub>S. Pueden crecer de forma heterotrófica usando moléculas orgánicas de bajo peso molecular y de manera autotrófica usando hidrógeno y dióxido de carbono (Nagpal et al., 2000).

Se ha encontrado que estas bacterias tienen la capacidad de reducir hidrocarburos, como el petróleo. Por otro lado, se han utilizado para limpiar

suelos contaminados y también son usadas para lidiar con aguas ácidas de minas producidas por otros microorganismos.

Las BSR son notablemente adaptables y pueden ser encontradas en numerosos ambientes terrestres y acuáticos en los que se ha agotado el oxígeno debido a la descomposición aeróbica de la materia orgánica. Se encuentran principalmente en ambientes anóxicos ricos en sulfatos. Han sido descubiertas en suelos, lodos de estuarios, en aguas dulces, de alcantarillado, marinas, salobres, termales y áreas geotermales, depósitos de sulfuro, en pozos petroleros y de gas, y en el intestino de mamíferos e insectos (Postgate, 1984).

Las BSR se pueden clasificar en función de su capacidad funcional para oxidar los compuestos orgánicos completa o incompletamente. Cuando se habla de BSR completas, se hace referencia a que estas tienen la capacidad de oxidar los compuestos orgánicos completamente a  $\text{CO}_2$  incluyendo al acetato, es ahí cuando se llega a la mineralización. Por el contrario, al hablar de la oxidación incompleta de los sustratos orgánicos se debe a la falta de un mecanismo para la oxidación terminal del acetyl-CoA, por lo sólo degrada el lactato a acetato.

Un factor muy importante en la actividad de las BSR es la temperatura del medio en el que se desarrollan. La mayoría de las BSR son mesófilas, es decir, con un crecimiento óptimo en el rango de temperatura de 25 a 40 °C, aunque a temperaturas mayores a 35°C se comienza a ver una actividad de inhibición.

### **2.2.5 Efecto del pH**

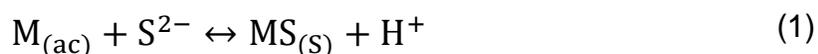
El efecto del pH en la competencia de los grupos bacterianos está directamente relacionado con el rango óptimo de crecimiento. Se ha encontrado mayor actividad para BSR a un pH entre 6.0 y 9.0, se ha reportado que en lodos granulares las BSR presentan mayores velocidades de crecimiento a pH superiores a 7.5. Sin embargo, se han encontrado mejoras en el crecimiento de

las BSR en un rango óptimo relativamente estrecho (entre 7,0 y 7,8) (Valdivia, 2017).

Un estudio realizado en 2013 sobre la eliminación de Sb(V) en drenajes de minas, muestra la influencia del pH en el desarrollo de las BSR para llevara a cabo la reducción biológica. El pH de crecimiento óptimo para BSR fue 7, seguido de pH 9 y pH 5 a los que se encontraban los experimentos. Para una concentración inicial de 20 ppm y a un pH de 9 el porcentaje de remoción fue 84.6%. A un pH de 7 se alcanzó un 99% de remoción, siendo este último el que obtuvo mejores resultados (Wang et al. 2013).

### **2.2.6 Sulfato-reducción como opción para tratamiento de metal(oid)es.**

Las bacterias sulfato reductoras son capaces de generar sulfuros por medio de la reducción de sulfatos y estos sulfuros pueden precipitar con los metaloides que estén presentes en el medio y así lograr separarlos del medio acuoso en el que se encuentren, tal como se muestra en la reacción 1.



Wang, et al (2013) señaló que tan solo en siete días de tratamiento bajo condiciones con BSR a un pH de 7, redujeron la concentración de Sb(V) de 20 a 0.16 mg L<sup>-1</sup>, es decir de 20 a 0.16 ppm, este mismo afirma que este es un proceso biológico rentable para eliminar el Sb(V) de las aguas residuales cargadas de sulfato.

La reducción de antimonato para lograr buscar sulfuro de antimonio puede estar influenciada por varios factores como lo menciona Zhu, et al (2018), por ejemplo la tasa de reducción máxima aumentó en función de la concentración de antimonio. Sus resultados indican, que cuando la concentración inicial de Sb(V)

aumentó a 0.6 mM o más, la tasa de reducción disminuyó drásticamente durante el tiempo de reacción, especialmente después de las primeras 7 horas. Sin embargo, cuando la concentración inicial de Sb(V) fue de 0.2 mM, el tiempo de reacción para la reducción completa fue tan corto como 2 h (Zhu et al., 2018).

A la fecha varios estudios han documentado los resultados o viabilidad de la aplicación de bio-reducción para llegar a la remoción del metaloide (Li et al., 2022; Wang et al., 2013; Zhu et al., 2018).

Otro caso de estudio realizado en 2021, concluye con que la reducción de Sb(V) a Sb(III) en biorreactores puede resultar de la reducción microbiana directa como de procesos bióticos/abióticos acoplados. En un biorreactor de sistema de antimonio y sulfato, con lactato como fuente de carbono, el consumo de sulfato por bacterias sulfato reductoras desasimilatorias, fue concurrente con la formación de  $Sb_2S_3$ , consistente con la reducción de Sb(V) y la formación de  $Sb_2S_3$  por sulfuro disuelto (Johnson et al., 2021).

### **3. Metodología Experimental**

#### **3.1. Inóculo**

Se utilizó como inóculo lodo anaerobio de un reactor de la planta de tratamiento de una industria cervecera ubicada en la Ciudad de Obregón, Sonora.

#### **3.2. Aclimatación del lodo anaerobio.**

La activación de las BSR se promovió alimentando el inóculo con un litro de medio de cultivo Posgate-B modificado (Tabla 2), y se incubó por varios días a temperatura ambiente. El medio de cultivo fue reemplazado al cabo de dicho periodo, repitiendo el ciclo hasta el inicio de los experimentos.

### 3.3. Determinación de sólidos suspendidos volátiles.

Se llevó a cabo la determinación de sólidos suspendidos volátiles (SSV) de acuerdo con el método establecido por la NMX-AA-034-SCFI-2015. La concentración de SSV obtenida de la determinación fue de 48.41 g/L, este valor se empleó para conocer la cantidad de gramos de lodo a utilizar en los experimentos posteriores.

### 3.4. Preparación de solución stock de Sb(V)

La fuente de Sb(V) adicionada en los experimentos fue a partir del hexahidroxiantimonato de potasio ( $\text{KSb}(\text{HO})_6$ ), con un estándar de 2000 mg Sb(V)/L (Tabla I), de acuerdo a las concentraciones objetivo de 50, 100 y 200 mg Sb(V)/L.

**Tabla II.** Concentraciones de Sb(V) para cada etapa experimental.

<b>Etapas</b>	<b>Condición de Sb(V) (mg/L)</b>	<b>mL a agregar a una solución de 2000 (mg/L)</b>
1	50	2.5
2	100	5
3	200	10

### 3.5. Preparación de experimentos en lote para la remoción de Sb(V)

Para montar los experimentos en lote se calcularon las cantidades de cada componente (inóculo, medio de cultivo, lactato y antimonio) de acuerdo al diseño experimental.

El medio de cultivo sulfato-reductor utilizado fue el Posgate-B modificado (Permech et al. 2019) el cual contiene las siguientes sales y compuestos descritos en la Tabla II.

**Tabla III.** Composición del medio de cultivo Posgate-B modificado.

Reactivo	g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5
NH <sub>4</sub> Cl	1
CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.1
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1
Extracto de levadura	1

\*Las cantidades mencionada en la tabla son agregadas por cada litro de medio.

La fuente de carbono utilizada fue lactato de sodio a una concentración de 10 mM. Durante cada cambio de etapa se inyectó nuevamente lactato como fuente de carbono a la concentración 10 mM.

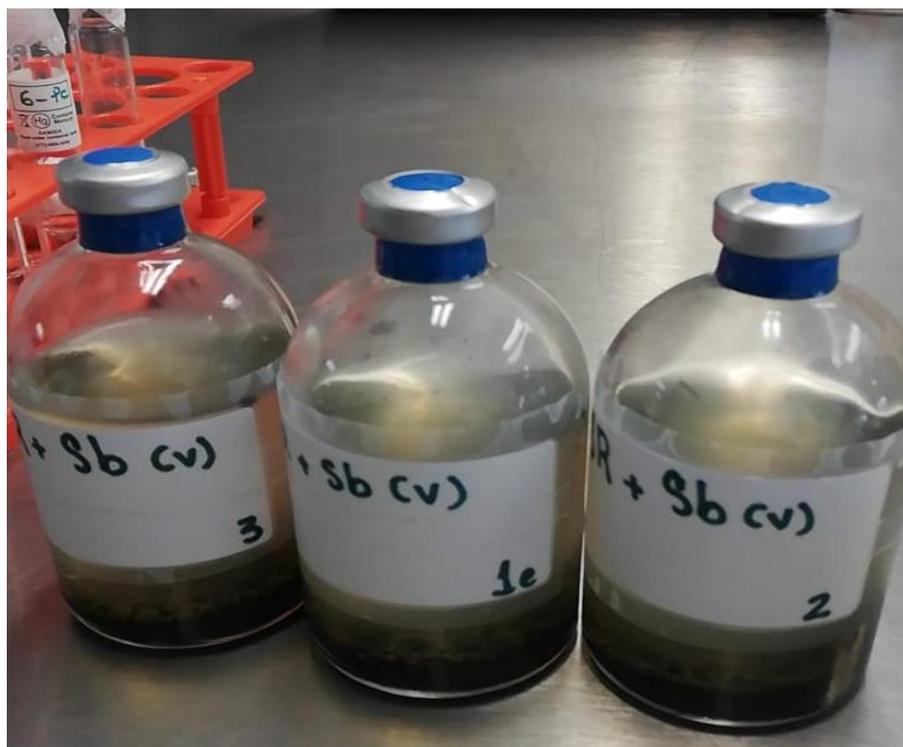
El experimento fue realizado con volumen de trabajo de 100 mL en botellas serológicas de 120 mL, por triplicado. Se agregaron 2 gSSV/L, medio posgate-B modificado y posteriormente se realizó un burbujeo con una mezcla de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> proporción (80-20), una vez realizado el burbujeo se cerraron las botellas con tapones de butilo y se sellaron con crimps de aluminio. Seguidamente, se realizó el desplazamiento de oxígeno con la misma mezcla de gases mencionada.

Finalmente, se inyectó a las botellas correspondientes, lactato 10 Mm y la cantidad adecuada de solución de Sb(V), de acuerdo con la etapa experimental (Tabla 1).

Los cambios de etapa para aumentar la concentración de Sb(V) se realizaron al alcanzar una reducción del sulfato  $\geq 60\%$ . En cada cambio de etapa se inyectó la concentración de sulfato para alcanzar un valor inicial de 1500 mg/L.

Se establecieron experimentos de control, a los cuales se les inyectó solamente lactato con la finalidad de medir la actividad sulfato-reductora del inóculo sin la exposición al Sb(V).

Todos los experimentos se incubaron a 30 °C y se tomaron muestras para documentar la evolución de pH, sulfato, sulfuro y Sb(V).



**Figura 5.** Experimentos en lote sin adición de antimonato.



**Figura 6.** Experimentos en lote con antimonato.

### **3.6. Técnicas analíticas**

Las técnicas empleadas en este experimento fueron utilizadas para medir las concentraciones de sulfato, sulfuro, Sb(V) y la medición del pH. Estas técnicas analíticas se desarrollaron de inicio a fin del experimento y se explicarán a detalle a continuación.

#### **3.6.1. Determinación de Sulfato**

Se utilizó el método glicerol (APHA, 1998) para medir sulfato en muestras líquidas, con volumen total de 20 mL, se añadió 1 mL de solución buffer y 0.1 g de cloruro de bario.

Una vez concluido el tiempo de espera, se determinó la absorbancia a 420 nm en un espectrofotómetro (Marca HATCH company, modelo DR 3900).

### 3.6.2. Determinación de sulfuro disuelto en muestras líquidas

La muestra debe leerse inmediatamente después de ser recolectada.

El sulfuro disuelto fue determinado por medio de la reacción de sulfato de cobre (Cord-Ruwisch, 1985). Primero se prepararon tubos Hach con 4 mL de solución de reactivo de trabajo que contenía  $\text{CuSO}_4$  5 mM y HCl 50 mM, 0.1 mL de muestra y se determinó la absorbancia a 480 nm en un espectrofotómetro (Marca HATCH company, modelo DR 3900).

### 3.6.3. Determinación de Sb(V)

El equipo utilizado para medir el metal fue un espectrofotómetro de emisión atómica (Agilent, Modelo 4210-MP-AES) a una longitud de onda de 206.833 nm. Las muestras se prepararon en tubos de centrifuga con un volumen total de muestra a 10 mL, obteniendo un factor de dilución de 10, por lo cual se agregaba 1 mL de muestra y 9 mL de  $\text{HNO}_3$  al 2%.



**Figura 7.** Botella con precipitados observables en botella de medio sulfato reductor y Sb(V).

### **3.6.4. Medición del pH**

El equipo utilizado para medir el pH fue un potenciómetro (Marca HANNA, modelo HI 22118). Al encender el equipo se realizó la calibración con dos buffers distintos con valores de pH 4 y 7, esto se realizó antes de medir la muestra con el potenciómetro.

Una vez realizada la calibración se procedía a medir la sustancia o muestra seleccionada, introduciendo el electrodo al menos 2 cm en el tubo de muestra (óptimamente se piden 4 cm) para una correcta lectura y estabilizado el equipo se registró el valor arrojado del pH en pantalla. Al cambiar de muestra se enjuagaba con agua destilada el electrodo para evitar errores en las futuras lecturas.

## **4. Resultados y Discusión.**

### **4.1. Efecto de Sb (V) en la sulfato-reducción**

Durante las etapas se observó que a medida que aumentaba la concentración de Sb(V), los tiempos de duración de estas se alargaban.

Sin embargo, los resultados mostraron que las etapas lograron continuar reduciendo el sulfato, esto tomando en cuenta la condición de cambio de etapa establecida de consumo de  $\geq 60\%$  sulfato.

Con base en la literatura, se sugiere que las BSR comienzan un proceso de adaptación a las concentraciones crecientes de cada etapa de Sb(V). Sin embargo, la actividad sulfato-reductora continuó como lo indican los resultados mostrados en la Tabla IV. Podemos asumir que las BSR son resistentes al menos a las concentraciones probadas en estas etapas experimentales.

Aunque esta investigación no se realizó con géneros específicos de bacterias, se conocen estudios donde confirman que hay cepas específicas resistentes a la adición de antimonio, como lo presentaron en su trabajo Li, et al. (2022).

La duración de la primera, segunda y tercera etapa, en los experimentos con la adición de Sb(V), fueron de 7, 11 y 14 días respectivamente, donde alcanzaron porcentajes de reducción de sulfato del 65% en la primera etapa y 74% para la segunda y tercera etapa.

En contraste, en los experimentos control, los tiempos de la primera, segunda y tercera etapa fueron de 7, 8 y 11 días respectivamente. Se alcanzó un porcentaje de reducción de sulfato del 66%, 90% y 89% para cada etapa.

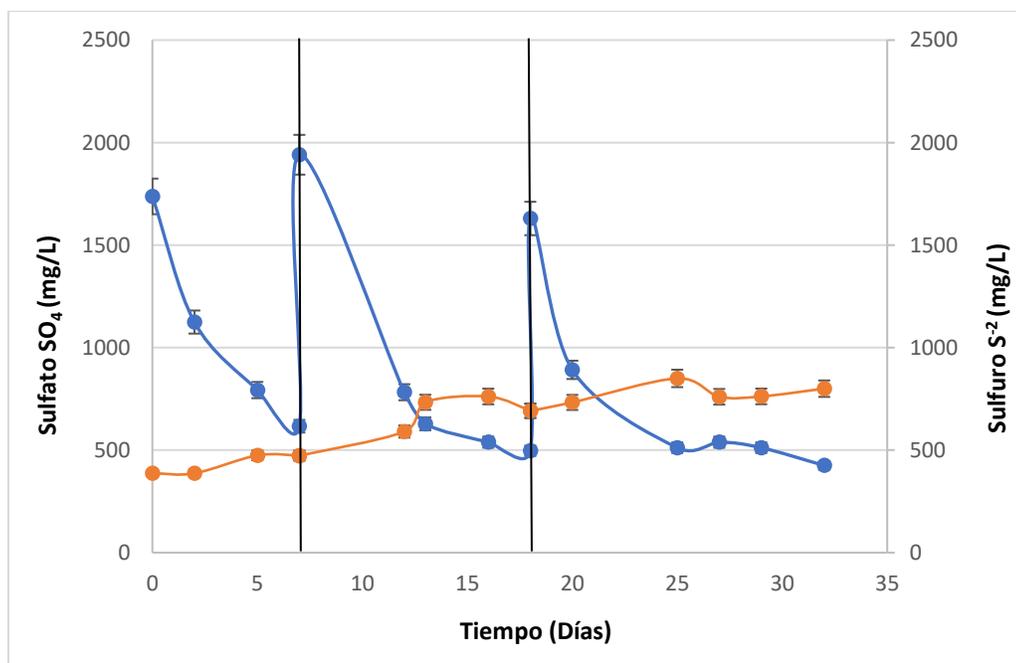
En el caso de los experimentos control la duración de las etapas fue, en promedio, similares y con una duración menor en comparación con los experimentos que contenían Sb(V) (Tabla V).

Las tiempos y porcentajes de sulfato removido por cada etapa demuestran que las BSR son más eficientes al encontrarse en condiciones óptimas, como es el caso de los controles (sin antimonio). Por otro lado, los resultados sugieren que los tiempos y porcentajes de sulfato removido son afectados por la presencia de Sb(V).

El consumo de sulfato presentó una relación con la reducción de sulfuro; se manejó un valor fijo de sulfato inicial, sin embargo, el estudio realizado por Zhu, et al. (2018), mostró que a mayor concentración de sulfato en el medio acuoso mayor era la respuesta de remoción del antimonio. En dicho estudio, las concentraciones probadas de sulfato se incrementaron de 0.1 hasta 2 mM, siendo la prueba con una concentración de sulfato 2 mM la que arrojó mejores resultados.

**Tabla IV.** Concentraciones iniciales y finales de sulfato y sulfuro por cada etapa experimental a concentraciones crecientes de Sb(V).

Medio SR + Sb(V)	Tiempo por etapa	Sulfato (mg/L)		% sulfato consumido	Velocidad de Sulfato- reducción	Sulfuro (mg/L)	
		Inicial	Final			Tasa ( $\frac{\text{mg}}{\text{L.día}}$ )	inicial
1ra (50)	7	1737.52	616.461	65%	160.15	386.92	473.09
2da (100)	11	1940.81	496.881	74%	131.19	590.60	691.76
3ra (200)	14	1629.90	425.133	74%	86.05	732.63	803.14

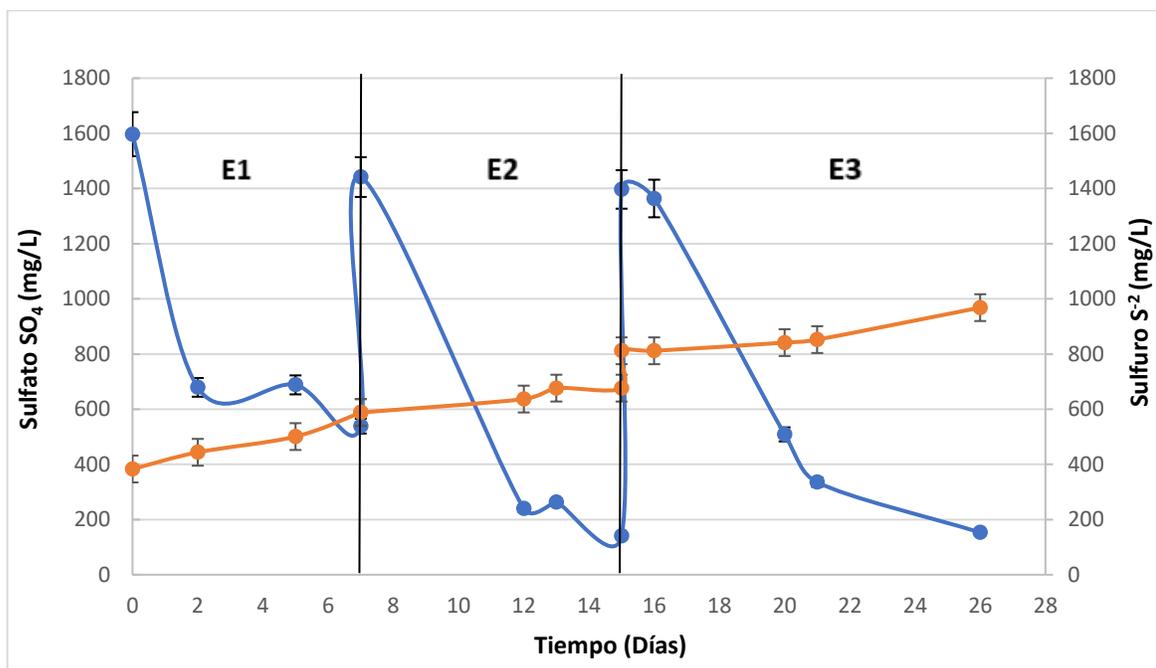


\*Línea azul representa [sulfato]. \*Línea naranja representa [Sulfuro]. \*Los puntos representan la media de tres muestras repetidas y las barras de error representan  $\pm$  desviación estándar. La ausencia de barras indica que el error es menor que el símbolo.

**Figura 8.** Producción de sulfato y sulfuro en botellas con Sb(V) respecto al tiempo en las diferentes etapas experimentales.

**Tabla V.** Concentraciones iniciales y finales de sulfato y sulfuro por cada etapa experimental de los controles.

Controles	Tiempo por etapa	Sulfato (mg/L)		% sulfato consumido	Velocidad de Sulfato-reducción	Sulfuro (mg/L)	
		Inicial	Final			Tasa ( $\frac{\text{mg}}{\text{L.día}}$ )	inicial
1ra	7	1597.02	538.73	66%	151.18	383.18	588.11
2da	8	1441.56	141.13	90%	170.49	588.11	676.43
3ra	11	1369.72	153.09	89%	188.22	811.75	968.26



\*Línea azul representa [sulfato]. \*Línea naranja representa [sulfuro] \*Los puntos representan la media de tres muestras repetidas y las barras de error representan  $\pm$  desviación estándar. La ausencia de barras indica que el error es menor que el símbolo.

**Figura 9.** Producción de sulfato y sulfuro en controles respecto al tiempo en las diferentes etapas experimentales.

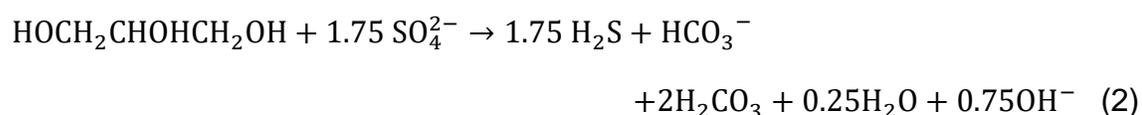
La figura 8 muestra la producción de sulfato y sulfuro durante las tres etapas experimentales para el tratamiento con Sb(V), se puede observar el aumento de la producción de sulfuro biológico correspondiente a la remoción de sulfato.

Por otro lado, la figura 9 muestra la producción de sulfato y sulfuro durante las tres etapas experimentales de los controles, donde se puede observar el aumento de la producción de sulfuro biológico en etapas generalmente regulares con respecto a sulfuro-tiempo.

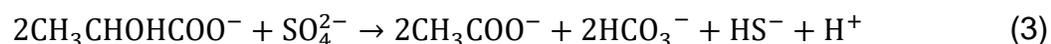
#### 4.2. Consumo de Lactato y producción de acetato.

Los resultados del acetato final medidos para cada etapa nos muestran que las cantidades de acetato son mucho menores en comparación a la concentración que se debió producir teóricamente. De acuerdo con la Tabla VI, la diferencia entre el acetato medido final y el teórico son, 546.82 mg/L, 566.11 mg/L y 538.62 mg/L para la primera, segunda y tercera etapa, respectivamente.

Los datos obtenidos sugieren que el acetato fue consumido o degradado por microorganismos capaces de realizar la sulfato-reducción completa como se muestra en la reacción 2.



Por el contrario, la oxidación incompleta de los sustratos orgánicos se debe a la falta de un mecanismo para la oxidación terminal del acetyl-CoA, por lo que sólo degrada el lactato a acetato como se muestra en la reacción 3.



**Tabla VI.** Evaluación de la diferencia de concentraciones de lactato y acetato producido en la actividad sulfato-reductora.

<b>Etapas (ppm)</b>	<b>Sulfato consumido (mg/L)</b>	<b>Lactato consumido final (mg/L)</b>	<b>Acetato a producir teórico* (mg/L)</b>	<b>Acetato final medido (mg/L)</b>	<b>Diferencia acetato medido y teórico (mg/L)</b>
1 (50)	1,121.06	886.10	580.76	33.95	546.82
2 (100)	1,443.92	882.49	578.40	12.29	566.11
3 (200)	1,204.77	855.31	560.58	21.96	538.62

\*El acetato a producir teórico se calculó con la reacción correspondiente a la Ecuación 3.

#### 4.3. Influencia del pH

De manera general, los valores de pH medidos en cada etapa (Tabla VII), para las dos condiciones experimentales, se mantuvieron dentro del rango óptimo que favorece el crecimiento de las bacterias sulfato reductoras. El pH en los experimentos con Sb(V) varió, en promedio, solamente 0.3 unidades en comparación con los experimentos control.

Aunque se observaron ligeras variaciones del pH entre las etapas, se restablecía dentro del rango óptimo antes mencionado.

**Tabla VII.** Valores de pH inicial y final por cada etapa experimental.

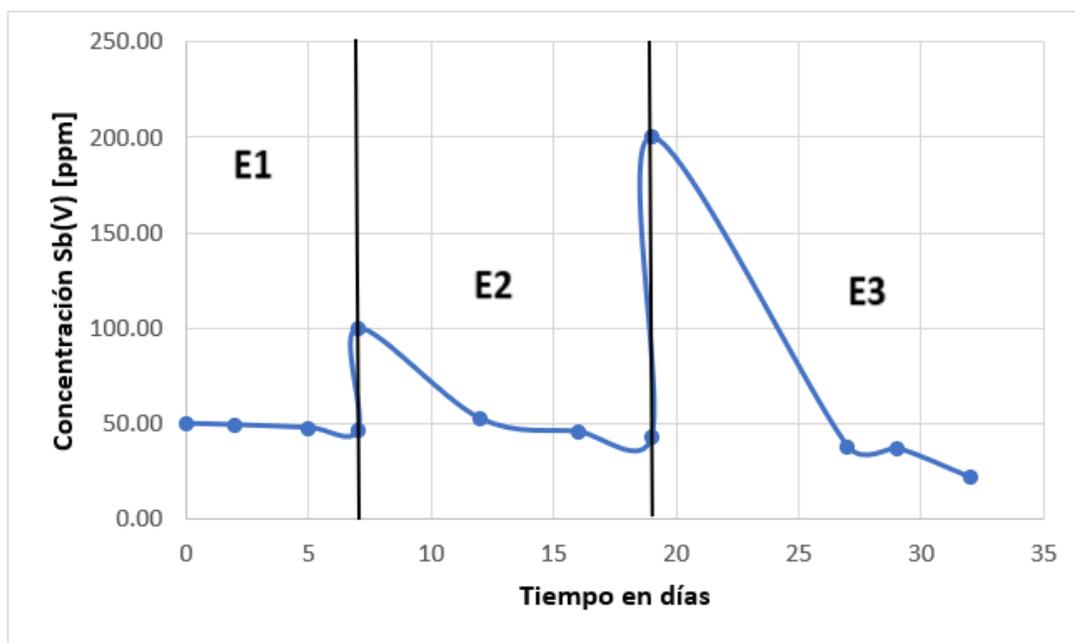
<b>pH medido</b>	<b>Experimento Sb(V)</b>		<b>Controles</b>	
	<b>inicial</b>	<b>final</b>	<b>inicial</b>	<b>final</b>
<b>Etapas</b>				
1ra	7.82	7.58	7.76	7.86
2da	7.63	8.05	7.74	7.59
3ra	7.75	7.75	7.69	7.86

En el trabajo publicado por Wang, et al. (2013) se registró que en una comparación de experimentos utilizando biorreactores probados a diferentes valores de pH, aquel que se trabajó a valor de 7, logró remover el 99% de Sb a una concentración de 20 ppm. Aunado a eso, en la literatura se demuestra un mejor ambiente de desarrollo y crecimiento para las BSR en ambientes neutros a ligeramente alcalinos, y específicamente mejor en aquellos en un intervalo de pH de 7 a 7.8 (Valdivia, 2017).

#### **4.4. Remoción del Sb(V)**

Los resultados de medición de antimonio mostraron que la eficiencia de remoción aumentó al incrementar la concentración de Sb(V), es decir que hubo mayor porcentaje de remoción en la última etapa con 200 ppm. En la Tabla VIII podemos observar que las concentraciones finales para la primera, segunda y tercera etapa fueron 46.65 ppm, 43.43 ppm y 21.77 ppm respectivamente.

Los porcentajes finales de remoción muestran un aumento de más del 100% del porcentaje de remoción de la primera etapa con respecto a las consecutivas. Para la primera etapa el porcentaje de remoción fue del 6.7%, la segunda obtuvo un valor de 56.57% y 89.12% para la etapa final. Los resultados de los porcentajes de remoción indican que a mayor concentración inyectada mayor porcentaje de remoción.



\*Los puntos representan la media de tres muestras repetidas y las barras de error representan  $\pm$  desviación estándar. La ausencia de barras indica que el error es menor que el símbolo.

**Figura 10.** Medición de la concentración de Sb respecto al tiempo de cada etapa experimental.

La Figura 10 muestra que en cada etapa a mayores concentraciones iniciales se obtienen menores concentraciones finales con respecto a cada etapa.

**Tabla VIII.** Medición del Sb(V) removido total por etapa en [ppm] y porcentaje.

Etapa	Valor inicial*[ppm]	Concentración final [ppm]	Sb inicial - Sb final [ppm]	% de remoción de Sb(V)
1ra	50	46.65	3.35	6.70%
2da	100	43.43	56.57	56.57%
3ra	200	21.77	178.23	89.12%

Valor inicial\* es el valor teórico calculado que se inyectó al inicio de cada etapa.

En la investigación sobre la aplicación del mecanismo de la sulfato-reducción para la remoción de Sb(V) se encuentran resultados favorables para los casos de estudios y experimentos particulares.

En la Tabla IX, se comparan los resultados obtenidos en trabajos similares con los obtenidos en esta investigación, tomando en cuenta, principalmente, el porcentaje máximo de remoción de Sb(V).

También se consideran las diferencias de cada trabajo para lograr tener un panorama más amplio en la aplicación de este mecanismo de sulfato-reducción. En este sentido, una de las principales diferencias que podemos encontrar son los intervalos de concentraciones utilizadas en los diferentes trabajos.

Otra de las diferencias importantes que se observan, es que algunos trabajos involucran cepas aisladas o bacterias específicas, los cuales presentarían ventajas en comparación con consorcios no especializados.

Sin embargo, esto puede requerir cuidados especiales y adecuaciones operativas que pudieran tener costo extra.

Otro aspecto importante de comparación es el tiempo en el cual se alcanzaron los porcentajes de remoción máxima, con relación a las concentraciones utilizadas.

Por ejemplo, en el caso de estudio de Chen, et al. (2019) la concentración utilizada de Sb(V) fue baja, entre 1 y 5 ppm, durante 265 días en un biorreactor, esto sin mencionar que el porcentaje de remoción de antimonato varió a lo largo del experimento.

En el trabajo reportado por Johnson, et al. (2021) utilizaron una concentración alta de Sb(V), de 243 ppm, alcanzando una remoción máxima del 65% a los 21 días, pero desde el día 16 se menciona que el porcentaje de remoción no varió significativamente.

**Tabla IX.** Tabla comparativa de artículos de remoción de Sb(V) utilizando sulfato-reducción.

Referencia	Concentraciones utilizadas [Sb V] ppm	Máximo % Remoción	Diferencias del tratamiento
<b>Chen, et al., 2019.</b>	5	<b>99%</b>	Lactato y etanol como fuente de carbono. Realizado en reactor durante 265 días.
<b>Li, et al., 2022.</b>	100 a 400	<b>95 - 58%</b>	Cepa enriquecida y aislada de BSR. Estudios moleculares de caracterización.
<b>Wang, et al., 2013.</b>	24.9	<b>99.00%</b>	Se utilizó drenaje de mina de Sb(V) sintético. Concentración única de Sb(V).
<b>Johnson, et al., 2021.</b>	243	<b>65%</b>	Máxima remoción en 21 días. Cambios en poblaciones microbianas presentes.
<b>Tesis presente</b>	50, 100 y 200	<b>89.12%</b>	Altas concentraciones de Sb(V). Sulfato-sulfuro en actividad de remoción.

#### **4.5. Reacción de precipitación del Sb(V)**

La literatura nos presenta las posibilidades que existen al implementar la sulfato-reducción como mecanismo para recuperar los precipitados de metales, de la misma forma que para metaloides.

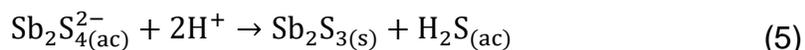
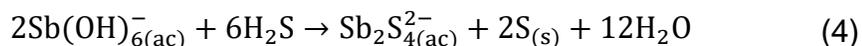
Los sulfuros de antimonio precipitados se pueden recuperar y volver a utilizar en otros procesos industriales, como lo es caso de la estibina ( $Sb_2S_3$ ) que es la principal fuente comercial del antimonio. Esta es una manera en que se puede

tomar ventaja del metabolismo de las BSR para depurar medios acuosos que se encuentren contaminados por Sb(V) y en altas concentraciones de sulfato. (Campos, 2015)

La reacción utilizada (Reacción 3) nos muestra que se formó sulfuro biogénico a partir del sulfato por medio de las BSR. (Chen et al., 2020)

Se propone que el Sb(V), en forma de  $\text{Sb}(\text{OH})_6$  en solución, sea reducido químicamente por el  $\text{H}_2\text{S}$  molecular biogénico a Sb(III), para formar complejos sulfúricos de Sb(III),  $\text{Sb}_2\text{S}_4$ , como se muestra en la reacción 4. El complejo  $\text{Sb}_2\text{S}_4$  se puede transformar rápidamente en  $\text{Sb}_2\text{S}_3(\text{s})$  (Reacción 5) (Chen et al., 2020).

La hipótesis de que todo el Sb(V) es convertido a Sb(III) es tomada en cuenta para fines prácticos de los cálculos, esto porque es difícil diferenciar experimentalmente la especiación.



Los resultados del sulfuro muestran que se utilizó mayor concentración de sulfuro biogénico conforme las concentraciones de Sb(V) aumentaban. Sin embargo, la producción de sulfuro que no se utilizó es mayor a la requerida estequiométricamente para precipitar al antimonio presente, tal como lo muestra la tabla X.

Estos datos obtenidos pueden sugerir que la capacidad de remoción de Sb(V) es aún mayor a las concentraciones estudiadas en este trabajo.

**Tabla X.** Resultados del Sb teórico inicial y total removido con el sulfuro producido experimentalmente en cada etapa.

<b>Etapa</b>	<b>Sb(V) removido<sup>1*</sup> [ppm]</b>	<b>Sulfuro experimental obtenido (ppm)</b>	<b>Sulfuro requerido estequiométrico<sup>2*</sup> (ppm)</b>	<b>Sulfuro consumido experimental<sup>3*</sup> (ppm)</b>	<b>Sulfuro que no se utilizó<sup>4*</sup> (ppm)</b>
<b>1ra</b>	3.35	166.01	41.96	<b>2.81</b>	163.20
<b>2da</b>	56.57	381.87 <sup>5*</sup>	83.92	<b>47.47</b>	334.40
<b>3ra</b>	178.23	442.37 <sup>6*</sup>	167.84	<b>149.57</b>	292.80

1\* Sb Inicial - Sb leído final [ppm]. 2\* Sulfuro necesario estequiométricamente para remover el Sb(V) inyectado inicialmente [50, 100 y 200 ppm]. 3\* Sulfuro que se utilizó para remover el Sb(V) total medido experimentalmente (Sb inicial -Sb final) [ppm]. 4\* Sulfuro sin utilizar en la reacción con Sb(v) de acuerdo con la cantidad de sulfuro experimental producida de cada etapa. 5\* y 6\* El sulfuro experimental de la 2da y 3ra etapa consideran la acumulación del sulfuro de la etapa anterior.

## 5. Conclusiones y Recomendaciones

Los resultados demostraron que la actividad sulfato-reductora de las bacterias es afectada por la adición de Sb(V) y por el aumento en las concentraciones de este. El cálculo de las tasas de sulfato-reducción para los controles fueron mayores a los experimentos con adición de Sb(V), siendo que, para los experimentos con Sb(V) a la concentración más elevada (200 ppm Sb(V)) la tasa cayó por debajo de la mitad respecto del control (86.05 mg/L·d y 188.22 mg/L·d, respectivamente).

Sin embargo, los resultados demostraron que, aunque la actividad sulfato-reductora disminuyó conforme la concentración de Sb(V) aumentó (obteniendo valores de 160.15 mg/L·d, 131.19 mg/L·d y 86.05 mg/L·d para la primera, segunda y tercera etapa) esta no se perdió del todo.

Al estudiar la remoción de antimonato empleando una estrategia de aumento progresivo en las concentraciones de Sb(V), en experimentos en lote bajo condiciones de sulfato-reducción, se concluye que los porcentajes de remoción de antimonato fueron mayores al incrementar las concentraciones del metaloide:

para 50 ppm el porcentaje de remoción fue del 6.7%, para 100 ppm fue del 56.57% y para 200 ppm fue del 89.12%.

Estos porcentajes presentan un aumento, de hasta 80% de remoción en la tercera etapa (200 ppm) respecto de la primera (50 ppm).

Este estudio demuestra su aportación a la viabilidad de la aplicación de sulfato-reducción como proceso para eliminar/recuperar Sb(V) a concentraciones elevadas.

El trabajo sugiere que el antimonio puede ser eliminado, encontrándose en un medio neutro, en forma de estibina ( $\text{Sb}_2\text{S}_3$ ), donde el Sb(V) primero fue reducido a Sb(III) por el sulfuro biológico formado y luego precipitó en forma de sulfuro de antimonio. También, sugiere la recuperación y utilización de la estibina para procesos industriales siendo esta la fuente comercial principal del antimonio para sus múltiples usos en la industria.

El trabajo también expande la posibilidad para estudiar en futuras investigaciones la efectividad de BSR específicas para concentraciones aún mayores a las trabajadas en esta tesis.

## REFERENCIAS

- Agilent Technologies. 2016. Fundamentos de Espectroscopia Atómica: Hardware.
- Agilent Technologies, Inc. 2021 Printed in the USA, April 21, 2021 5991-8120EN
- (ATSDR). 1992. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades Reseña toxicológica del antimonio. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública.
- (ATSDR). 2019. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades <https://www.atsdr.cdc.gov/>
- Bijmans, M.F.M., 2008. Sulfate reduction under acidic conditions for selective metal recovery. Ph.D. Thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands – with references – with summaries in English and Dutch ISBN: 978-90-8504-925-8
- Campos Quevedo, N. G. (2015). Enriquecimiento y cultivo de un consorcio sulfato-reductor acidotolerante con capacidad de consumir acetato. [Tesis de maestría, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.] Repositorio institucional IPICYT.
- Caviedes Rubio, D. I., Muñoz Calderón, R. A., Perdomo Gualtero, A., Rodríguez Acosta, D., & Sandoval Rojas, I. J. (2015). Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales. Una Revisión. Ingeniería Y Región, 13(1), 73–90. <https://doi.org/10.25054/22161325.710>
- Cervantes, C. (2019). Interacciones Bacterianas con el Antimonio. Ciencia Nicolaita, (77), 22–35. <https://doi.org/10.35830/cn.vi77.467>
- Cord-Ruwisch, R. (1985) A Quick Method for the Determination of Dissolved and Precipitated Sulfides in Cultures of Sulfate-Reducing Bacteria. Journal of Microbiological Methods, 4, 33-36. [http://dx.doi.org/10.1016/0167-7012\(85\)90005-3](http://dx.doi.org/10.1016/0167-7012(85)90005-3)
- Chen, J., Zhang, G., Ma, C. et al. Antimony removal from wastewater by sulfate-reducing bacteria in a bench-scale upflow anaerobic packed-bed reactor. Acta Geochim 39, 203–215 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11631-019-00382-6>
- Garzón, J., Miranda, J. P. R., & Gómez, H. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. Universidad y Salud, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Guo, W., Fu, Z., Wang, H., Liu, S., Wu, F., & Giesy, J. P. (2018). Removal of antimonate (Sb(V)) and antimonite (Sb(III)) from aqueous solutions by coagulation-flocculation-sedimentation (CFS): Dependence on influencing factors and insights into removal mechanisms. Science of the Total Environment, 644, 1277–1285. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.034>
- Iwamoto, T., & Nasu, M. (2001). Current bioremediation practice and perspective. Journal of Bioscience and Bioengineering, 92(1), 1-8. [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(01\)80190-0](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(01)80190-0)

- Jo, M., Kim, T., Choi, S., Jung, J., Song, H. I., Lee, H., ... & Oh, J. (2017, June). Investigation of Antimony in Natural Water and Leaching from Polyethylene Terephthalate (PET) Bottled Water. In Proceedings of the 3rd World Congress on New Technologies (NewTech'17), Rome, Italy (pp. 6-8).
- Johnson, C. R., Antonopoulos, D. A., Boyanov, M. I., Flynn, T. M., Koval, J. C., Kemner, K. M., & O'Loughlin, E. J. (2021). Reduction of Sb(V) by coupled biotic-abiotic processes under sulfidogenic conditions. *Heliyon*, 7(2), e06275. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06275>
- Jong, T. J., & Parry, D. L. (2005). Evaluation of the stability of arsenic immobilized by microbial sulfate reduction using TCLP extractions and long-term leaching techniques. *Chemosphere*, 60(2), 254-265. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.12.046>
- Kuenen, J.G. and Robertson, L.A. (1992). The use of natural bacterial populations for the treatment of sulphur-containing wastewater. *Biodegradation* 3: 239-254.
- Kulp, T. J., Miller, L. J., Braiotta, F., Webb, S. M., Kocar, B. D., Blum, J. S., & Oremland, R. S. (2013). Microbiological Reduction of Sb(V) in Anoxic Freshwater Sediments. *Environmental Science & Technology*, 48(1), 218-226. <https://doi.org/10.1021/es403312j>
- Lewis, Alison. (2010). Review of Metal Sulfide Precipitation. *Hydrometallurgy*. 104. 222-234. [10.1016/j.hydromet.2010.06.010](https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2010.06.010).
- Li, H., Fei, Y., Xue, S., Zhang, G., Bian, Z., Guo, F., Wang, L., Chai, R., Zhang, S., Cui, Z., Wang, S., & Zhang, J. (2022). Removal of Antimony in Wastewater by Antimony Tolerant Sulfate-Reducing Bacteria Isolated from Municipal Sludge. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1594. <https://doi.org/10.3390/ijms23031594>
- Long, X., Wang, X., Guo, X., & He, M. (2020). A review of removal technology for antimony in aqueous solution. *Journal of Environmental Sciences-china*, 90, 189-204. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.12.008>
- Maldonado, Y. (2021, 23 octubre). Los 10 usos del antimonio más importantes. ¿No los conoces? GEOLOGIA WEB. <https://geologiaweb.com/elementos-quimicos/usos-del-antimonio/>
- Martínez de Jesús, G. (2008). Eliminación de sulfatos en un reactor de lecho móvil anaerobio-aerobio (Maestro). Universidad Nacional Autónoma de México.
- NAGPAL, S.; CHUICHULCHERM, S.; PEEVA, L.; LIVINGSTON, A. Microbial sulfate reduction in a liquid-solid fluidized bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 70, n. 4, p. 370-380, 2000. [https://doi.org/10.1002/1097-0290\(20001120\)70:4<370::AID-BIT2>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0290(20001120)70:4<370::AID-BIT2>3.0.CO;2-7)
- NMX-AA-034-SCFI-2015 ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-034-SCFI-2001).
- Peña Limón, C. E., & Parades-Aguilar, J. (2020). CONTAMINACIÓN DE CORRIENTES SUPERFICIALES POR TÓXICOS MINERO-METALÚRGICOS EN LA REGIÓN HIDROLÓGICA SONORA-SUR. *EPISTEMUS*, 13(27), 18–23. <https://doi.org/10.36790/epistemus.v13i27.112>

- Permeah, Samanbar & Lau, Kingsley & Duncan, Matthew. (2019). Characterization of Biofilm Formation and Coating Degradation by Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Coatings*. 9. 518. 10.3390/coatings9080518.
- Postgate, J.R. (1984) *The Sulfate-Reducing Bacteria*. 2nd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Prieto, J. P., & Prieto, J. P. (2022). Antimonio en la medicina por elementos. *Esfera Salud*. <https://www.esferasalud.com/salud-medio-ambiente/antimonio>
- Kulp, T. J., Miller, L. J., Braiotta, F., Webb, S. M., Kocar, B. D., Blum, J. S., & Oremland, R. S. (2013). Microbiological reduction of SB(V) in anoxic freshwater sediments. *Environmental Science & Technology*, 48(1), 218-226. <https://doi.org/10.1021/es403312j>
- Rosas Rodríguez, H. (2001). Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Soubie, D. E. (2019, March 11). Ecología - Dinámica de los ecosistemas - Ciclo del Azufre. [https://www.todoargentina.net/ecologia/dinamica/ciclo\\_azufre.php?idpagina=1863](https://www.todoargentina.net/ecologia/dinamica/ciclo_azufre.php?idpagina=1863)
- Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. 4500-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> sulfate In: *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press. DOI: 10.2105/SMWW.2882.098
- Valdivia Tejada, F. (2017). Bioprecipitación de metales pesados utilizando Bacterias reductoras de Sulfato (BRS) para su aplicación en un Bioreactor Sulfidogénico.
- Vega-Jara, L. (2021). APLICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS EN SUELOS CONTAMINADOS CON CADMIO Y PLOMO (Primera edición). La Quinta, Huánuco, Perú. <https://www.unheval.edu.pe/portal/wp-content/uploads/2021/03/libro-Vega-Jara-L.-2021.pdf>
- Wang, H., Chen, F., Mu, S., Zhang, D., Pan, X., Lee, D., & Chang, J. S. (2013). Removal of antimony (Sb(V)) from Sb mine drainage: Biological sulfate reduction and sulfide oxidation-precipitation. *Bioresource Technology*, 146, 799-802. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.002>.
- Xie, J., Coker, V. S., O'Driscoll, B., Cai, R., Haigh, S. J., & Lloyd, J. R. (2023). Microbial Reduction of Antimony(V)-Bearing Ferrihydrite by *Geobacter sulfurreducens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(3). <https://doi.org/10.1128/aem.02175-22>
- Xu, Y., & Chen, Y. (2020). Advances in heavy metal removal by sulfate-reducing bacteria. *Water Science and Technology*, 81(9), 1797-1827. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.227>
- Zhu, Y., Wu, M., Gao, N., Chu, W., An, N., Wang, Q., & Wang, S. (2018). Removal of antimonate from wastewater by dissimilatory bacterial reduction: Role of the coexisting sulfate. *Journal of Hazardous Materials*, 341, 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.042>