



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

UNIVERSIDAD DE SONORA

FACULTAD INTERDISCIPLINARIA DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
Y METALURGIA

**ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE UN
CONSORCIO MICROBIANO EN CONDICIONES
DE SULFATO-REDUCCIÓN A DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE ANTIMONITO, SB (III),
EN SOLUCIÓN ACUOSA.**

Tesis

Que para obtener el título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presenta:

ANGELITA MARÍA ORTEGA JUÁREZ

Hermsillo, Sonora

Agosto, 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



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

UNIVERSIDAD DE SONORA

FACULTAD INTERDISCIPLINARIA DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
Y METALURGIA

**ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE UN
CONSORCIO MICROBIANO EN CONDICIONES
DE SULFATO-REDUCCIÓN A DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE ANTIMONITO, SB (III),
EN SOLUCIÓN ACUOSA.**

Tesis

Que para obtener el título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presenta:

ANGELITA MARÍA ORTEGA JUÁREZ

Hermosillo, Sonora

Agosto, 2023

UNIVERSIDAD DE SONORA

VOTOS APROBATORIOS

Hermosillo, Sonora, a 02 de agosto del 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 "ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE UN CONSORCIO MICROBIANO EN CONDICIONES DE SULFATO-REDUCCIÓN A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ANTIMONITO, SB (III), EN SOLUCIÓN ACUOSA." presentada por:

ANGELITA MARÍA ORTEGA JUÁREZ

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

2/08/23

Fecha



DR. AURORA MARGARITA PAT ESPADAS

2/08/23

DR. FRANCISCO JAVIER ALMENDARIZ TAPIA

2/08/23

DR. GUADALUPE LÓPEZ AVILÉS

2/08/23

DR. JONATHAN DE LA VEGA OLIVAS

Agradecimientos

Agradecimientos Institucionales

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) (2) por el uso de sus instalaciones, equipos y materiales.

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.

Agradecimientos personales

A la Dra. Aurora Margarita Pat Espadas por la oportunidad y el apoyo que me brindó para concluir mi carrera. Por su tiempo y paciencia que me ayudó a adquirir más conocimientos.

A la Dra. Marina Montserrat Atilano Camino por su apoyo y asesoría para realizar esta tesis.

A mis compañeras de laboratorio, Patricia Canizalez, Dayana, Rosario y Ana Karen, quienes estuvieron presentes brindando su apoyo y conocimientos durante la elaboración del experimento.

Un agradecimiento especial a Ana Patricia Canizalez Laborín quien estuvo conmigo apoyándome y acompañándome durante toda la carrera. Mi amiga de universidad, gracias por haber estado y hecho más ameno y alegre todo este proceso.

A mi mamá quien me dio todo su apoyo, amor y paciencia incondicional desde el inicio de mis estudios hasta el día de hoy. Fuiste parte de mi motor y motivación para concluir, gracias por todo.

A mi hermana Alma quien me dio de su tiempo y consejos al realizar mi tesis, además de su sentido del humor que me ayudó muchas veces a no sentirme tan estresada. Gracias, hermana.

A mis amigas, Fernanda, Roxanna y Michelle, que sin duda me escucharon y apoyaron durante todo el proceso, gracias por siempre estar.

También gracias a mi papá, hermanas Iris y Karina, familia, amigos y a todas esas personas que me apoyaron y aconsejaron durante la carrera y en la elaboración de la tesis, por formarme y ser la persona que soy.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
1. Introducción y objetivos.....	10
1.1 Objetivo general.....	12
1.2 Objetivos específicos.....	12
2. Antecedentes.....	12
2.1 Generalidades del Antimonio.....	12
2.1.1 Historia.....	12
2.1.2 Química.....	13
2.1.3 Especies de antimonio.....	15
2.1.4 Usos y aplicaciones.....	17
2.2 Sb (III): Implicaciones ambientales.....	20
2.2.1 Efectos ambientales.....	20
2.2.2 Efectos en microorganismos.....	22
2.2.3 Efectos en la salud.....	23
2.3 Tratamientos para la eliminación de Sb (III).....	24
2.3.1 Físicoquímicos.	24
2.3.2 Biológicos.....	25
2.4 Sulfato-Reducción.....	27
2.4.1 Definición y mecanismos.....	27
2.4.2 Reacciones.....	30
2.4.3 Microorganismos.....	34
2.4.4 Aplicaciones.....	38
3. Metodología experimental.....	39
3.1 Fuente del inóculo (BSR).....	39
3.2 Experimentos en lote con y sin Sb (III).....	39
3.2.1 Medio utilizado.....	39
3.2.2 Preparación.....	40

3.3 Técnicas analíticas.....	41
3.3.1 Determinación de SO_4^{2-}	41
3.3.2 Determinación de S^{2-}	43
3.3.3 Determinación de Sb (III).....	44
3.3.4 pH.....	45
4. Resultados y discusión.....	45
4.1 Respuesta de la actividad SR. al [Sb (III)].....	45
4.2 Remoción de Sb en experimento en lote.....	53
4.3 Remoción de Sb en experimento abiótico.....	56
5. Conclusiones y recomendaciones.....	59
5.1 Recomendaciones.....	60
Bibliografía.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de los minerales Estibina y Valentinita.....	16
Figura 2. Representación general del proceso de sulfato-reducción en la célula de las BSR.....	32
Figura 3. Especiación según concentración de sulfuro y pH.....	36
Figura 4. Comportamiento del pH respecto al tiempo durante los experimentos.....	46
Figura 5. Sulfato-Sulfuro respecto al tiempo para el experimento control.....	49
Figura 6. Sulfato-Sulfuro respecto al tiempo para el experimento con Sb (III).....	49
Figura 7. Final de etapa 1, control y Sb (III), respectivamente.....	58
Figura 8. Inicio y final de etapa 2.....	58
Figura 9. Etapa 3 correspondiente a los experimentos (A) control, sin antimonio y (B) 100 ppm de Sb (III).....	59
Figura 10. Reacción de antimonio con sulfuro en experimento abiótico..	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Propiedades del antimonio.	15
Tabla II. Energía libre de Gibbs en reacciones de sulfato-reducción y metanogénicas según el tipo de sustrato.	33
Tabla III. Medio Postgate B modificado.....	40
Tabla IV. Preparación de la solución de buffer.....	42
Tabla V. Valores de pH al inicio y fin de cada etapa.....	45
Tabla VI. Valores de concentración de sulfato y sulfuro y porcentaje de remoción de sulfato para el experimento control.....	47
Tabla VII. Valores de concentración de sulfato y sulfuro y porcentaje de remoción de sulfato para el experimento con Sb (III).....	47
Tabla VIII. Comparación del lactato consumido y acetato producido teórico y experimental.....	50
Tabla IX. Remoción del Sb (III) por etapa y reacción con el sulfuro.....	54
Tabla X. Comparación de estudios para la remoción de Sb (III).....	56
Tabla XI. Remoción de Sb a 100 ppm con sulfuro acumulado final del experimento control..	57

ANEXOS

Anexo A. Diagramas de especies de sulfuro de antimonio en un rango de pH de 1 a 12.....	67
---	----

RESUMEN

Estudio de la respuesta de un consorcio microbiano en condiciones de sulfato-reducción a diferentes concentraciones de antimonito, Sb (III), en solución acuosa.

El antimonio es un metaloide con propiedades similares a las del arsénico, el cual se destaca por su alto grado de toxicidad en bajas concentraciones, y debido a que es un metaloide de importancia a nivel industrial, la actividad minera y el uso de antimonio en industrias ha llamado la atención sobre la contaminación que este elemento puede producir hacia el medio ambiente y a los seres vivos como consecuencia de los residuos industriales y su propagación.

Las bacterias sulfato-reductoras han sido utilizadas en procesos de biorremediación para producir sulfuros de metales y metaloides para removerlos de la fase acuosa, sin embargo, dentro de la búsqueda de estudios sobre bacterias sulfato-reductoras como tratamiento biológico ante el antimonito, no se encontraron investigaciones realizadas específicamente para el antimonio (III), lo cual limita la comparación de resultados, pero, a su vez, promueve a su investigación. Lo que conlleva al objetivo general de este estudio, que implica evaluar y comparar la actividad sulfato-reductora de un consorcio microbiano a diferentes concentraciones de antimonito, para determinar si existen efectos de inhibición y cuantificar la remoción del metaloide. Y específicamente, evaluar en microcosmos la actividad sulfato-reductora en condiciones controladas; determinar el efecto del antimonio (III) bajo concentraciones de 5, 10 y 100 ppm, respectivamente respecto a un experimento control; y cuantificar la concentración de antimonio para determinar la remoción del medio acuoso según la actividad sulfato-reductora en las incubaciones microbianas.

Para ello, se utilizaron métodos para determinar concentraciones de sulfato, sulfuro, pH y antimonio removido, y se estudió la cinética y comportamiento de la actividad de las bacterias sulfato-reductoras, así como la formación de sulfuros de antimonio. De acuerdo con los resultados en las tres etapas se pudo determinar que la mayor remoción de antimonio se dio en la última etapa a 100 ppm con mayor concentración de sulfuro acumulado en el medio acuoso, considerando el tiempo un factor importante para la formación de sulfuros de antimonio.

1. Introducción y objetivos

El antimonio es un metaloide con propiedades similares a las del arsénico, el cual se destaca por su alto grado de toxicidad en bajas concentraciones. Los estudios realizados sobre los efectos del antimonio (III) sobre el medio ambiente y organismos son limitados, entre los cuales se encuentra el estudio de la inhibición de microorganismos según la especiación del antimonio, como factor importante en el grado de toxicidad, siendo el antimonio (III) o Sb (III) mayormente tóxico que el antimonio (V) o Sb (V) (Zhu, y otros, 2018). También se ha estudiado los efectos genotóxicos del antimonio en microorganismos en ambientes aerobios y anaerobios (Moreno y col., 2021), confirmando que la especie de Sb(III) inhibe el 50% de los microorganismos con 0.03 mg/L a comparación del Sb(V) que lo logró a 50 mg/L.

La toxicidad del antimonio ha sido y sigue siendo un factor de estudio ya que como es un metaloide de importancia a nivel industrial, categorizado como el noveno metaloide más explotado, siendo México el décimo productor de antimonio (Moreno y col., 2021), la actividad minera y el uso de antimonio en industrias ha llamado la atención sobre la contaminación que este elemento puede producir hacia el medio ambiente y a los seres vivos como consecuencia de los residuos industriales y su propagación.

Corporaciones como la Unión Europea (EU) y la Agencia de Protección ambiental de los Estados Unidos (US-EPA), han considerado al antimonio como un contaminante prioritario, incluso más que el arsénico, estableciendo un nivel máximo en agua de 5 y 6 $\mu\text{g/L}$, respectivamente (EU, 1998) (US-EPA, 2009). Pero en México aún no hay límite determinado. También, de acuerdo con los niveles de exposición laboral, la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA), el Instituto Nacional para Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH) y la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (ACGIH), coinciden en un valor de 0.5 mg/m^3 de exposición

laboral ante el antimonio como promedio durante un turno de 8 horas. (New Jersey Department of Health, 2012).

Por otro lado, las bacterias sulfato reductoras (BSR) se han implementado en procesos de biorremediación y biorrecuperación de metales, destacándose por existir en ambientes anóxicos y ricos en sulfato; y por realizar el proceso de oxidoreducción. El sulfuro producido por las BSR logra precipitar con algunos metales como el Fe, Zn, Co y Cd, y metaloides como el As, haciendo posible la recuperación de estos mismos (Volke y col., 2005).

El antimonio en su estado de oxidación +3, precipita más rápido que el antimonio +5, sin embargo, y por sus características fisicoquímicas tiende a esparcirse con mayor movilidad. Para contrarrestar el efecto negativo del antimonio se puede implementar bacterias que realizan el proceso de sulfato-reducción como tratamiento biológico promoviendo la biomineralización del Sb(III) al formarse sulfuros de antimonio, retirándolos de la fase acuosa e inmovilizándolo en fases minerales. Para esto, existe una serie de factores que hacen esto posible, como las condiciones de temperatura, pH, la demanda química de oxígeno (DQO), y los niveles de concentración de sulfuro, entre otros, en niveles óptimos para que las BSR se desarrollen fácilmente y realicen la actividad sulfato reductora.

1.1 Objetivo General

Estudiar la actividad sulfato-reductora de un consorcio microbiano a diferentes concentraciones de Sb (III) para determinar si existen efectos de inhibición y cuantificar la remoción del metaloide.

1.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar en microcosmos la actividad sulfato-reductora de un consorcio microbiano bajo condiciones adecuadas para establecer valores de referencia de reducción de sulfato y producción de sulfuro.
2. Determinar el efecto de Sb (III) sobre la actividad sulfato-reductora en incubaciones en lote alimentado bajo tres diferentes concentraciones: 5ppm, 10 ppm y 100 ppm con base en la comparación contra los valores de referencia del experimento control.
3. Cuantificar la concentración de Sb para determinar la remoción del medio acuoso que pueda estar asociada a la actividad sulfato-reductora en las incubaciones microbianas.

2. Antecedentes

2.1 Generalidades del antimonio

2.1.1 Historia

El antimonio fue descrito por primera vez por el alquimista alemán Basil Valentine (1394-1450) en su tratado "Triumph Wagens des Antimonij" (El carro triunfal del antimonio) donde describe propiedades del antimonio y por ello se le atribuye su descubrimiento (Maratta Martínez, 2019).

Sin embargo, existen teorías que cuestionan la verdadera identidad del descubridor, e incluso el antimonio es mencionado en el antiguo testamento, además de ser evidenciado el uso del antimonio antes de ese año como ornamento para vasijas, maquillaje y algunas aplicaciones con fines medicinales.

Los egipcios utilizaban una pasta negra para maquillarse los ojos, conocida como "kohl", donde uno de los principales ingredientes era el sulfuro de antimonio y galena (mineral de sulfuro de plomo, con pequeñas cantidades de cadmio,

antimonio, bismuto y cobre), implementado tradicionalmente desde la Edad de Bronce (Gutiérrez Angulo, 2019).

En el siglo XVI, el antimonio se usaba en aleación con plomo y estaño para los sellos tipográficos tras la invención de la imprenta para darle más resistencia a los caracteres tipográficos (Maratta Martínez, 2019).

En el siglo XVII, en la Antigua Roma, se utilizaban las copas antimoniales por su efecto emético, donde el antimonio de las copas reaccionaba con el ácido tartárico del vino produciendo antimonio tartarizado, que al ingerirlo provocaba la expulsión de los alimentos consumidos con el fin de purgarse y poder disfrutar de la comida sin límites; así como las píldoras de antimonio, utilizadas como laxantes (Lopez Tricas, 2020).

En el siglo XIX, las aleaciones con zinc daban lugar a la producción de candelabros, cubiertos y palmatorias. Durante la Primer Guerra Mundial, se empezó a dar más enfoque en la producción de antimonio para realizar aleaciones con otros metales, como el plomo y estaño, para el uso de armamento, ya que aportaban más fuerza mecánica y dureza (Maratta Martínez, 2019).

Al paso del tiempo, el desarrollo de la industria automovilística propició a seguir mejorando las aleaciones con antimonio y encontrando nuevas aplicaciones como en las baterías y los acumuladores eléctricos; también utilizado en retardadores de llamas, recubrimiento de cables, materiales semiconductores, tipos de imprenta, rodamientos, pinturas, esmaltes, vidrios y cerámicas, entre otros productos industriales (Gutiérrez Angulo, 2019).

2.1.2 Química

El antimonio (Sb) es el elemento 51 de la tabla periódica, ubicado en el grupo 15 de elementos pnícógenos junto con el nitrógeno (N), el fósforo (P), el arsénico

(As), el bismuto (Bi), y el elemento sintético moscovio (Mc). El antimonio pertenece a los metaloides o semimetales, junto con el boro (B), silicio (Si), germanio (Ge), arsénico (As), telurio (Te) y ástato (At), y tiene características muy similares al arsénico (As).

El antimonio comprende los estados de oxidación, 3-, 3+, 5+ y, su forma elemental, 0; cuenta con 31 isótopos de los cuales 2 son estables y se encuentran en la naturaleza, ^{121}Sb (57.36%) y ^{123}Sb (42.62%). Su estado de oxidación 3+ y 5+, da lugar a dos tipos de especies, la trivalente como antimonito, Sb (III) y la pentavalente como antimonato, Sb (V).

Algunas de sus propiedades se muestran en la Tabla I, destaca que al pertenecer al grupo de semimetales tiene características intermedias entre los metales y los no metales, como su baja conductividad eléctrica y capacidad calorífica. Se parece a los metales en su aspecto y propiedades físicas, pero se comporta químicamente como un no metal. También puede ser atacado por ácidos oxidantes y halógenos (Lenntech , 2023).

Tabla I. Propiedades del antimonio

Elemento	Antimonio
Número atómico	51
Masa atómica (g/mol)	121.75
Estados de oxidación	-3, +3, +5
Electronegatividad	1.9
Radio covalente (Å)	1.41
Radio iónico (Å)	Sb ⁻³ = 2.46 Sb ⁺³ = 0.90 Sb ⁺⁵ = 0.62
Radio atómico (Å)	1.59
Configuración electrónica	[Kr]4d ¹⁰ 5s ² 5p ³
Primer potencial de ionización (eV)	8.68
Densidad (g/ml)	6.62
Punto de ebullición (°C)	1587
Punto de fusión (°C)	630.5

2.1.3 Especies de antimonio

El antimonio se puede presentar en dos formas: en su forma estable que es un metal de color blanco azulado o plateado, brillante, duro y quebradizo; y en su forma no metálica, como inestable o metaestable, de color negro grisáceo (Gutiérrez Angulo, 2019).

El antimonio (III) se presenta en la naturaleza como trióxido de antimonio (Sb₂O₃) y se puede encontrar en algunos minerales como la estibina (Sb₂S₃). Como en muchos sulfuros, cuando el mineral se expone a la intemperie, se oscurece por efecto de la oxidación, pudiendo transformarse en distintos óxidos de antimonio como: valentinita, estibiconita o cervantita. A temperatura ambiente es sólido y

de color blanco. No es inflamable ni combustible, pero a altas temperaturas produce humo elevadamente tóxico (Asturnatura, 2023).

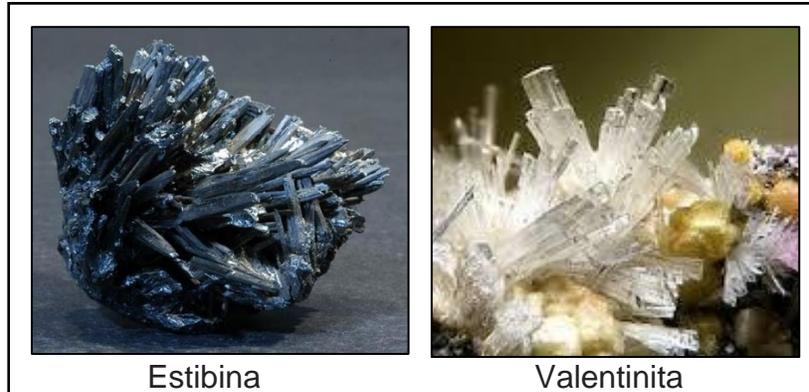


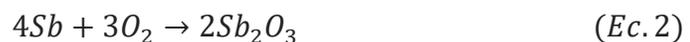
Figura 1. Representación de los minerales Estibina y Valentinita.

Para la obtención del óxido de antimonio (III) se pueden emplear algunos métodos como el enriquecimiento de la estibina o la oxidación del antimonio metálico (Buchi Gatica, 2020). Elevando la temperatura de la estibina en presencia de oxígeno se obtiene un producto más purificado del óxido de antimonio, representado por la siguiente reacción (Ec.1):

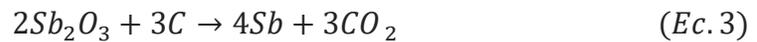


El producto obtenido se puede someter a un proceso de sublimación para fines de purificación.

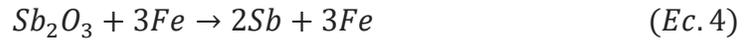
Por otro lado, mediante la oxidación o combustión del antimonio en su forma metálica también se puede obtener el trióxido de antimonio, representado por la siguiente reacción (Ec.2):



Para la obtención del antimonio se puede emplear la reducción del óxido con coque, como se muestra en la siguiente reacción (Ec.3):



O, bien, mediante la reducción del sulfuro con hierro (Ec.4):



El antimonio también se puede encontrar en forma del mineral estibarsenio (AsSb), que es una combinación entre el antimonio y el arsénico, y comúnmente es asociado al cuarzo. Es de color blanco estaño a gris y se encuentra comúnmente en minas provenientes de Canadá, Europa, Francia y México. Existen muchos otros tipos de minerales que contienen antimonio en su composición en su forma trivalente y pentavalente, disponibles en la naturaleza y muy comúnmente en la minería.

2.1.4 Usos y aplicaciones

El antimonio tiene muchas aplicaciones en la industria y van en aumento en los países desarrollados. Por sus propiedades de semimetal, se aplica en forma metálica y no metálica según el interés; sin embargo, es utilizado mayormente en mezcla o aleaciones con algún otro metal, como plomo y zinc, para darle mayor fuerza y sea mejor aprovechado, ya que por sí solo suele ser quebradizo. Algunas de estas aleaciones se utilizan en baterías y acumuladores a base de plomo, soldaduras, tuberías, laminas, rodamientos, moldes, municiones y peltres.

La resistencia del antimonio metálico a los ácidos y las bases se aprovecha en el montaje de las fábricas de productos químicos. Algunos de los usos metálicos son en las baterías convencionales, en soldaduras suaves, en municiones y aleaciones para metal destinado a blancos, incrementando la resistencia y dureza a esfuerzos mecánicos de la aleación (Nordberg, 1998).

La batería de plomo/ácido es un ejemplo de batería convencional donde se utiliza una aleación de plomo y antimonio para darle resistencia a la corrosión. El

antimonio fortalece el plomo blando, mejora la adhesión de la masa activa y protege contra la corrosión. Las baterías convencionales incluyen las baterías de acumuladores.

Para soldaduras suaves se utilizan proporciones de antimonio entre 0.5 y 3% para consolidar la soldadura y suprimir la formación de alótropos de estaños a bajas temperaturas para evitar la degradación de las estructuras de los empalmes soldados en el punto de la transición de fase a 298 K (Maratta Martínez, 2019).

En las municiones es utilizado el antimonio como endurecedor para el plomo, sin embargo, el plomo ha sido reemplazado por el wolframio en la aleación con el antimonio para producir menor contaminación ambiental. En la aleación para la fabricación de metal destinado a blancos se suele usar una proporción de 75 partes de plomo, 20 partes de antimonio y 5 partes de estaño (Maratta Martínez, 2019).

En la industria, las aleaciones con 4 a 15% de antimonio proporcionan protección contra varios estados líquidos de productos químicos, como el ácido sulfúrico y del sulfato. Las aleaciones con 2 a 8% de antimonio son resistentes al uso atmosférico y la corrosión por lo que también son utilizadas en la construcción de canales y barreras de la humedad (Maratta Martínez, 2019).

Algunos de los usos no metálicos del antimonio se detallan en los siguientes párrafos e incluyen: a retardadores de llama (fósforos), fabricación de plásticos, medicina, entre otras (Chandra Dey, 2023).

La punta de los fósforos contiene trisulfuro de antimonio (Departamento de calidad y seguridad de productos, 2014). La combustión del compuesto con antimonio es una reacción exotérmica que se mantiene por los radicales libres generados y el calor radiante. En los retardadores de la llama con halógenos, reduce la cantidad necesaria de retardante de llama y, a su vez, reduciendo costos del tratamiento total.

En muchos plásticos, el antimonio ha sido utilizado como estabilizador de calor para el PVC (Chandra Dey, 2023), especialmente en su forma rígida, ofreciendo la protección ante la degradación por el calor y la luz ultravioleta. Se emplea también como catalizador en la polimerización del PET, en su forma de trióxido de antimonio, y junto con el dióxido de germanio (GeO_2) son los catalizadores preferidos para PET. Este último compuesto ofrece mejor transparencia que el antimonio, pero es más costoso para muchas aplicaciones PET (Nordberg, 1998).

El trióxido de antimonio fue utilizado como pigmento blanco en pinturas para exteriores, ofreciendo resistencia al desgaste por la acción atmosférica, antes de ser reemplazado por el dióxido de titanio (TiO_2) por su gran nivel de toxicidad; aun así, se sigue implementando como estabilizador de color. Por ejemplo, se utiliza en las pinturas amarillas para autobuses de escuelas (estadounidenses y sudafricanas) y en las rayas amarillas de las carreteras donde es importante mantener la intensidad del color y evitar cambios de tonalidad (Valencia Molina, 2019).

El trióxido de antimonio tiene aún más aplicaciones como en la fabricación de materiales ignífugos para reducir el grado de inflamabilidad en combinación con sustancias halogenadas. También es utilizado para dar opacidad como en plásticos, esmaltes y vidrios (Chandra Dey, 2023).

En su forma de antimonio pentavalente como sales antimoniales [$\text{Sb}(\text{OH})_2\text{Cl}$], es aplicado en la medicina como tratamiento inicial contra la leishmaniasis (Lopez Tricas, 2020).

Referente al sulfuro de antimonio, Sb_3S_2 , ha destacado en estudios en desarrollo para su aplicación en el área de energía, como en las celdas solares nanocristalinas basadas en capas delgadas de sulfuro de antimonio y sulfuro de indio por la Universidad Autónoma de Nuevo León (expediente:

MX/a/2014/016128). Al igual que se ha estudiado el Sb_3S_2 , como un nuevo material con potencial para microbaterías de litio.

2.2 Sb (III): Implicaciones ambientales

2.2.1 Efectos ambientales

El antimonio tiene efectos ambientales importantes debido a su nivel de toxicidad, la cual cambia de acuerdo con el tipo de especie, de modo que las concentraciones disponibles en el medio ambiente afectan directamente los recursos ambientales, como el suelo y el agua.

El antimonio en su estado más puro no es soluble en agua, sin embargo, el antimonio en sus dos estados de oxidación: antimonato (Sb V) y antimonito (Sb III) sí tienen grado de solubilidad por lo que están presentes en aguas industriales y en aguas contaminadas. Algunas de las fuentes más comunes de contaminación en el agua por antimonio son los efluentes de refinerías de petróleo, retardadores de fuego, cerámicas, productos electrónicos y por soldaduras (US-EPA, 2009).

El antimonito es considerado mucho más tóxico que el antimonato. (Zhu, y otros, 2018). Por ejemplo, en organismos acuáticos, según estudios realizados la concentración letal media en pulgas de agua (*Simocephalus mixtus*) y embriones de peces Medaka japonés (*Oryzias latipes*), es de 4.9 y 261 mg/L, respectivamente, después de 24 h de exposición al antimonio (III) (Nam y col., 2009).

De acuerdo con la Unión Europea (EU) y la Agencia de Protección ambiental de los Estados Unidos (US-EPA), se ha considerado al antimonio como un contaminante prioritario, incluso más que el arsénico, estableciendo un nivel máximo en agua de 5 y 6 $\mu\text{g/L}$ (EU, 1998; US-EPA, 2009). Para el arsénico, el nivel establecido en estos países es de 10 $\mu\text{g/L}$. Los valores tan bajos indican los efectos genotóxicos, ya que el arsénico y el antimonio comparten propiedades

químicas, entre ellas la toxicidad. En México, el antimonio en el agua potable aún no está regulado.

En la minería, a nivel mundial, el antimonio es el noveno metaloide más explotado, siendo México el décimo productor de antimonio en el mundo. Algunos de los yacimientos de antimonio en el país se encuentran en San Luis Potosí, Zacatecas, Guanajuato, Sonora, Durango y Querétaro, donde al año se exportan entre 600 y 800 toneladas, principalmente a China y Estados Unidos. Debido a este tipo de actividad, se ha encontrado que el antimonio en forma de mineral, como la estibina que es más quebradiza, suele esparcirse en forma de polvo por el aire y viajar grandes distancias con las aguas subterráneas y superficiales, sedimentando y adhiriéndose a las partículas del suelo (Moreno y col., 2021).

Un ejemplo de la distribución del antimonio como contaminante es el estudio realizado en la Sierra Gorda de Querétaro, aproximadamente a 2 kilómetros de distancia de una mina activa y en sus alrededores, en donde se realizaron muestreos del suelo y en cuerpos de agua de una comunidad cercana. Este estudio indicó que la concentración de antimonio decrecía conforme se alejaba de la ubicación de la mina, de valores de 230.6 mg/kg a 0.25 ± 12.02 mg/kg a 1 Km de ésta, mientras que en los cuerpos de agua no se detectó antimonio (Moreno y col., 2021). Casiot y col. (2007), determinaron la movilidad del antimonio y arsénico en un arroyo que drena una mina abandonada, la concentración máxima en suelo fue de 500 mg/kg (Cassiot y col., 2007). El estudio realizado en la mina de Querétaro confirmó que efectivamente las cantidades de antimonio se presentan en mayor concentración en el suelo lo cual puede provocar problemas ambientales y de salud al estar expuestos al metaloide en tiempos prolongados, de modo que las partículas se siguen esparciendo a pesar de la distancia de la zona de la mina.

2.2.2 Efectos en microorganismos

La toxicidad del antimonio depende de la especiación, como se mencionó anteriormente, siendo el antimonito mucho más tóxico que el antimonato, por su estado de oxidación, así como las formas orgánicas son menos tóxicas que el antimonio (V). El antimonio (III) guarda relación con los grupos tiol del glutatión y de las proteínas, debiendo una parte de su toxicidad a la inactivación de estos compuestos. El antimonito precipita con mayor facilidad a menor concentración que el antimonio (V) y forma nuevos compuestos; puede introducirse a las células y tener efectos nocivos. El principal efecto tóxico del antimonio se relaciona con su capacidad de generar estrés oxidante (Li, y otros, 2016).

Se han realizado estudios del efecto del antimonio (III) y antimonio (V), a diferentes concentraciones, a cultivos microbianos en ambientes aerobios (en la cepa pura *Allivibrio fisheri*, ensayo estandarizado Microtox y en cultivos mixtos de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales) y anaerobios (sobre microorganismos productores de hidrógeno y metano), confirmando que el antimonio (III) es mucho más tóxico que el antimonio (V) independientemente del ambiente y del microorganismo expuesto. En el caso de los ensayos Microtox, se encontró la inhibición del 50% de los microorganismos con 50 mg/L de antimonio (V), mientras que con el antimonio (III) se lograba con 0.03 mg/L (Moreno y col., 2021).

Sin embargo, los microorganismos han desarrollado sistemas de resistencia a sustancias tóxicas como el antimonio u otro tipo de metales y metaloides, como el arsénico, con el cual comparte estos tipos de sistemas por su similitud química. El mecanismo bacteriano de resistencia al antimonio más estudiado se basa en proteínas de la membrana que expulsan a los iones de antimonio (III) [y arsénico (III)] del citoplasma celular (Cervantes, 2019).

2.2.3 Efectos en la salud

Al ser un elemento altamente tóxico a organismos vivos, se han regularizado estándares de exposición al antimonio, principalmente en ambientes de trabajo. El antimonio puede ser ingerido, inhalado y absorbido por la piel, lo cual a pequeñas concentraciones puede causar daños nocivos hacia la salud y, en mayores concentraciones, puede actuar como veneno.

Algunos de los efectos dañinos del antimonio a la salud son la irritación de piel y ojos al contacto directo, causando enrojecimiento y erupciones con picazón en la piel (dermatitis); irritación en nariz, garganta y pulmones al ser inhalado, provocando tos y dificultad para respirar; a mayor concentración puede causar lesión y perforación en el septo o tabique nasal. La exposición al antimonio puede causar dolores de cabeza, mareo, náuseas, vómitos, dolor abdominal y falta de sueño. También se han determinado daños al hígado, al riñón y afectar al corazón, sin embargo, no se ha determinado como causante de cáncer.

Los límites de exposición laboral, según la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA), establece el Límite de Exposición Permisible (PEL) de 0.5 mg/m³ como promedio durante un turno laboral de 8 horas. Por parte del Instituto Nacional para Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH), el Límite de Exposición Recomendada (REL) es de 0.5 mg/m³ como promedio durante un turno laboral de 10 horas. El Valor de Límites Mínimos de Concentración o Threshold Limit Value (TLV) dictado por la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (ACGIH), igualmente coincide en el valor de 0.5 mg/m³ como promedio durante un turno laboral de 8 horas. (New Jersey Department of Health, 2012).

Debido a lo anterior, la protección personal en el área de trabajo es sumamente importante, ya que el uso incorrecto de estos puede maximizar la exposición y causar efectos inmediatos y/o prolongados. Según la norma de la OSHA de

protección respiratoria (29 CFR, sección 1910, norma 134) solo deben utilizarse equipos de respiración aprobados por la NIOSH.

Por ejemplo, la exposición a 9 mg/m³ de antimonio durante un tiempo prolongado puede causar los efectos de irritación en ojos, piel y pulmones. Inhalar 2 mg/m³ durante tiempo prolongado puede causar problemas pulmonares, (neumoconiosis), cardíacos (electrocardiogramas irregulares), dolor estomacal, diarrea, vómito y úlceras estomacales. Ingerir más de 19 ppm de antimonio de una sola vez puede causar directamente el vómito, pero se desconoce algún efecto a largo plazo.

Por otro lado, el antimonio puede tener efectos beneficiosos al ser utilizado por razones médicas, como el antimoniato de meglumina (Agencia española de medicamentos y productos sanitarios, cima, 2022) utilizado como tratamiento antiparasitario. Sin embargo, tomarlo en dosis mayores o en personas sensibles a la misma, ha ocasionado efectos como diarrea, dolor muscular y articular, anemia y problemas cardíacos (electrocardiogramas irregulares).

2.3 Tratamientos para la eliminación de Sb (III)

2.3.1 Físicoquímicos

Los tratamientos físicoquímicos son empleados para resolver problemas particulares con base en las propiedades físicoquímicas del contaminante y del medio en el que se encuentre para transformar, inmovilizar y separar.

Algunas de las técnicas físicoquímicas convencionales para la remoción de metales pesados y metaloides son procesos húmedos como: lixiviación, purificación y/o concentración y flotación/precipitación (Volke y col., 2005); también algunos de los procesos de tratamiento para la recuperación del antimonio incluyen principalmente la precipitación, la adsorción, el intercambio iónico, la filtración por membrana y la deposición electroquímica (Zhang, y otros, 2021). Algunas factores a considerar para elegir entre las tecnologías de

remoción son la producción de lodos y su disposición, los reactivos necesarios, eficiencia en la remoción y costos. Una de las técnicas más utilizadas en la industria es la precipitación, utilizando principalmente carbonatos o hidróxidos por su simplicidad y fácil control; aunque presenta desventajas en términos de aplicación y efectividad, puesto que los hidróxidos o carbonatos de metales que se producen son inestables, dificultando la recuperación de metales pesados o metaloides, y para ello se implementan métodos de recuperación para la disposición, elevando los costos del proceso (Campos Quevedo, 2015); (Kolmert y Johnson, 2001).

2.3.2 Biológicos

Los procesos biológicos conocidos como procesos de biorrecuperación o biorremediación que ayudan a disminuir la toxicidad de los metal(oid)es en agua y suelos mediante la acción de organismos macroscópicos como plantas o nemátodos, y/o microorganismos como bacterias y hongos, en ambientes aerobios y anaerobios, aprovechando su actividad biológica. Algunas de las técnicas biológicas incluyen la oxidación-reducción, absorción (biosorción), metilación, di metilación, acumulación intracelular y formación de complejos que es la base de las técnicas de biotransformación de metales (Ortiz y col., 2007).

La implementación de métodos biológicos presenta algunas ventajas como la aplicación *in situ* (-en el lugar-) y, por tanto, resulta más sostenible, barato y respetuoso con el medio ambiente ya que no altera la estructura del suelo. Es importante considerar que los microorganismos no tienen la capacidad de destruir o degradar los metales, pero sí de controlar la especiación y su transformación a formas menos tóxicas.

Los métodos biológicos están basados en la actividad de ciertos grupos de microorganismos que generan alcalinidad (Sousa y col., 2015). Algunas tecnologías *in situ* (utilizadas debido a su durabilidad, limpieza y costo) son los

humedales anaerobios y barreras reactivas permeables, mientras que los biorreactores con actividad sulfurogénica y biorreactores de composta son ejemplos de tecnologías *ex situ* (-fuera del lugar-, traslado del suelo/sedimento donde se vaya a realizar la recuperación).

En los tratamientos *in situ*, se consideran como factores la elección del compuesto orgánico según su disponibilidad y efectividad para la degradación de sustratos, tales que pueden ser mezclas o individuales como composta de hongos, estiércol, turba, paja, aserrín, entre otros (Kolmert y Johnson, 2001); (Sánchez-Andrea y col., 2014).

Para aplicaciones *ex situ* se utilizan biorreactores en donde los parámetros puedan ser controlados y se pueda obtener un mejor rendimiento; además tienen como ventaja que pueden ser configurados en diferentes escalas, ya sea aplicado a nivel laboratorio o piloto. Los biorreactores se basan en la actividad de bacterias sulfato reductoras que, por su metabolismo, tienen la capacidad de obtener sulfuros metálicos estables y recuperar así la calidad del agua; además de costos bajos (Kolmert y Johnson, 2001); (Sánchez-Andrea y col., 2014); (Papirio y col., 2013).

Se han encontrado bastantes estudios de autores que han implementado las bacterias sulfato-reductoras como tratamiento de remediación de suelos y aguas residuales con altas concentraciones de sulfato y algunos metales como Cu, Zn, Mn, entre otros; y metaloides como el arsénico y antimonio (V), con la finalidad de la remoción de estos contaminantes y/o recuperación de suelo y medio acuoso. Sin embargo, no se han encontrado estudios específicos para la remoción directa del antimonio (III) utilizando bacterias sulfato-reductoras como tratamiento de remoción, pero sí se han implementado otros métodos como tratamiento basados en materiales de adsorción.

Entre estos estudios podemos encontrar a autores como Li y otros., (2022), que investigaron la capacidad de remoción de antimonio (III) y antimonio (V) en aguas

residuales aplicando nanopartículas de hierro fitosintetizadas por los mecanismos de adsorción y oxidación, con eficiencia de remoción del 93.5% y 97.5%, del antimonio (III) y antimonio (V) respectivamente. También, autores como Zeng y otros., (2020), estudiaron la remoción del antimonio (III) y arsénico (III) utilizando Nanoláminas de hierro funcionalizadas con quitosano como método de adsorción en solución acuosa, específicamente el antimonio en concentraciones de 2 a 100 ppm, encontrando remoción de antimonio de hasta el 100%, y como promedio de 4 pruebas se determinó una remoción de antimonio del 85.6%.

Podemos encontrar a otros autores que han implementado el método de adsorción y oxidación para la remoción de antimonio (III) de medios acuosos y suelos contaminados, que han investigado la capacidad de distintos materiales adsorbentes y oxidantes ante este metaloide altamente tóxico.

2.4 Sulfato-Reducción

2.4.1 Definición y mecanismos

El azufre (S), es un elemento que se encuentra disponible en los ecosistemas que conforman la biosfera del planeta, siendo los volcanes, algunas rocas, reservorios marinos, sedimentos oceánicos y el agua de mar las fuentes principales del elemento.

El ciclo biogeoquímico del azufre consiste en procesos que permite que circule de diferentes formas, entre el suelo, el agua y el aire; comprende cuatro fases que son: la mineralización, la inmovilización, la oxidación y la reducción, lo que permite la biodisponibilidad del elemento (Fernández Aldariz, 2021).

La mineralización es el proceso de conversión del azufre proveniente de la materia orgánica residual de los cultivos y de la crianza de ganado a sulfato disponible para las plantas por acción de la microbiota del suelo, así como a

sulfuro de hidrógeno, azufre elemental y minerales a base de sulfuro para la disposición de las plantas y otros organismos vivos.

La inmovilización es el proceso contrario a la mineralización, donde la microbiota transforma el azufre disponible en azufre orgánico no disponible. El proceso de inmovilización también puede darse cuando el suelo es ácido, el cual promueve que el sulfato sea inmovilizado por óxidos de hierro y aluminio, así como también puede unirse a sitios cargados positivamente como las arcillas (Schoenau y Malhi, 2008).

La oxidación tanto del sulfuro de hidrógeno, elemental, como de otros minerales, forma el dióxido de azufre (SO_2) y trióxido de azufre (SO_3) en el ambiente por la acción de diferentes microorganismos presentes en el suelo, lo cual da paso a sales de azufre (sulfatos) para combinar con diferentes sustancias químicas que regresan a la litosfera. Por otra parte, al reaccionar con el agua se produce ácido sulfúrico (H_2SO_4).

La sulfato-reducción (SR) es un proceso redox que se presenta biológicamente al reducir sulfato por la aceptación final de electrones provenientes de la degradación de materia orgánica o del hidrógeno (H_2), obteniendo sulfuro de hidrógeno o ácido sulfhídrico (H_2S), el cual se caracteriza como un gas incoloro inflamable y olor a huevo podrido.

Las bacterias sulfato reductoras (BSR) son microorganismos capaces de realizar el proceso de SR en su metabolismo. Además de contribuir en el ciclo del azufre (antes de la vida en la Tierra), también participan en parte en el ciclo del carbono.

Estos microorganismos son considerados anaerobios por utilizar sulfato en vez de oxígeno para producir sulfuro de hidrógeno, y se pueden dividir en tres grupos celulares básicos: Eubacterias Gram negativas, Eubacterias Gram positivas y Arqueobacterias. Estas bacterias llevan a cabo el proceso de reducción desasimilatoria de sulfato, es decir, cuando el sulfuro producido en la reducción del sulfato no es incorporado a la biomasa (Corrales-Maldonado y col., 2013);

este ion es utilizado como un oxidante para la degradación de la fuente orgánica de carbono (Postgate, 1984).

Dentro de estos grupos celulares, se han descrito distintos tipos, entre los que se encuentran: bacilos, vibrios, cocos, espirilos, etc. (Widdel y Bak, 1992). Las capacidades oxidativas y metabólicas de las BSR varían de acuerdo con el género.

En las Delta-proteobacterias, que son Gram negativas, se han clasificado diferentes géneros entre los que destacan *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfomicrobium*, *Desulfosarcina*, *Desulfovibrio* y *Desulfobacterium*, entre otros.

Estudios realizados por Madigan, Hansen y otros autores, determinaron que los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus* y *Thermodesulfobacterium*, son BSR que realizan reacciones incompletas, es decir que como producto final de la oxidación del sustrato generan acetato. Mientras que los géneros *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema* y *Desulfobacterium*, son BSR que realizan reacciones completas de SR, es decir que oxidan el sustrato hasta CO₂ (Madigan y col., 1997); (Hansen, 1994).

La sulfato-reducción se lleva a cabo en presencia del sulfato, en donde ocurren reacciones de oxidación de ácidos grasos volátiles con más de dos átomos de carbono, así como la oxidación de acetato por las bacterias sulfato reductoras acetotróficas y de hidrogeno por las bacterias sulfato-reductoras hidrogenotróficas.

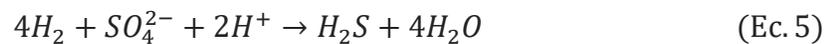
Autores como Natarajan y Padukone (2013) realizaron el estudio sobre el desecho de una industria de licor con altas concentraciones de sulfato que fue sometido al tratamiento biológico utilizando bacterias sulfato-reductoras, en donde las concentraciones de sulfato ascienden a más del 70% y metales presentes, como cobalto y níquel, a 95%, los cuales podrían precipitar como sulfuros, usando la cepa pre adaptada de *D. desulfuricans* por el método de

precipitación biológica de sulfuro y la adsorción de metales en precipitados y células bacterianas.

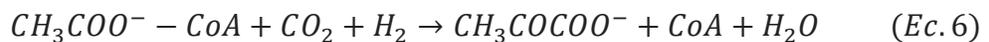
Los autores Liu y otros, (2023) realizaron el estudio implementando bacterias sulfato-reductoras como tratamiento en aguas residuales con arseniato y sulfato para investigar el rendimiento de la eliminación del As en diferentes proporciones molares de AsO_4^{3-} a SO_4^{2-} .

2.4.2 Reacciones

En el proceso redox, las BSR necesitan un sustrato que funciona como el donador de electrones, y el sulfato como aceptor final de electrones. El donador de electrones puede provenir del hidrógeno o de materia orgánica. La reacción para el caso donde el hidrógeno es el donador de electrones está dada por la siguiente ecuación (Ec.5):



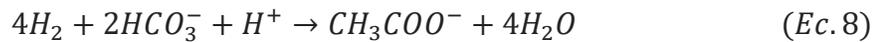
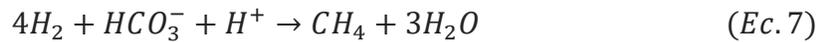
De acuerdo con la Ec.1, existen consideraciones en su reacción. En la reacción de transferencia de energía no hay carbono, pues los compuestos utilizados de acetato y CO_2 por las BSR hidrogenotróficas son compuestos muy pequeños; este acetato y CO_2 son incorporados al metabolismo celular por la vía del Acetil-CoA para producir piruvato con la siguiente ruta (Ec.6):



Posteriormente, el piruvato es empleado para la formación de nuevas biomoléculas.

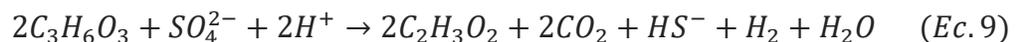
Empero, existe una competencia entre las BSR y los microorganismos metanogénicos hidrogenotróficas y acetotróficas por los compuestos orgánicos e hidrógeno para producir energía, y lo único que permite a las BSR competir es la presencia de sulfato.

Las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas producen gas metano (CH₄), y las acetogénicas producen acetato (CH₃COO⁻), y las reacciones correspondientes son las siguientes (Ec. 7 y Ec. 8):



Para el caso en donde el donador de electrones sea materia o compuestos orgánicos, se debe considerar que la bacterias pueden tener una reacción completa o incompleta. La reacción completa considera que el sustrato o fuente de carbono (compuestos orgánicos) se oxida por completo para realizar la SR, obteniendo como producto final CO₂. Por otro lado, en la reacción incompleta, la fuente de carbono no es oxidado por completo produciendo acetato y CO₂ como resultado.

En la siguiente reacción (Ec. 9) el sustrato utilizado es lactato, y como consideraciones se tiene que es una reacción incompleta, teniendo acetato y CO₂ en el producto final; los electrones son transportados por enzimas transportadoras de electrones en la membrana celular y después hacia enzimas reductoras en el citoplasma. El lactato es usado como fuente de electrones y energía, y como fuente de carbono para la reproducción celular.



La ruta de transporte de electrones y conservación de energía de las BSR es un proceso realizado dentro y fuera de la membrana celular, en donde ocurre una serie de reacciones para convertir el sulfato a sulfito y el sulfito a sulfuro (Odom y Singleton Jr, 1993).

Fuera de la membrana celular ocurre la oxidación del H₂ por la vía enzimática, realizado por las hidrogenasas (H₂-asas); los electrones son transportados por enzimas en la membrana celular y después son liberados en el citoplasma (Cyt c₃). El transporte de electrones está acoplado con el gradiente de protones que

conducen a la producción de ATP (ATPasas) y ADP, liberando energía para ser tomada por el APS (Adenilil sulfato).

Dentro de la membrana celular, el lactato pasa a piruvato y, después, a H₂ y acetato más CO₂ y enzima ATP. El ATP se genera por una vía llamada ATP-sulfurilasa, y la energía tomada por el APS funciona como intermediario para reducir sulfato (SO₄²⁻) a sulfito (SO₃²⁻), por la vía de APS-reductasa. Por último, las enzimas sulfito-reductasas intervienen para catalizar la reducción del sulfito a sulfuro de hidrógeno(H₂S) y agua, (Odom y Singleton Jr, 1993). Proceso representado en la Figura 2.

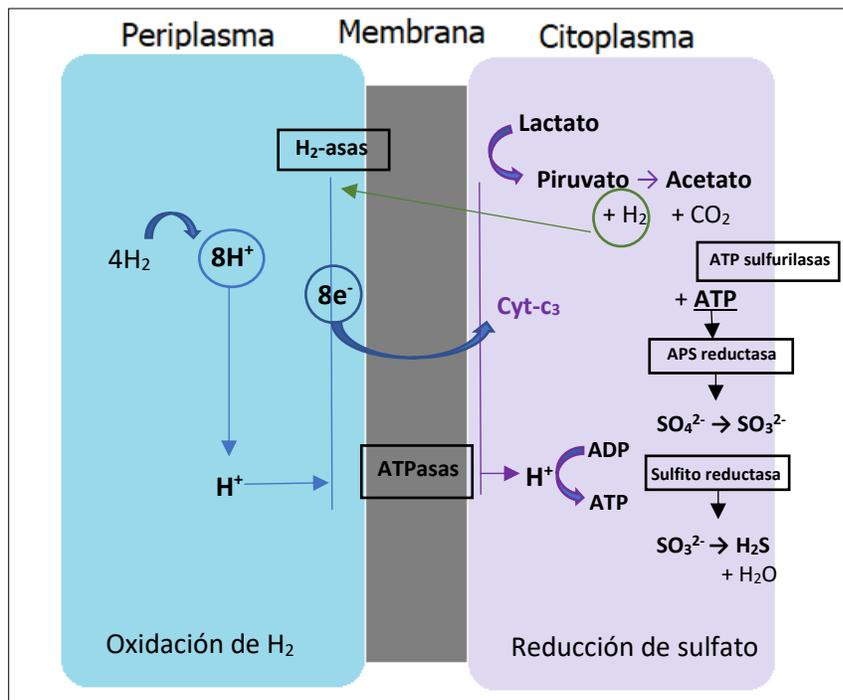


Figura 2. Representación general del proceso de sulfato-reducción en la célula de las BSR.

En general, en el metabolismo de las BSR, las proteínas involucradas en el periplasma, membrana y citoplasma son las hidrogenasas como (Fe)H₂asa, (NiFe)H₂asa y (NiFeSe)H₂asa; Citocromos tipo-c como Monoheme cyto c₅₅₃, Tethareme cyto c₃ y Hexadecaheme cyto c₃; deshidrogenasas como Formiato

deshidrogenasa (FDH) y Lactato deshidrogenasa (LDH); las ATPasas y ATP-sulfurilasa, y APS-reductasa, bisulfito-reductasa y tiosulfato-reductasa que funcionan como aceptores finales de electrones.

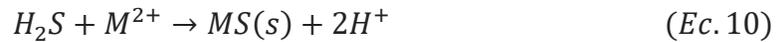
Además del lactato también existen muchos otros compuestos que se pueden utilizar como fuente de carbono y energía, por ejemplo, los hidrocarburos, ácidos mono- y di-carboxílicos, alcoholes, aminoácidos, azúcares, componentes aromáticos, entre otros. La eficacia de este proceso parece estar relacionada con la energía libre de Gibbs utilizando el par redox del H₂ más que las vías implicadas en la reducción de protones (Cord-Ruwisch y col., 1988).

Lo que diferencia el uso de un sustrato a otro, es la energía que proporcionan para realizar la reacción de SR. En la Tabla II se muestran los valores de energía libre de Gibbs determinada según el tipo de sustrato utilizado en la sulfato reducción, así como las reacciones metanogénicas, considerando que se han mencionado anteriormente como competentes con las BSR, sobre todo en el uso de H₂ como donador de electrones.

Tabla II. Energía libre de Gibbs en reacciones de sulfato-reducción y metanogénicas según el tipo de sustrato (Muyzer y Stams, 2008).

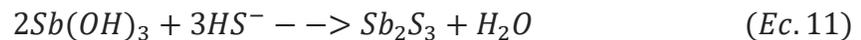
Ecuación	ΔG° (kJ / reacción)
Reacciones Sulfato-Reducción	
$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$	-151.9
$Acetato^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2 HCO_3^- + HS^-$	-47.6
$Propionato^- + 0.75 SO_4^{2-} \rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + 0.75 HS^- + 0.25 H^+$	-37.7
$Butirato^- + 0.5 SO_4^{2-} \rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + 0.5 HS^-$	-27.8
$Lactato^- + 0.5 SO_4^{2-} \rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + 0.5 HS^-$	-80.2
Reacciones Metanogénicas	
$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-135.6
$Acetato^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	-31.0

El sulfuro producido, al estar en contacto con metales pesados, puede reaccionar y formar sulfuros metálicos insolubles por medio de la precipitación, en la cual se establece un equilibrio de disolución-precipitación entre el sólido precipitado y sus iones en disolución. La ecuación que representa esta reacción es la siguiente (Ec.10):



Donde M^{2+} representa a metales, tales como Fe^{+2} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} .

En el caso del antimonio, Sb^{3+} , la reacción con el sulfuro disuelto (HS^-) se puede representar por la Ec.11 ⁽⁴⁵⁾:



2.4.3 Microorganismos

Las BSR al ser anaerobias, están presentes en ambientes con condiciones anóxicas y ambientes ricos en sulfato; además tienen una gran capacidad de adaptación a numerosos ambientes terrestres y acuáticos, por ejemplo: en el océano, sedimentos marinos y lacustres, en las aguas profundas, aguas subterráneas, sistemas de fontanería, descalcificadores, respiraderos hidrotermales, depósitos de sulfuros, pozos petroleros, intestino humano y de animales e insectos (Postgate, 1984).

Estos microorganismos pueden crecer de manera heterotrófica usando moléculas orgánicas de bajo peso molecular y de manera autotrófica usando hidrógeno y dióxido de carbono (Nagpal y col., 2000).

Existe una serie de factores para determinar las condiciones óptimas del desarrollo y la actividad SR de las BSR, como el pH, la temperatura, la relación de demanda química de oxígeno (DQO) y sulfato (SO_4^{2-}), la concentración de

sulfuro disponible, el tiempo de retención hidráulica (TRH) y el potencial redox (ORP).

El pH óptimo para mayor velocidad de crecimiento y máxima reducción es entre 7 y 7.5, pero pueden existir en condiciones de pH de 6 a 9, fuera del rango presentan inhibición; aunque se ha detectado un grupo de BSR categorizadas como Eosinofílicas que realizan la actividad a pH de 2 a 4. El pH es un factor importante para la producción de gases y ácidos grasos volátiles. El aumento de pH promueve mayor acumulación de HCO_3^- , lo cual origina competencia entre bacterias sulfato-reductoras y metanogénicas, también favorece la precipitación de sulfuros metálicos y la aparición de especies de sulfuro: HS^- y S^{2-} . Un pH bajo tiende a la generación de H_2S y acetato, favoreciendo a las bacterias metanogénicas, el incremento en la toxicidad del H_2S y ácidos orgánicos (forma no-disociada), daño celular y acidificación del citoplasma e inhibición celular.

En la Figura 1 se muestra la variación en la especiación de acuerdo con la concentración de sulfuro en función del pH. El H_2S es la especie más tóxica de sulfuro, puede inhibir la actividad microbiana. Salvo que existen especies con mayor tolerancia al H_2S , como las BSR que utilizan H_2 como donador de electrones, que son más tolerantes que las BSR acetoclásticas.

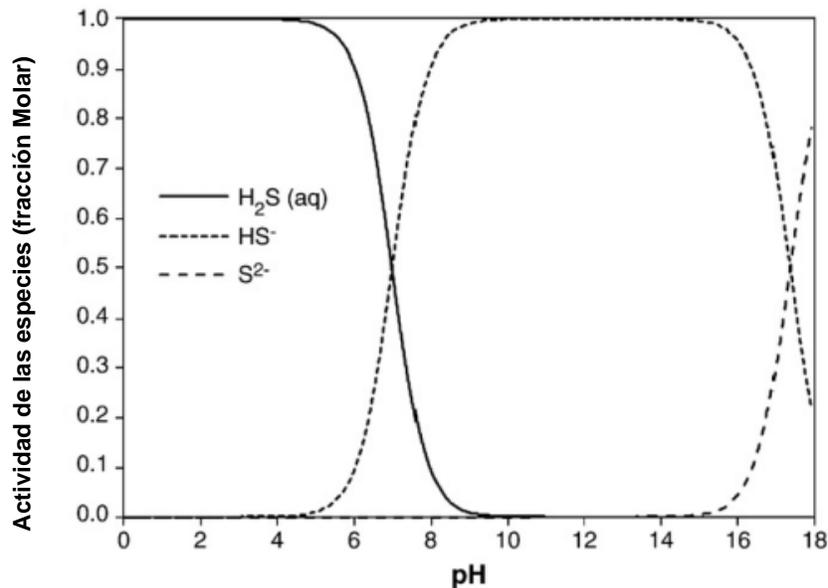


Figura 3. Especiación según la concentración de sulfuro y pH (Lewis, 2010).

La temperatura óptima para las BSR es entre 28 y 32°C, que corresponde a condiciones mesofílicas (23-35°C); sin embargo, se ha determinado actividad de SR en ambientes de temperaturas extremas, como en condiciones psicrófilas (7-18°C) y termofílicas (65-70°C). La temperatura también se relaciona con cambios en la actividad enzimática, regulación de genes y generación de proteínas.

Otro de los factores importantes es la relación de DQO/ SO_4^{2-} que determina la eficiencia en el proceso de la SR. Para la reducción del sulfato son necesarios 8 electrones (e^-) mismos que provienen de la materia orgánica o donador de electrones. En condiciones óptimas, el valor de DQO/ SO_4^{2-} es de 0.67, lo que significa que 1 g de SO_4^{2-} requiere 0.67 g de DQO, permitiendo que todos los electrones fluyan hacia el sulfato (Dar y col., 2008). A relaciones mayores, da lugar a mayor producción de biomasa, mayor acumulación de acetato y al aumento de tolerancia al H_2S de bacterias metanogénicas acetoclásticas para competir por el sulfato presente y por los compuestos orgánicos presentes. Esta

relación ha sido estudiada por otros autores como Dar (2008), que en una relación mayor a 0.67 existe competencia de las BSR y otros microorganismos por los donadores de electrones (Dar y col., 2008). A valores menores de 1.7, las BSR superan en competencia a los metanógenos, ya que más electrones son usados por la SR; a valores entre 1.7 y 2.7 existe una competencia activa entre los metanógenos y las BSR (Mulopo y Schaefer, 2013).

La concentración de sulfuro es un factor importante tanto para la reducción de sulfato como para la precipitación de metales, ya que el sulfuro tiene una fuerte habilidad reductora debido a su estado de valencia (2-) y existe una relación de M/S^{2-} que es el índice de medir la habilidad de las BSR para remover metales en agua residual. A valores menores a 1, $M/S^{2-} < 1$, beneficia la reducción de sulfato y sulfuro. y mejora la precipitación de metales, sin embargo, puede provocar un ambiente tóxico para los microorganismos, disminuyendo la tasa de crecimiento. Por otro lado, valores mayores a 1, $M/S^{2-} > 1$, disminuye la reducción de sulfato, e incrementa la toxicidad por metales residuales, lo cual impide el crecimiento de las bacterias.

El tiempo de retención hidráulica (TRH) es un parámetro relacionado con la actividad microbiana y el desempeño de las reacciones químicas, y depende del proceso y sistema en el que se desempeñe la SR, por ejemplo, el tipo de reactor utilizado y el tipo de efluente. El TRH óptimo varía según la configuración del sistema y el pH del proceso, se ha reportado $THR = 6$ h en condiciones neutras; mientras que, a condiciones ácidas, $THR = 20$ h (Aoyagi y col, 2017). El THR afecta directamente en la dinámica de la comunidad microbiana, un THR corto implica deficiencia en la reproducción celular y actividad microbiana, por el lavado de la biomasa del sistema; además, limita la oxidación de sustratos y genera acumulación de acetato (reacción incompleta). Un THR largo, aumenta la competencia entre BSR y metanógenos ya que aumenta la producción de H_2 .

El potencial redox (ORP) se emplea para reflejar las “macro” propiedades redox de las todas las sustancias en una solución acuosa. $ORP \leq -100$ mV favorece

condiciones reductoras para mantener la actividad de las BSR; ORP > -100 mV favorece condiciones oxidantes y puede inhibir la actividad BSR. La SR se encuentra en un rango de ORP de -150 a -200 mV a pH 7 (Atlas y Bartha, 1993); (Lynch y Poole, 1979).

2.4.4 Aplicaciones

Dentro de los procesos convencionales para la precipitación de metal(oid)es se encuentran los que emplean hidróxidos y sulfuros. De modo que el proceso de sulfato-reducción se puede aplicar para la recuperación de metal(oid)es implementando biorreactores sulfurogénicos para la precipitación de metal(oid)es con el sulfuro producido. Si bien, los metal(oid)es pueden fungir en pequeñas cantidades como nutrientes y oligoelementos por plantas y animales, para que los organismos completen su ciclo vital, en mayores concentraciones pueden superar cierto umbral y volverse tóxicos, como el Cu, Cr, Se, Zn, Ni, Hg, As y Sb, entre otros.

La reacción del sulfuro con los metales pesados produce precipitación de sulfuros metálicos insolubles, los cuales se pueden recuperar y reutilizar en procesos industriales. De este modo, con ayuda de las BSR se pueden depurar aguas ácidas que contengan altas concentraciones de metales pesados y sulfatos.

Algunos autores han realizado estudios en la aplicación de consorcios microbianos sulfato reductores, con la finalidad de reducir Cr^{6+} a Cr^{3+} en sedimentos marinos (Cheung y Gu, 2003), y la aplicación en sedimentos de un campo petrolero en Louisiana, USA, con el fin de investigar la corrosión de tuberías (AlAbbas y col., 2013).

Además, las BSR también se han utilizado en diferentes procesos biotecnológicos como la remediación de suelos y efluentes, en sistemas robustos. Estos procesos han presentado alta eficiencia en la degradación de compuestos complejos, permitiendo llegar hasta su mineralización; también ha

permitido superar limitantes metabólicas como es la alta concentración de sulfuro o bien la acumulación de acetato (Campos Quevedo, 2015).

A pesar de que las BSR se desarrollan mejor en medios de pH entre 6 a 8, algunas BSR han sido aisladas de ambientes extremos como sitios contaminados con petróleo, minas abandonadas, etc. (Sánchez-Andrea y col., 2015), y a pH bajos (3.08-4.02) se ha logrado describir actividad de SR por una población mixta compuesta por varios grupos de BSR acetogénicas y una cepa de *Acidocella* (Kimura y col., 2006).

3. Metodología experimental

3.1 Fuente del inóculo (BSR)

El inóculo utilizado en los experimentos se obtuvo de un reactor anaerobio de una planta cervecera de Cd. Obregón, Sonora. El contenido de sólidos suspendidos volátiles (SSV) fue de 48.41 g/L.

Para estudiar el comportamiento de las BSR, se crearon las condiciones anaerobias necesarias que permitan la sulfato reducción en experimentos en lote con diferentes concentraciones de antimonio (III) y un experimento control que difiere del resto por no contener antimonio. El experimento control permite tener una referencia del comportamiento de los microorganismos sin ser afectados por antimonio y así realizar la comparación con los que sí estarán expuestos al antimonio (III).

3.2 Experimentos en lote con y sin Sb (III)

3.2.1 Medio utilizado

El medio de sulfato reducción utilizado fue el Medio Postgate B modificado (MPB) (Tabla III) formulado por Juan Postgate (Postgate, 1984) que consiste en un medio anaeróbico, que cuenta con lactato como fuente de carbono.

Tabla III. Medio Postgate B modificado

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

Las sales incluidas en el MPB como Na₂SO₄ y MgSO₄·7H₂O que aportan una concentración de 1500 mg/L de sulfato. La relación de lactato y sulfato (DQO/SO₄²⁻) fue de 0.67. La cantidad de lactato se agregó a partir de una solución de lactato de sodio para obtener una concentración de 10 mM.

3.2.2 Preparación

Antes de montar el experimento, el inóculo se mantuvo en condiciones anaerobias, con medio Postgate B modificado y lactato en un bidón de plástico, con la finalidad de mantenerlos activos y descartar algún tipo de inhibición al iniciar el experimento.

Los experimentos se realizaron por triplicado considerando un tratamiento control y otro tratamiento con adición de antimonio (III); para un total de 6 botellas experimentales con capacidad total de 120 mL. En cada experimento se agregaron 2g de SSV/L, 10 mM de lactato y el volumen de trabajo se llevó a 100 mL con MPB. En los experimentos que así lo requerían, se agregó antimonio (III) a partir de una solución stock considerando 3 etapas, iniciando con una

concentración de 5 ppm de antimonio (III), seguido por 10 ppm y, por último, 100 ppm.

Para garantizar las condiciones anaerobias, se burbujeó el líquido contenido en cada botella con una mezcla CO₂/N₂ por 2:30 minutos y, posteriormente se cerraron con tapones de goma de butilo, sellados con tapones de aluminio y se realizó una purga por 1 minuto del espacio de cabeza de cada botella.

Para el cambio de etapa se consideró la disminución de sulfato respecto el tiempo, se estableció un 80% de consumo de sulfato para volver a inyectar en cada botella una concentración total de 1500 mg/L (15.62 mM) de sulfato, 10 mM lactato y la concentración de antimonio correspondiente a cada etapa. Para cada toma de muestra se consideró la cinética de la actividad de las BSR, tomando el tiempo cero y en tiempos específicos de cada botella experimental para determinar pH, sulfato, sulfuro y antimonio.

Al final de las etapas, se realizó un experimento abiótico por triplicado en un volumen de 10 mL, y se utilizó el sulfuro acumulado al final de las tres etapas y se le agregó 100 ppm de antimonio (III). Se incubó a una temperatura de 30°C y se tomó muestra de sulfuro y antimonio (III) al paso de 29 días para determinar la remoción de antimonio y sulfuro utilizado.

3.3 Técnicas analíticas

3.3.1 Determinación de SO₄²⁻

La prueba de sulfato (SO₄²⁻) se realizó por el método Glicerol (ASSAL, 2008), el cual consta de una solución acondicionadora llamada buffer y cloruro de bario (BaCl₂).

La solución de buffer (Tabla IV) funciona como solvente acondicionador que permite la reacción con el cloruro de bario agregado para formar un precipitado

blanco de sulfato de bario (BaSO_4) con valores de turbidez estables para medirlos en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 420 nm.

Tabla IV. Preparación de la solución de buffer

Reactivo	mL
Agua destilada	30
HCl	3
Alcohol isopropílico ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)	10
NaCl	7.5 g*
Glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)	5
Volumen total	49

Se utilizó el espectrofotómetro HACH modelo DR3900 y se realizó la lectura por medio de celdas de plástico de 1 cm a 420 nm.

Para la curva de calibración se utilizó una solución stock preparado con sulfato de sodio anhidrido (Na_2SO_4), a diferentes concentraciones de sulfato en agua destilada, y a partir de la lectura en el espectrofotómetro a 420 nm se obtuvo la ecuación (Ec.12):

$$y = 239.16 x + 3.046 \quad (\text{Ec. 12})$$

$$R^2 = 0.9877$$

Para cada prueba experimental a 20 mL de muestra se añade 1 mL de buffer y 0.117 g de cloruro de bario (BaCl_2) e inmediatamente se agita durante 1 minuto y se deja en reposo por 5 minutos para leer en el espectrofotómetro a 420 nm.

Se realizó el mismo procedimiento con 20 mL de agua destilada (sin sulfato) como blanco para calibrar el espectrofotómetro a 0.

El valor de absorbancia medido se introduce en la ecuación 12 (Ec.12) y el resultado se multiplica por el factor de dilución empleado, que es igual a la concentración final de la muestra.

3.3.2 Determinación de S²⁻

La prueba de sulfuro (S²⁻) se realizó por el método de Cord-Ruwisch (1985). Los reactivos y sustancias necesarios son sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄·5H₂O), ácido clorhídrico concentrado (HCl), sulfuro de sodio nonahidratado (Na₂S·9H₂O) y agua destilada reducida. Para la técnica se necesita una solución stock de sulfato de cobre 0.5 M, una solución stock de ácido clorhídrico 5 M, una solución estándar de sulfuro de sodio 100 Mm y un reactivo de trabajo.

El reactivo de trabajo (CuSO₄ + HCl) se preparó agregando 1 mL de la solución stock de CuSO₄ más 1 mL de solución stock de HCl por cada 100 mL de agua desionizada. Las concentraciones finales en el reactivo de trabajo fueron de 5 mM de CuSO₄ y 50 mM de HCl.

El reactivo de trabajo se preparó al momento de su uso, calculando la cantidad de reactivo necesario para evitar desperdicios.

Para la curva de calibración se utilizó la solución estándar de sulfuro de sodio a 100 mM y el agua destilada reducida, realizando soluciones a diferentes concentraciones de sulfuro obteniendo la ecuación (Ec.13):

$$y = 18.502 x + 0.3836 \quad (Ec. 13)$$

$$R^2 = 0.9894$$

Se utilizó el espectrofotómetro HACH modelo DR3900 y se realizó la lectura por medio de celdas de plástico de 1 cm a 480 nm en tubos HACH con 4 mL de reactivo de trabajo sellados con Parafilm, adicionando 0.1 mL de muestra. Las

lecturas se hicieron por triplicado para leerlo inmediatamente en el espectrofotómetro a 480 nm, previamente calibrado a 0 con el blanco.

De cada triplicado se obtiene un promedio del valor de absorbancia obtenido y se calcula con la ecuación 13 (Ec.13) obteniendo la concentración de sulfuro presente.

3.3.3 Determinación de Sb (III)

La prueba de antimonio se realizó por la técnica de espectrometría de emisión atómica con plasma de microondas (MP-AES) (2020). Se utilizó ácido nítrico (HNO_3) para acidificar las muestras y el material de referencia de Antimonio certificado trazable a SRM de NIST Sb_2O_3 en HCl 7% de la marca Supelco para la curva de calibración y tartrato de antimonio y potasio ($\text{C}_8\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_{12}\text{Sb}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).

El equipo utilizado fue el modelo 4210 MP-AES marca Agilent a una longitud de onda de 206.833 nm.

Para la curva de calibración se ajustó el flujo principal de nitrógeno a 2 L/min, el flujo de carbón a 1.5 L/min y el flujo de nebulización a 0.75 L/min; el límite de detección fue de 0.20 mg/L para un intervalo de concentración de 0.25 a 50 mg/L con el material de referencia a 206.833 nm.

Para procesar la muestra se hizo una dilución de 1 mL de muestra y 9 mL de ácido nítrico al 2% en tubos de centrifuga cónicos de polipropileno de 15 mL, para un volumen total de 10 mL. Cada muestra se realizó por triplicado y se obtuvo un valor promedio en mg/L (ppm).

3.3.4 pH

Para la determinación de pH se utilizó el potenciómetro modelo HI2211 de la marca HANNA. Se emplearon soluciones de calibración de pH estándar de 4 y de 7.

Para esta prueba fue necesario calibrar el equipo, siguiendo las indicaciones del manual de calibración.

Para medir pH se necesitaba al menos 2 mL de solución de cada botella, los cuales se filtraban por una membrana de 0.45 μm para proceder a medir el pH a la temperatura más cercana de su incubación, que corresponde a 30°C. Cada botella de control y antimonio (III) tenía su triplicado, por lo que al final se estimó el promedio.

Entre cada lectura fue necesario enjuagar el electrodo con suficiente agua destilada para eliminar excesos y contaminación de una muestra a otra.

4. Resultados y discusión

4.1 Respuesta de la actividad SR al [Sb (III)].

La respuesta en el pH al inicio y fin de cada etapa a diferentes concentraciones de antimonio (III): 5 ppm, 10 ppm y 100 ppm, respectivamente se muestra en la Tabla V y Figura 4.

Tabla V. Valores de pH al inicio y fin de cada etapa.

Etapa	pH control		pH Sb (III)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	6.6	7.24	6.6	7.45
2	7.42	7.63	7.6	7.48
3	7.52	7.69	7.54	7.59

Puede observarse que al inicio del experimento (Etapa 1), a una baja concentración de antimonio, el medio presentaba un pH ligeramente por debajo de la neutralidad, regulándose al finalizar la etapa. Al inicio y final de la Etapa 2, que corresponde a 10 ppm de antimonio (III), se mantuvieron las condiciones de pH, incluso en concentraciones mayores como en la Etapa 3 a 100 ppm. Los valores de pH indican que las cantidades de antimonio (III) utilizadas prácticamente no afectaron la actividad de SR de acuerdo con el lote de control que muestra valores similares al lote de antimonio (III).

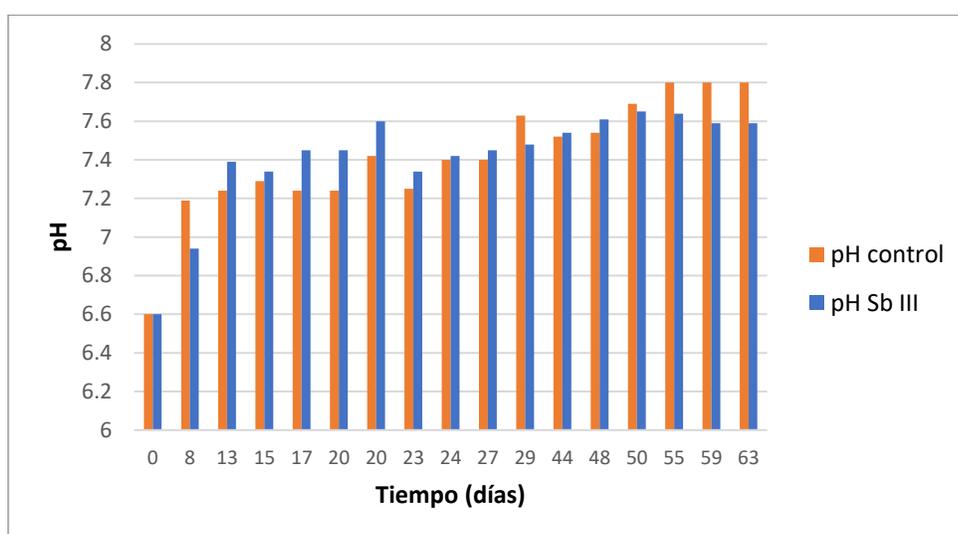


Figura 4. Comportamiento del pH respecto al tiempo durante los experimentos.

El tiempo de duración de cada etapa dependió completamente de la actividad de SR (Figura 4). De acuerdo con los datos, la etapa 1 presentó valores constantes entre el día 13 y 20, sugiriendo que la actividad de SR dejó de realizar la sulfato-reducción tanto para el Control como el antimonio (III).

En la etapa 2 se alcanzó una remoción del sulfato del 88% en el control, y 71% en el experimento con antimonio (III) promoviendo el cambio de etapa después de 9 días.

En la etapa 3, el control logró la remoción de sulfato esperada al paso de 11 días, mientras que el experimento con antimonio (III) necesitó 19 días para lograr la misma disminución de sulfato de 83% y 84%, respectivamente.

Los datos de la Tabla VI y Tabla VII corresponden a los niveles iniciales y finales de sulfato en mg/L y la remoción final obtenida, para los experimento control y aquellos adicionados con antimonio (III), respectivamente.

Tabla VI. Valores de concentración de sulfato y sulfuro y porcentaje de remoción de sulfato para el experimento control.

Etapa	Duración (días)	SO ₄ ²⁻ inicial (mM)	SO ₄ ²⁻ final (mM)	Remoción de sulfato (%)	Tasa de remoción (mM/d) ^a	Sulfuro final (mM)
1	20	15.62	5.67	64	0.68	6.24
2	9	17.49	3.71	88	2.81	5.01
3	11	14.54	1.59	83	2.31	4

(a) Tasa de remoción máxima de sulfato, correspondiente a las primeras tres mediciones de cada etapa.

Tabla VII. Valores de concentración de sulfato y sulfuro y porcentaje de remoción de sulfato para el experimento con Sb (III).

Etapa	Duración (días)	SO ₄ ²⁻ inicial (mM)	SO ₄ ²⁻ final (mM)	Remoción de sulfato (%)	Tasa de remoción (mM/d) ^a	Sulfuro final (mM)
1	20	15.62	5.76	63	0.69	5.95
2	9	15.66	4.58	71	1.99	5.01
3	19	17.59	4.52	84	1.74	4.26

(a) Tasa de remoción máxima de sulfato, correspondiente a las primeras tres mediciones de cada etapa.

Realizando la comparación del sulfato removido y el sulfuro producido entre el control y el tratamiento con antimonio (III) por etapa, se observa que el antimonio (III) no representó alguna inhibición biológica para la actividad de las BSR. En los resultados representados gráficamente (Figura 5 y Figura 6), se observa el incremento del sulfuro y la disminución del sulfato respecto al tiempo, lo que representa la cinética de la sulfato-reducción para el tratamiento control y Sb (III).

A su vez, la tasa de remoción máxima se presentó en las primeras tres mediciones de cada etapa tanto para el experimento control y el de Sb(III). Sin embargo, la tasa de remoción fue mayor para los experimentos control que para los de antimonio (III), alcanzando el valor de 2.81 mM/d (270.08 mg/L-d) en la etapa 2, contra 1.99 mM/d (190.76 mg/L-d) en el experimento con antimonio (III), en los primeros 4 días. En la etapa 3 se observó el mismo comportamiento en el experimento control correspondiente a los primeros 4 días, alcanzando una tasa de remoción de 2.31 mM/d (221.97 mg/L-d), a comparación del experimento con antimonio (III) que alcanzó 1.74 mM/d (167.21 mg/L-d) de remoción máxima en una semana.

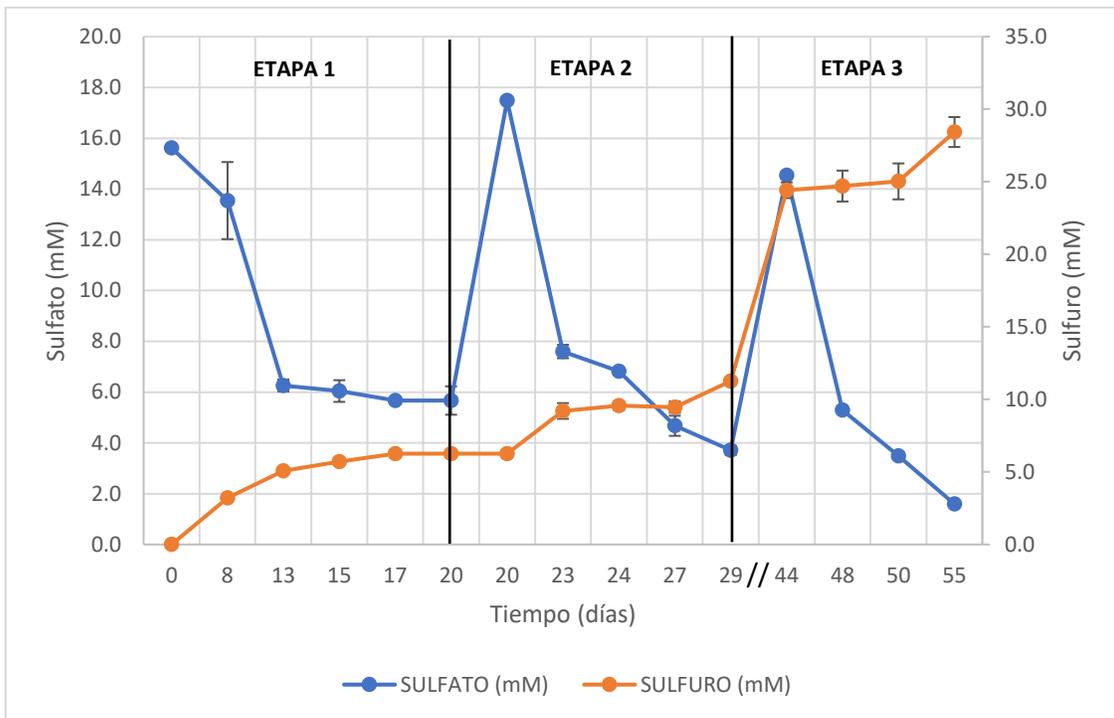


Figura 5. Sulfato-Sulfuro respecto al tiempo para el experimento control.

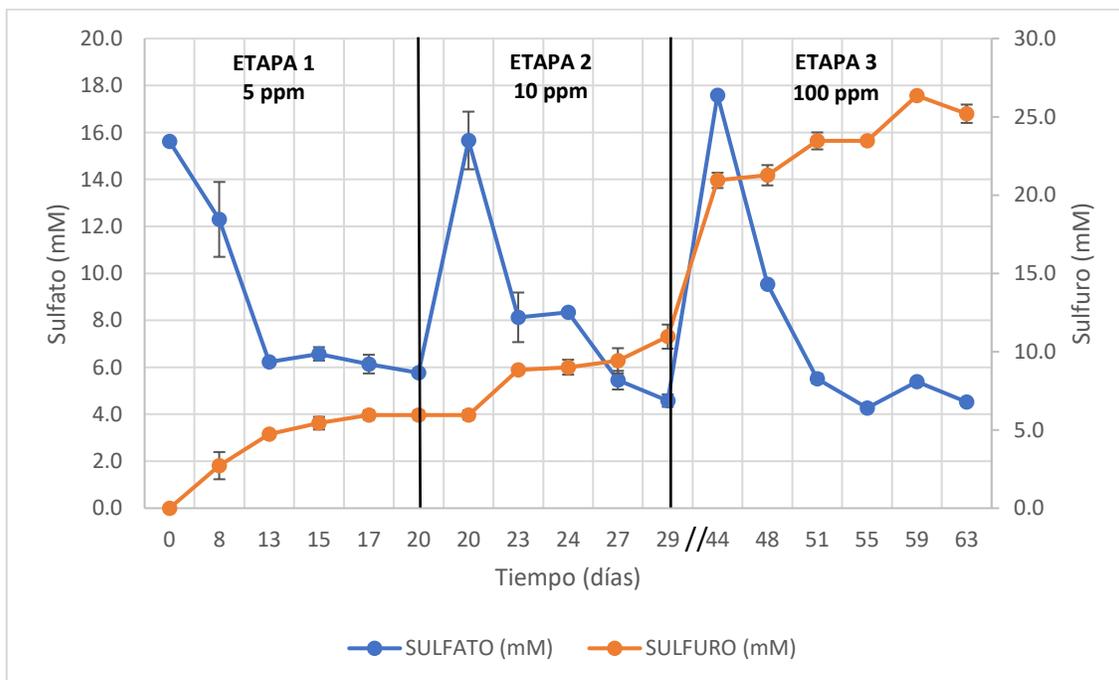


Figura 6. Sulfato-Sulfuro respecto al tiempo para el experimento con Sb (III).

En cada etapa se estudió la actividad de sulfato-reducción con lactato como fuente de carbono, con una concentración de 10 mM, tomando en cuenta la reacción siguiente, Ec. 14, (Xu y Chen, 2020):



En esta reacción, en condiciones anaerobias o anóxicas, la reducción de lactato produce acetato siempre y cuando no sea una reacción completa. La presencia de acetato es un indicador que la sulfato-reducción fue incompleta.

Se hizo un análisis de las muestras al final de cada etapa para determinar cuánto lactato se produjo y si la reacción fue completa o incompleta, mediante una cromatografía líquida (HPLC). Los resultados obtenidos son los siguientes (Tabla VIII):

Tabla VIII. Comparación de lactato consumido y acetato producido teórico y experimental.

Etapa	Sulfato consumido (mg/L)	Lactato consumido final (mg/L)	Acetato teórico final (mg/L) ^(a)	Acetato medido final (mg/L)
Sb (III)				
1	946.32	819.4	537.05	754.3
2	1064.28	891.3	584.17	377.2
3	1255.59	864.7	566.74	90
Control				
3	1243.63	825.3	540.91	36.1

^(a) El acetato teórico final fue calculado con la ecuación 10, con el valor del lactato consumido final.

El lactato agregado en cada etapa fue de 10 mM, o bien, 900.8 mg/L y los resultados obtenidos indican que la reacción fue incompleta, produciendo ac.

acético. En la etapa 1, el lactato consumido fue de 819.4 mg/L y se determinaron en la muestra final del experimento, 754.3 mg/L de ac. acético, 40% por encima al valor teórico, es decir, hubo una reacción sulfato-reducción incompleta. Algunas especies de *Desulfobacter*, que utilizan acetato pueden crecer relativamente rápido (tiempo de generación de 20 h o menos) y tener alto rendimiento celular, sin embargo, la mayoría de las BSR que oxidan completamente los sustratos crecen más lento, frecuentemente sus tiempos de generación son de más de 20 h (Widdel, 1988).

En la etapa 2, se obtuvo un valor de ac. acético de 377.2 mg/L sugiriendo que coexistieron especies de BSR capaces de utilizar el ac. acético como fuente de carbono, ya que no se presenta acumulación y está 35% por debajo del valor teórico.

El acetato es un sustrato orgánico que puede ser utilizado como donador de electrones y fuente de carbono para la SR, también en diferentes condiciones por otro tipo de bacterias, como las metanogénicas. En este caso, que se estudia la SR por BSR, la producción de acetato durante la reducción biológica de sulfato es en realidad un gran inconveniente porque algunas BSR no pueden oxidar completamente el acetato incluso con niveles excesivos de sulfato (Lens y col., 2002). En consecuencia, el acetato que queda en el efluente contribuye en gran medida a la DQO residual (Widdel, 1988); (Omil y col., 1996); (Lens y col., 1998). En este experimento no se determinó valores de DQO.

En la etapa 3, los valores de sulfato y lactato consumidos fueron similares a las etapas anteriores, sin embargo, el ác. acético medido fue 84% menos que el valor teórico, lo que indica que con el paso del tiempo hubo consumo de acetato como fuente de carbono, mismo efecto que en la etapa 2. En la Figura 6, en la etapa 3, se observa la actividad sulfato reductora con el paso de los días, denotando que pudo coexistir el uso de dos sustratos (lactato y acetato), para seguir realizando la sulfato-reducción por las BSR, posiblemente por la existencia de diferentes tipos de especies. Por ejemplo, las especies del género

Desulfotomaculum suelen consumir acetato, pero *Desulfovibrio* no lo utiliza. Este último género sólo degrada el lactato a acetato y se le conoce comúnmente como una BSR incompleta (Widdel, 1988).

En el caso del experimento Control, el análisis se realizó al final del experimento, y se observa que el resultado de acetato medido fue de apenas el 7% en promedio de acuerdo con el valor teórico calculado. Este resultado se puede deber a que los controles no sufrieron ningún tipo de inhibición por el antimonio (III), lo cual permitió que las condiciones sulfato-reductoras fueran mejores para la actividad de las BSR, propiciando la actividad de BSR completas que utilizaron acetato como sustrato en el transcurso del experimento.

En comparación del estudio realizado sobre la sulfato-reducción con BSR como tratamiento de remoción del arseniato (Liu y col., 2023), (siendo el arsénico un metaloide con similitud al antimonio) se encontró una eficiencia de remoción de sulfato del 97.5% sin presencia de arsénico con una concentración inicial de 2000 mg/L de sulfato, utilizando 3000 mg/L de lactato como fuente de carbono, sin acumulación de sulfuro. En el tratamiento con arsénico (139 ppm de AsO_4^{3-}), se logró una eficiencia del 58.9% de remoción de sulfato.

En este estudio, la remoción de sulfato tuvo una eficiencia de hasta el 88% y 84% de remoción en los experimentos control y con antimonio (III) (a 100 ppm), respectivamente, utilizando 1500 mg/L de sulfato y 900.8 mg/L (10mM) de lactato. Consumiendo hasta un 99% de lactato, e incluso hasta un 84% del acetato producido en el tratamiento con antimonio (III) en la etapa 3, y un 93% en el experimento control. La eficiencia de remoción de sulfato que se logró en este estudio es mayor al 80% tanto en presencia y ausencia de antimonio. Y el sulfuro acumulado permite la reacción con el antimonio (III) en altas concentraciones para formar sulfuros de antimonio (III).

La falta de estudios sobre la remoción de antimonio (III) con bacterias sulfato-reductoras no permite realizar una comparación directa con los resultados

obtenidos en esta investigación, sin embargo, se logró la remoción de sulfato en presencia de antimonio con eficiencias relativamente altas.

4.2 Remoción de Sb en experimento en lote

En la Tabla IX, se muestran los datos medidos de antimonio al inicio y final de cada etapa para determinar el porcentaje de remoción de antimonio en cada etapa, así como el valor teórico según su reacción con el sulfuro disponible.

En la etapa 1 se alcanzó una remoción del 50% de antimonio (III), a diferencia de la etapa 2 en la que no presentó cambio alguno en la concentración antimonio medida. Un factor importante en la reacción pudo ser el tiempo de duración de cada etapa, ya que la etapa 2 duró la mitad de los días (9 días) que la etapa 1 (20 días). También, la concentración de antimonio y sulfuro pudo influir en la formación del sulfuro de antimonio, ya que la solubilidad de la estibina aumenta en concentraciones mayores de sulfuro (Olsen y col., 2017).

Por el contrario, en la etapa 3 se logró la mayor remoción de antimonio, alcanzando el 98.21%. La cantidad de sulfuro acumulada pudo haber promovido la reacción para formar estibina (Sb_2S_3).

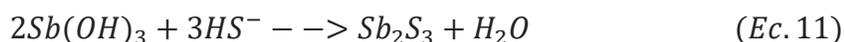
Tabla IX. Remoción del Sb (III) por etapa y reacción con el sulfuro.

Etapa	[Sb inicial] ^a (mM)	[Sb final] ^b (mM)	[Sb removido] (mM)	Sb removido %	Sulfuro necesario ^c (mM)	Sulfuro utilizado ^d (mM)	Sulfuro sin utilizar ^e (mM)
1	5	2.48	2.52	50.4	0.0616	0.0310	3.88
2	12.48	12.58	0	0	0.1537	0	6.08
3	132.25	2.37	129.88	98.21	1.6292	1.6000	7.22

(a) Concentración de antimonio con el que inició la etapa. (b) Concentración de antimonio medido al final de cada etapa. (c) Cantidad de Sulfuro en [mM] necesario para remover el [Sb inicial]. (d) Cantidad de Sulfuro en [mM] que se utilizó en la reacción para remover antimonio. (e) El valor del sulfuro sin utilizar es la diferencia entre el valor teórico que se debió producir estequiométricamente con el valor medido final por etapa (Tabla VII).

La cantidad de sulfuro producido en cada etapa excede el valor teórico mínimo necesario para remover las concentraciones de antimonio presentes en cada etapa. De acuerdo con los cálculos realizados, la cantidad de sulfuro necesario para la remoción del antimonio fue menos de 1.63 mM.

De acuerdo con la reacción de antimonio y sulfuro para formar sulfuro de antimonio (Sb_2S_3) (Ec. 11), tomando 10 mM como referencia, 10 mM de sulfuro podría reaccionar con aproximadamente 800 mM (o ppm) de antimonio, o bien, 1 mM de sulfuro podría reaccionar con 80 mM (o ppm) de antimonio, aproximadamente, para formar 3.28×10^{-1} mM de estibina.



Teniendo estos cálculos como referencia, podemos realizar la comparación con los resultados obtenidos en cada etapa de acuerdo con el sulfuro presente.

El valor del sulfuro sin utilizar en la Tabla IX, es la diferencia entre el valor teórico que se debió producir estequiométricamente con el valor medido final por etapa (Tabla VII). Esta diferencia corresponde a la concentración de sulfuro que reaccionó por etapa, por lo cual es el valor tomado como base para realizar los cálculos de la reacción de la Ec. 11.

El valor teórico de producción de sulfuro se calculó en base a la Ec. 14, utilizando la concentración inicial de sulfato de cada etapa.



Una vez mencionado esto, en la Etapa 1 se cuantificaron 3.91 mM de sulfuro y de acuerdo con los cálculos teóricos, esta concentración es suficiente para que reaccione con las 5 mM o ppm de antimonio agregadas. Sin embargo, experimentalmente solo el 50% de antimonio fue removido de la fase acuosa, lo cual se puede deber a diversos factores como el tiempo y la capacidad de adaptación de los microorganismos, el pH del medio y la solubilidad de la formación de sulfuros de antimonio.

Por otro lado, en la Etapa 2 no hubo dato experimental que nos indicara que hubo reacción de antimonio con el sulfuro, a pesar de que la actividad de SR siguió en curso hasta el día final de esta etapa. En este caso, se puede considerar el tiempo como un factor importante para que ocurra la reacción. Tanto en la etapa 1 y 3 (20 y 19 días, respectivamente) se cuantificó una disminución en el sulfuro, sugiriendo la reacción con el antimonio presente. En cambio, en la etapa 2, la duración fue de 9 días (menos de la mitad del tiempo que las etapas 1 y 3), que, así como en la sulfato-reducción, pudo ser un factor que interfirió para que ocurriera dicha reacción.

En la Etapa 3 hubo una remoción del 98% de antimonio, durante esta etapa estaban disponibles 8.82 mM de sulfuro, lo cual supera el valor teórico de sulfuro

necesario para remover el antimonio por completo, que corresponde a 1.6292 mM de sulfuro.

De acuerdo con la Tabla X, se hace una comparación con estudios sobre la eficiencia de remoción de antimonio (III) y este estudio, los cuales difieren en el método utilizado, ya que no se pudo encontrar estudios sobre el uso de BSR para la remoción de antimonio (III) y comparar directamente los resultados.

Tabla X. Comparación de estudios para la remoción de Sb (III).

Método utilizado	Material	Concentración de Sb(III)	Máxima Eficiencia de remoción de Sb %	Referencia
Adsorción	Nanoláminas funcionalizadas de hierro con quitosano	2 a 100 ppm	100% (máximo) y 85.6% (promedio de 4 pruebas)	(Zeng y col., 2020)
Adsorción	Nanopartículas de hierro fitosintetizadas	1, 1.5 y 2 ppm	93%	(Li y col., 2022)
Sulfato-Reducción	BSR	100 ppm	98.2%	Estudio presente

4.3 Remoción de Sb en experimento abiótico

Adicional al experimento en lote con Sb(III), se realizó un experimento abiótico por triplicado en un volumen de 10 mL, en donde se utilizó el sulfuro acumulado del experimento control, correspondiente a 28.42 mM, y se le agregó 100 ppm de Sb(III) para analizar la remoción de antimonio al paso de 30 días. Los datos experimentales se muestran en la Tabla XI.

Tabla XI. Remoción de Sb (III) a 100 ppm con sulfuro acumulado del experimento control.

Remoción de Sb (%)	Sulfuro inicial (mM)	Sulfuro final (mM)	Diferencia de sulfuro (mM)
41.7	28.42	15.28	13.14

Los valores de la tabla corresponden al promedio del triplicado, tanto para el antimonio como el sulfuro medido.

La remoción del antimonio obtenida en el experimento biológico (98.21%) fue mejor que en el experimento abiótico anaerobio (41.7%), a pesar del tiempo transcurrido, por lo cual podemos considerar la importancia de las condiciones para la precipitación de los sulfuros de antimonio, los cuales al paso de 24 horas ya se podían visualizar.

También se pudo determinar que en el experimento abiótico tener sulfuro en exceso no es determinante para que ocurra una reacción con el antimonio presente.

En el estudio de Liu y otros (2023), determinaron el mismo comportamiento en su experimento sin microorganismos, lo que indicó que la formación de precipitados de sulfuro de arsénico dependía en gran medida del proceso microbiano (Liu y col., 2023). En comparación con este estudio, la diferencia de la remoción del antimonio entre el experimento biológico y abiótico anaerobio, fue del 56%, indicando la importancia de la existencia de los microorganismos para la precipitación de sulfuros de antimonio.

En la Figura 7 se puede ver que visualmente no hubo diferencia en la coloración del experimento de antimonio (III) respecto del control al final de la etapa 1.

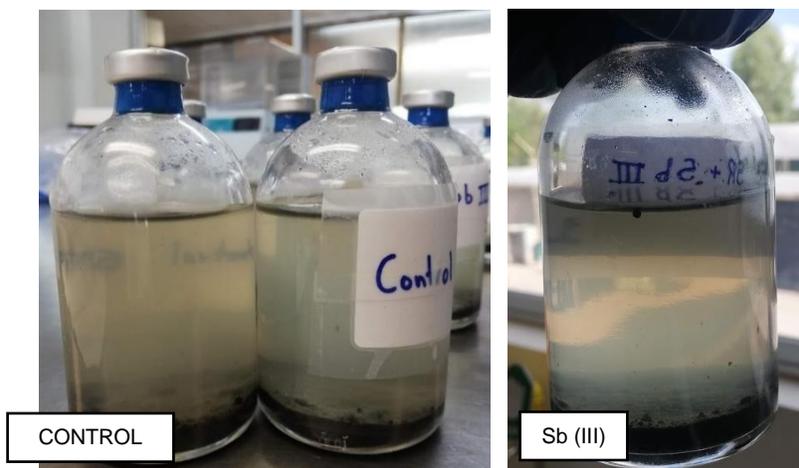


Figura 7. Final de etapa 1, control y Sb (III), respectivamente.

En la etapa 2, se observó una ligera coloración en los experimentos de antimonio (III), pero al final el líquido clarificó, como se observa en la Figura 8.

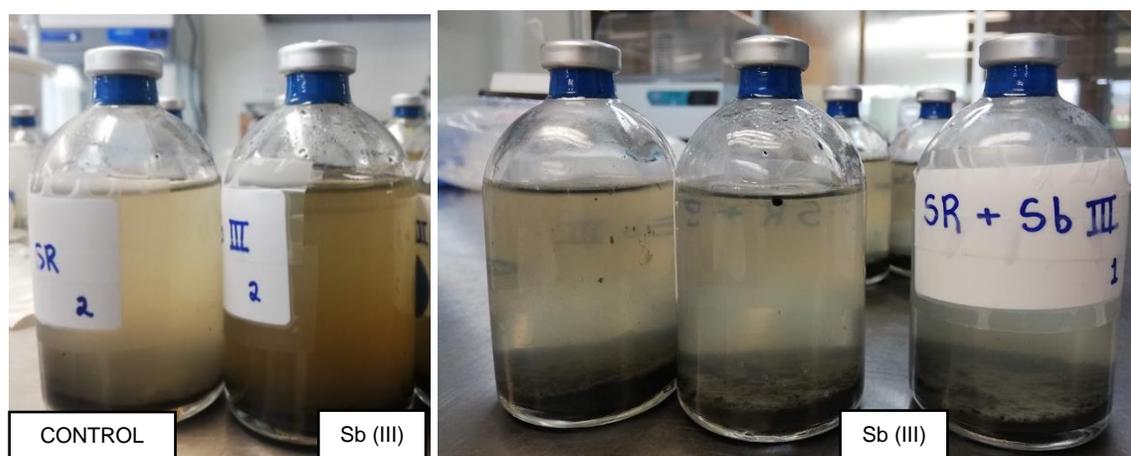


Figura 8. Inicio y final de etapa 2.

En la Figura 9, se visualiza el experimento control y Sb (III) correspondiente a la etapa 3, en el cual se observa claramente la diferencia en el color de los experimentos. En el experimento con Sb(III), el color naranja representa la reacción del antimonio con el sulfuro y la formación de sulfuros de antimonio.



Figura 9. Etapa 3 correspondiente a los experimentos (A) control, sin antimonio y (B) 100 ppm de Sb (III).

En la figura 10, se muestra el experimento abiótico al paso de 30 días. El volumen de 10 mL nos permitió visualizar con mayor claridad los precipitados de sulfuro de antimonio formados.



Figura 10. Reacción de antimonio con sulfuro en experimento abiótico.

5. Conclusiones y recomendaciones

Las BSR lograron realizar la sulfato-reducción prácticamente sin afectaciones o alteraciones en el pH. Los resultados demuestran la actividad de las BSR, aún a

altas concentraciones de antimonio (III), incluso ayudando a estabilizar el pH del medio alrededor de 7.5.

Se determinó que la reacción de antimonio (III) con sulfuro es más favorable para altas concentraciones de sulfuro y antimonio, debido a que el sulfuro en mayor concentración favorece la formación de precipitados de sulfuro de antimonio. Se pudo visualizar y verificar este producto por la aparición de precipitados de un color naranja.

La actividad de las BSR no se afectó a concentraciones menores de 10 ppm de antimonio. A altas concentraciones de antimonio (III) y de sulfuro acumulado se observó una reacción (precipitados) y una ligera inhibición en la actividad sulfato-reductora, la cual fue más lenta en comparación con las etapas 1 y 2.

El tiempo de adaptación fue un factor importante en la actividad de las BSR para poder reducir el sulfato presente a sulfuro y, a su vez, permitir que el sulfuro biogénico reaccione con el antimonio.

Las condiciones para el desarrollo y crecimiento de las BSR son sumamente importantes para el proceso de sulfato-reducción y la precipitación. La ausencia de microorganismos redujo 56% la eficiencia de remoción de antimonio a 100 ppm.

De acuerdo con el estudio realizado aplicar la sulfato-reducción por las BSR como un tratamiento para remover antimonio ofrece buenos resultados de hasta el 98% de remoción de antimonio (III).

5.1 Recomendaciones

El estudio realizado en este trabajo sobre la evaluación del consorcio microbiano con bacterias sulfato-reductoras expuesto al antimonio (III) en un medio acuoso permite seguir explorando la respuesta de estas bacterias ante mayores concentraciones de antimonio (III) para su remoción, considerando que no

existen estudios específicos utilizando bacterias sulfato-reductoras ante antimonio (III); incluso demostrar si estas bacterias continúan realizando un comportamiento similar en un medio acuoso que provenga de un drenaje de minas o drenaje ácido de minas, así como también de residuos industriales.

También se puede seguir explorando el estudio para determinar qué tipo de especies predominan en su desarrollo y crecimiento en estas condiciones, así como mayor eficiencia en la actividad de sulfato-reducción.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el proceso podría implementarse para obtener otro tipo de precipitados y, con la ayuda de procesos físicos, recuperar el metal(oide) de interés. Así como también promueve la investigación en la aplicación de BSR para la formación de precipitados de sulfuro de antimonio y determinar qué tipo de especies se forman, para la recuperación de este metaloide y remediación de medios acuosos.

Bibliografía

- Agencia española de medicamentos y productos sanitarios, cima. (2022). *Ficha técnica Glucantime 1500 mg/5 mL (17783)*.
- AlAbbas, F., Williamson, C., Bholá, S., & al, e. (2013). Microbial Corrosion in Linepipe Steel Under the Influence of a Sulfate-Reducing Consortium Isolated from an Oil Field. *J. of Materi Eng and Perform* 22, 3517–3529.
- Aoyagi, T., Hamai, T., Hori, T., & al, e. (2017). Hydraulic retention time and pH affect the performance and microbial communities of passive bioreactors for treatment of acid mine drainage. *AMB Expr* 7.
- ASSAL. (2008). *Determinación de ion sulfato en agua*. Santa Fe: assal.gov.ar.
- Asturnatura. (2023). *Estibina*. España: asturnatura.com.
- Atlas, R. M., & Bartha, R. (1993). *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Redwood city, California: Benjamin/Cummings.
- Buchi Gatica, J. D. (2020). *Proceso de obtención de trióxido de antimonio (Sb₂O₃), trióxido de arsénico (As₂O₃) y plomo (Pb)*. Chile: Compañía minera pargo minerals spa.
- Campos Quevedo, N. G. (2015). *Enriquecimiento y cultivo de un consorcio sulfato-reductor ácido tolerante con capacidad de consumir acetato*. San Luis Potosí: IPICYT.
- Cassiot, C., Ujevic, M., Muñoz, M., Seidel, J., & Elbaz-Poulichet, F. (2007). Antimony and arsenic mobility in a creek draining an antimony mine abandoned 85 years ago (upper Orb basin, France). *Applied Geochemistry*, 788-796.
- Cervantes, C. (2019). Interacciones bacterianas con el Antimonio. *Ciencia Nicolaita* #77, 22-35.
- Chandra Dey, B. (2023). *11 usos del antimonio en diferentes industrias*. Bangalore: Lambda Geeks.
- Cheung, K., & Gu, J. (2003). Reduction of chromate (CrO₄(²⁻)) by an enrichment consortium and an isolate of marine sulfate-reducing bacteria. *Chemosphere* 52, 1523-1529.
- 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.
- Cord-Ruwisch, R., Seitz, H., & Conrad, R. (1988). The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the terminal electron acceptor. *Arch Microbiol* 149, 350–357.

- Corrales-Maldonado, C., Varas-Arispuro, I., Vallejo-Cohén, S., & Martínez-Téllez, M. (2013). DEFICIENCIA DE AZUFRE EN SUELOS CULTIVABLES Y SU EFECTO EN LA PRODUCTIVIDAD. *Biocencia*, 38-44.
- Dar, S., Kleerebezem, R., Stams, A., Kuenen, J., & Muyzer, G. (2008). Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio. *Appl Microbiol Biotechnol* 78, 1045-1055.
- Departamento de calidad y seguridad de productos. (2014). *Evaluación de los requisitos de seguridad en fósforos*. Chile: SERNAC.
- EU. (1998). *EU Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption*.
- Fernández Aldariz, I. (2021). *¿Cuál es el ciclo del azufre o ciclo biogeoquímico del azufre?* Greentech.
- Fundación Chile. (2019). *Manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados*. Chile.
- Gutiérrez Angulo, C. (2019). Antimonio. En R. Cuéllar, & M. L. Passarge, *La tabla de los elementos* (pág. 287). Cd. de México: La cabra ediciones.
- Hansen, T. A. (1994). Metabolism of sulfate-reducing prokaryotes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 165-185.
- Kimura, S., Hallberg, K., & Johnson, D. (2006). Sulfidogenesis in low pH (3.8-4.2) media by a mixed population of acidophilic bacteria. *Biodegradation* 17, 57-65.
- Kolmert, S., & Johnson, B. (2001). Remediation of acidic waste water using immobilised, acidophilic sulfate-reducing bacteria. *Chemical Technology and Biotechnology* 76,8, 836-843.
- Lenntech . (2023). *Antimonio - Sb*. Delfgauw, Países Bajos: (European Head Office).
- Lens, P., Vallerol, M., Esposito, G., & Zandvoort, M. (2002). Perspectives of sulfate reducing bioreactors in environmental biotechnology. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 1, 311-325.
- Lens, P., Visser, A., Janssen, L., Hulshoff, P., & Lettinga, G. (1998). Biotechnological treatment of sulfate rich wastewater. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 28, 41-88.
- Lewis, A. E. (2010). Review of metal sulphide precipitation. *Hydrometallurgy*, 222-234.
- Li, H., Gong, K., Jin, X., Owens, G., & Chen, Z. (2022). Mechanism for the simultaneous removal of Sb(III) and Sb(V) from mining wastewater by photosynthesized iron nanoparticles. *Chemosphere*, 307, 135778.

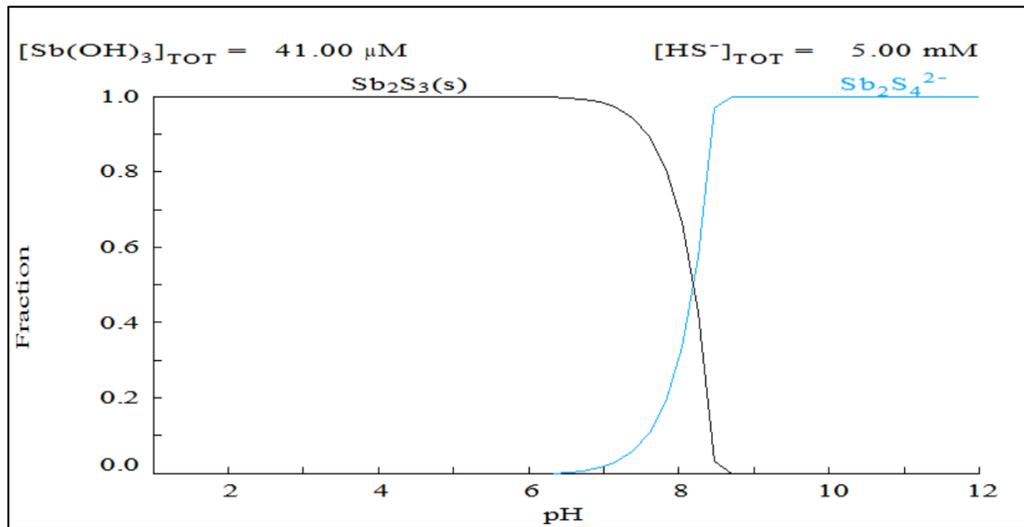
- Li, J., Wang, Q., Oremland, R. S., Kulp, T. R., Rensing, C., & Wang, G. (2016). Microbial antimony biogeochemistry: Enzymes, regulation and related metabolic pathways. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 5482-5495.
- Liu, X., Ren, W., Lin, M., Tan, X., & Wan, C. (2023). Biomineralization behavior and mechanism of microbial-mediated removal of arsenate from water. *Environmental Research*, 231, 116183.
- Lopez Tricas, J. M. (2020). *Antimonio en la historia farmacéutica*. Info-farmacia.com.
- Lynch, J. M., & Poole, N. (1979). *Microbial ecology: A conceptual approach*. New York: John Wiley & Sons.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1997). Brock. Biología de los microorganismos. Ed. 10. New Jersey USA: Prentice Hall.
- Maratta Martínez, S. A. (2019). *Micropreconcentración y especiación de As y Sb empleando una aguja cargada con nanotubos de carbono en un sistema de microextracción en fase sólida*. San Luis: Universidad Nacional de San Luis.
- Moreno Andrade, I., Ramirez Patiño, J., Pérez Treviña, J., & Carrillo Reyes, J. (2021). Tratamiento de aguas residuales conteniendo antimonio. *GACETA INSTITUTO DE INGENIERÍA UNAM*.
- Mulopo, J., & Schaefer, L. (2013). Effect of the addition of zero valent iron (Fe(0)) on the batch biological sulphate reduction using grass cellulose as carbon source. *Appl Biochem Biotechnol*, 2020-2029.
- Muyzer, G., & Stams, A. J. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Review Microbiology*, 441-454.
- Nagpal, S., Chuichulcherm, S., Peeva, L., & Livingston, A. (2000). Microbial sulfate reduction in a liquid-solid fluidized bed reactor. *Biotechnol Bioeng* 70, 370-380.
- Nam, S. H., Yang, C. Y., & An, Y. J. (2009). Effects of antimony on aquatic organisms (Larva and embryo of *Oryzias latipes*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus mixtus*, and *Pseudokirchneriella subcapitata*). *Chemosphere*, 889-893.
- Natarajan, K., & Padukone, S. U. (2013). *Minerals and Metallurgical Processing*, 30, 205-211.
- New Jersey Department of Health. (2012). *Hoja informativa sobre sustancias peligrosas. Antimonio (CAS 7440-36-0)*.
- Nordberg, G. (1998). Capitulo 63: Metales: Propiedades químicas y toxicidad; ;Antimonio. En *ENCICLOPEDIA DE SALUD Y SEGURIDAD EN EL TRABAJO* (pág. 4720). Madrid: Chantal Dufresne, BA.
- Odom, J., & Singleton Jr, R. (1993). *The Sulfate-Reducing Bacteria: contemporary perspectives*. Wilmington, DE: Brock/Springer.

- Olsen, N., Mountain, B., & Seward, T. (2017). Antimony(III) Speciation in Hydrosulfide Solutions from 70 to 400 °C and up to 300 bar. *ACS Earth Space Chem.*, 1058-1072.
- Omil, F., Lens, P., Hulshoff, P., & Lettinga, G. (1996). Effect of upward velocity and sulphide concentration on volatile fatty acid degradation in a sulphidogenic granular sludge reactor. *Process Biochemistry* 31, 699-710.
- Ortiz Bernad, I., Sanz García, J., Dorado Valtíño, M., & Villar Fernández, S. (2007). *Técnicas de recuperación de suelos contaminados*. Madrid: Universidad de Alcalá.
- Papirio, S., Villa-Gomez, D., Esposito, G., Pirozzi, F., & Lens, P. (2013). Acid mine drainage treatment in fluidized-bed bioreactors by sulfate-reducing bacteria: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 43:23, 2545-2580.
- Pérez Esteve, E., & Gómez Llorente, H. (2020). *Técnicas de espectrometría atómica para el análisis de la composición elemental de materiales nanoestructurados artificialmente*. Valencia: Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia.
- Postgate, J. (1984). *The sulfate-reducing bacteria. 2nd edition*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
- Sánchez-Andrea, I., Sanz, J. L., Bijmans, M. F., & Stams, A. J. (2014). Sulfate reduction at low pH to remediate acid mine drainage. *Hazardous Materials*, 269, 98-109.
- Sánchez-Andrea, I., Stams, A., Hedrich, S., Nancucheo, I., & Johnson, D. (2015). *Desulfosporosinus acididurans* sp. nov.: an acidophilic sulfate-reducing bacterium isolated from acidic sediments. *Extremophiles* 19, 39-47.
- Schoenau, J. J., & Malhi, S. S. (2008). Chapter 1: Sulfur forms and cycling processes in soil and their relationship to sulfur fertility. En *Sulfur: A missing link between Soils, Crops, and Nutrition, volume 50* (págs. 1-10). Madison, WI. E.U.A.: Agronomy Monographs.
- Sousa, J. A., Plugge, C. M., Stams, A. J., & Bijmans, M. F. (2015). Sulfate reduction in a hydrogen fed bioreactor operated at haloalkaline conditions. *Water Research*, 68, 67-76.
- US-EPA. (2009). *National Primary Drinking Water Regulations*. Washington, D.C.: US EPA.
- Valencia Molina, P. (2019). *Recuperación de antimonio desde polvos de fundición mediante intercambio iónico de columna*. Concepción: Universidad de Concepción.
- Volke Sepúlveda, T., Velasco Trejo, J. A., & de la Rosa Pérez, D. A. (2005). *Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación*. México, D.F: INE-Semarnat.
- Widdel, F. (1988). Microbiology and ecology of sulfate- and sulfur-reducing bacteria. En A. J. Zehnder, *Biology of Anaerobic Microorganisms* (págs. 469-586). New York: John Wiley and Sons.

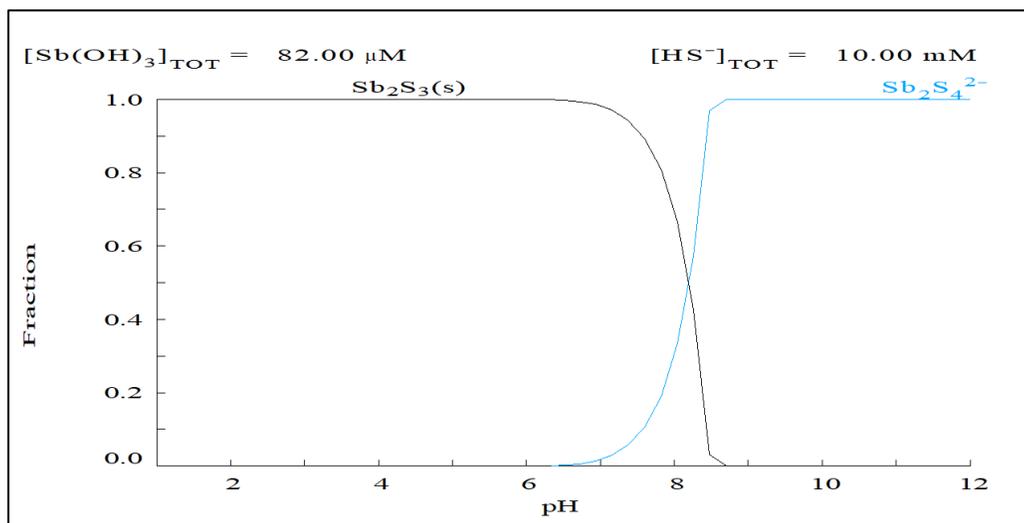
- Widdel, F., & Bak, F. (1992). Gram-Negative mesophilic sulfate-reducing bacteria. En A. Balows, H. G. Trüper, K.-H. Schleifer, M. Dworkin, & W. Harder, *The Prokaryotes. Volume IV* (págs. 3352-3378). Springer, N.Y: Springer Science+Business Media, LLC.
- Xu, Y.-N., & Chen, Y. (2020). Advances in heavy metal removal by sulfate-reducing bacteria. *Water Science and Technology*, 1797-1827.
- Zeng, J., Qi, P., Shi, J., Pichler, T., Wang, F., Wang, Y., & Sui, K. (2020). Chitosan functionalized iron nanosheet for enhanced removal of As(III) and Sb(III): Synergistic effect and mechanism. *Chemical Engineering Journal*, 382, 122999.
- Zhang, Y., Ding, C., Gong, D., Deng, Y., Huang, Y., Zheng, J., . . . Su, L. (2021). A review of the environmental chemical behavior detection and treatment of antimony. *Environ. Technol. Innov.* 24.
- 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*, 36-45.

ANEXOS

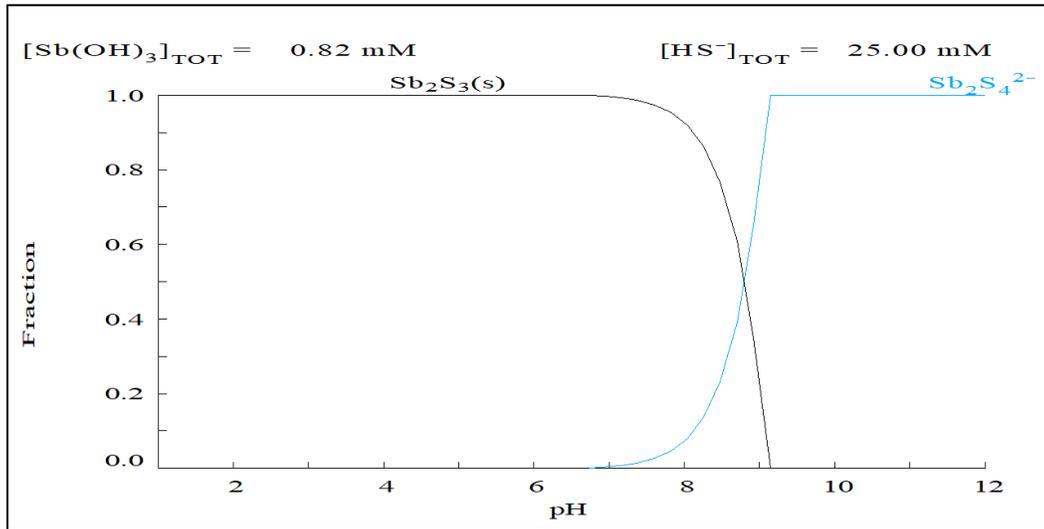
ANEXO A. Diagramas de especies de sulfuro de antimonio en un rango de pH de 1 a 12.



Concentración de antimonio (III) de 5 ppm (41.0 μM) y concentración de sulfuro (HS^-) de 5.0 mM.



Concentración de antimonio (III) de 10 ppm (82.0 μM) y concentración de sulfuro (HS^-) de 10.0 mM.



Concentración de antimonio (III) de 100 ppm (0.82 mM) y concentración de sulfuro (HS^-) de 25.0 mM.

Realizados con el software Hydra Medusa.