



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

ELIMINACIÓN DE ANTIMONIO TOTAL EN AGUA RESIDUAL SINTÉTICA POR VÍAS DESASIMILATORIA Y SULFATO REDUCTORA EN CONDICIONES ANAEROBIAS

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
JESÚS RAMÍREZ PATIÑO

DIRECTOR DE TESIS
DR. IVÁN MORENO ANDRADE, INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

COMITÉ TUTORAL
DRA. GEORGINA FERNÁNDEZ VILLAGÓMEZ, FACULTAD DE INGENIERÍA, UNAM
DR. FRANCISCO JAVIER CERVANTES CARRILLO, INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Gonzáles Barceló Oscar
Secretario: Dra. Fernández Villagómez Georgina
1er Vocal: Dra. Pat Espadas Aurora Margarita
2do Vocal: Dr. Cervantes Carrillo Francisco Javier
3er Vocal: Dr. Moreno Andrade Iván

LUGAR O LUGARES DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas de la Unidad Académica Juriquilla,
Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México.

DIRECTOR:

Dr. Iván Moreno Andrade

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (LIPATA) de la Unidad Académica Juriquilla del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.



**INSTITUTO
DE INGENIERÍA
UNAM**

LIPATA

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN
EN PROCESOS AVANZADOS DE
TRATAMIENTO DE AGUAS

Se agradece al financiamiento del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la DGAPA-UNAM por medio del proyecto PAPIIT IN105220, “Aplicación de sistemas anaerobios para la remoción de antimonio en aguas residuales” en el cual se encuentra enmarcado este trabajo de tesis.

Se agradece el apoyo técnico del M. en B. Jaime Pérez Trevilla y de la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez, por el apoyo durante la parte experimental de este proyecto y al Dr. Juan Ernesto Ramírez Juárez por el apoyo técnico con el programa Visual MINTEQ.

Finalmente, se agradece el apoyo del CONACYT mediante la beca otorgada para realizar los estudios de maestría y al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitir la realización de la maestría en Ingeniería Ambiental.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ABREVIATURAS UTILIZADAS	1
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
1 INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 Antimonio: importancia, usos y aplicaciones.....	5
1.2 Problemática de contaminación	5
1.3 Propiedades físicas y químicas del antimonio.....	8
1.3.1 Especiación del Sb en soluciones acuosas	9
1.3.2 Transformación redox de antimonio en soluciones acuosas	11
1.4 Reducción biológica de antimonio.....	11
1.4.1 Digestión anaerobia	11
1.4.1.1 Reducción biológica del sulfato	12
1.4.2 Antecedentes de la reducción biológica de antimonio	14
1.4.3 Reducción biológica del antimonio intracelular	16
1.4.4 Reducción biológica del antimonio por vía desasimilatoria	17
1.4.5 Reducción de Sb por acoplamiento de sulfato reducción por SRB.....	18
1.4.6 Comparación entre vía desasimilatoria y vía sulfato reductora.....	20
2 JUSTIFICACIÓN	25
3 OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo general.....	26
3.2 Objetivos particulares	26
4 METODOLOGÍA	27
4.1 Diseño experimental	27
4.1.1 Etapa 1.....	28
4.1.1.1 Arranque de reactores UAPB.....	28
4.1.1.1.1 Reactivos.....	28
4.1.1.1.2 Diseño y configuración del reactor de reactor	29

4.1.1.1.3 Empaque.....	31
4.1.1.1.4 Técnicas generales	32
4.1.1.2 Colonización del empaque	33
4.1.1.3 Maduración de la biopelícula	34
4.1.1.4 Análisis de especiación	35
4.1.2 Etapa 2.....	36
4.1.2.1 Obtención de precipitados y caracterización	36
4.1.3 Etapa 3.....	36
4.1.3.1 Caracterización de la comunidad microbiana	36
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
5.1 Etapa 1. Operación de los biorreactores	38
5.1.1 Determinación de porcentajes de eliminación de Sb total	38
5.1.2 Crecimiento de la biomasa.....	40
5.1.3 Especiación de Sb en el efluente	44
5.1.3.1 Simulación de especiación reactor sulfato reducción	44
5.3.2.2 Simulación de especiación en reactor desasimilatorio	45
5.2 Etapa 2. Análisis de precipitados	50
5.3 Etapa 3. Caracterización de las comunidades microbianas	53
5.3.1 Abundancia relativa en reacto de sulfato reducción	54
5.3.2 Abundancia relativa reactor de reducción Desasimilatoria	54
5.3.3 Análisis de diversidad	55
6 CONCLUSIONES	57
7 RECOMENDACIONES	59
8 REFERENCIAS	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema de fuentes de contaminación, procesos ambientales y efectos ecológicos (Modificado de He et al., 2019).....	6
Figura 1.2. Diagrama Eh-pH para la especiación del Sb a 25°C y una concentración de 2.90×10^{-10} mg L⁻¹ ($10^{-14.6}$ mol L⁻¹) en total (Filella et al., 2002).....	10
Figura 1.3. Esquema de la digestión anaerobia (Modificado de Gujer & Zehnder, 1983; Valenzuela, 2011).....	12
Figura 1.4. Diagrama de la reducción del sulfato (Bleam, 2017; Bradley et al, 2011; Cypionka, 2006)	13
Figura 1. 5. Especiación del sulfuro en relación con el pH a 25 °C (Hao et al., 1996; Kaksonen & Puhakka, 2007)	14
Figura 1.6. Modelo de interacción intracelular del Sb (Modificado de Li et al., 2016).....	17
Figura 1.7. Reducción biológica de Sb(V) (Modificado de Zhu et al., 2018).....	21
Figura 4. 1. Etapas experimentales	27
Figura 4. 2. Diseño del reactor	29
Figura 4. 3. Diagrama de flujo de reactor	30
Figura 4. 4. Reactores ensamblados: R1. Reactor de sulfato reducción; R2. Reactor de reducción desasimilatoria	31
Figura 4. 5. Anillos plásticos de empaque	31
Figura 5. 1. pH/ % Eliminación- Reactor desasimilatorio (R2)	38
.Figura 5. 2. pH/ % Eliminación- Reactor sulfato reducción (R1).....	39
Figura 5. 3 AGV-Reactor desasimilatorio (R2)	40
Figura 5. 4 AGV-Reactor sulfato reducción (R1).....	40
Figura 5. 5. Simulación de especiación tomando en cuenta distintos porcentajes de reducción del Sb total determinado en el efluente en el reactor de sulfato reducción: A. 50 %; B. 75 %; C. 100 %	44
Figura 5. 6. Simulación de especiación tomando en cuenta distintos porcentajes de reducción de Sb total determinado en el influente en el reactor desasimilatorio: A. 50 %; B. 75 %; C. 100 %	47
Figura 5. 7. Simulación de especiación tomando en cuenta distintos porcentajes de transformación de Sb total inicial en el reactor desasimilatorio: A. 50 %; B. 25 %; C. 0 %	49
Figura 5. 8. Difractograma reactor sulfato reducción (R1).....	50
Figura 5. 9. Difractograma reactor desasimilatorio (R2)	50
Figura 5. 10. Diagrama de pourbaix para fases minerales simples de antimonio (Diemar, 2008).....	52
Figura 5. 11. Características de la comunidad microbiana dentro de los reactores: DE. Desasimilatorio empaque; DP. Desasimilatorio purga; SE. Sulfato reducción empaque; SP. Sulfato reducción purga.....	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Límites máximos permisibles de antimonio en agua potable	8
Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas del antimonio (modificado de Emsley, 2011 y WHO,2003)	9
Tabla 1.3. Resumen antecedentes reducción Sb	23
Tabla 4. 1. Análisis Fisicoquímicos e instrumentales realizados a los reactores UAPB R1 y R2	32
Tabla 4. 2. Parámetros de operación de reactores UAPB R1 y R2	34
Tabla 5. 1. Biomasa total en el empaque (XT)	42
Tabla 5. 2. Biomasa total en la purga (Xs)	43
Tabla 5. 3. Simulación de especiación con Sb total determinado efluente de reactor desasimilatorio: Precipitados.....	46
Tabla 5. 4 Simulación de especiación con Sb total inicial: Precipitados.....	48
Tabla 5. 5. Análisis de diversidad.....	56

ABREVIATURAS UTILIZADAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGCL	Ácidos grasos de cadena larga,
AGV	Ácidos grasos volátiles
APHA	Asociación americana de salud pública
ATP	Adenosín trifosfato
C°	Grados centígrados
DE	Lodo del empaque del reactor desasimilatorio
DP	Lodo de la purga del reactor desasimilatorio
DQO	Demanda química de oxígeno
EF	Valores de enriquecimiento
Eh	Potencial de oxidación
EPA	Agencia de protección ambiental de estados unidos
ETOL	Etanol
EU	Unión europea
g	Gramos
µg	Microgramos
MDA	Malondialdehído
mg	Miligramos
µm	Micrómetros
min	Minuto
mL	Mililitro
mmol	Milimol
L	Litro
LEM	Lodo húmedo del empaque
LHE.	Lodo húmedo efluente
LMP	Límite máximo Permisible
OMS	Organización mundial de la Salud
ORP	Potencial óxido reducción
OTU	Unidades taxonómicas operacionales
PET	Tereftalato de polietileno
pg	Picogramos
pH	Potencial de hidrógeno
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
PVC	Policloruro de vinilo
rADN	Ácido desoxirribonucleico ribosomal
r.p.m.	Revoluciones por minuto
s	Segundos
Sbt.	Sb total
SE	Lodo de empaque de reactor sulfato reductor
SP	Lodo de purga de reactor sulfato reductor
SRB	Bacterias sulfato reductoras
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
t	Tonelada
UAPB	Flujo ascendente con lecho empacado
US, USA	Estados Unidos de América
Vm.	Volumen de muestra
Vr	Volumen útil de operación

ABREVIATURAS UTILIZADAS

X_A .	Biomasa adherida a los soportes
X_E .	Biomasa en el fluyente
X_s .	Biomasa suspendida
X_t	Biomasa total

RESUMEN

El antimonio (Sb) es un metaloide tóxico y potencialmente cancerígeno, ampliamente usado en la industria. Casos de contaminación han sido reportados alrededor del mundo como resultado de la actividad antropogénica. Proyecciones a futuro estiman un incremento en la aplicación, explotación y el riesgo de contaminación en cuerpos de agua por las descargas derivadas de actividades antropogénicas. Para el tratamiento de aguas contaminadas con Sb, los tratamientos biológicos presentan ventaja sobre los tratamientos fisicoquímicos en que son económicos y amigables con el medio ambiente. En soluciones acuosas, predominan las especies Sb(V) “antimoniato” (Sb(OH)_6^{1-}) y Sb(III) “antimonito” (Sb(OH)_3^0). El Sb es calcófilo por lo que en su forma reducida tiende a la formación de precipitados. La reducción de Sb(V) a Sb(III) con mediación biológica se lleva a cabo en condiciones anaerobias por dos vías extracelulares, desasimilatoria y al reaccionar con H_2S disuelto en sistemas de sulfato reducción. Las propiedades del Sb anteriormente descritas pueden utilizarse como un método de eliminación de Sb para el tratamiento de aguas contaminadas. Los reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado se han utilizado exitosamente para la biotransformación de metales presentes en aguas residuales y la formación y recuperación de precipitados. El presente proyecto consistió en determinar la eliminación Sb total en agua residual sintética con una concentración de 5 mg/L de Sb(V), por vías desasimilatoria y sulfato reductora, por medio de la operación de dos reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado. Los reactores fueron inoculados con lodo de un sedimentador secundario de un sistema de lodos activado y operados 44 días en un sistema discontinuo secuencial por lotes, con una duración de 48 horas por lote. El porcentaje promedio de eliminación de Sb total para el reactor desasimilatorio se encontró en 28.43 % y 58.88 % para reactor de sulfato reducción. Al término del experimento se realizó un análisis de difracción de rayos x para determinar las especies cristalinas presentes en las muestras recolectadas en la purga, encontrándose la formación de valentinita en el reactor desasimilatorio, mientras que en el reactor de sulfato reducción se encontró estruvita, valentinita y quermesita, siendo esta última un resultado de la oxidación sufrida de la estibina formada en el interior del reactor al exponerse a condiciones ambientales. De igual manera se realizó un análisis filogenético al final del experimento de la comunidad microbiana presente en el empaque y la biomasa suspendida, donde en ambos reactores se reportó la aparición de los géneros *Geobacter* y *Pseudomonas* en baja proporción, los cuales han sido asociados a la reducción desasimilatoria. En el reactor de sulfato reducción se reportó mayor abundancia de organismos sulfato reductores, mientras que en el reactor desasimilatorio el género *Dysgonomonas*, presentó la mayor abundancia, por lo que este género podría llevar a cabo un papel clave en la transformación del metaloide, sin embargo, se requieren más estudios para determinar el rol del microorganismo en la eliminación de Sb.

ABSTRACT

Antimony (Sb) is a toxic and potentially carcinogenic metalloid widely used in the industry. Pollution cases have been documented around the world and future projections show an increase in the use, exploitation, and risk of contamination of water bodies due to anthropogenic activities. Biological treatment of contaminated water with Sb has been determined to be more economic and friendly with the environment than a physicochemical approach. In aqueous solutions, there is a predominance of Sb(V) “antimonate” ($\text{Sb(OH)}_6^{[-]}$) and Sb(III) “antimonite” (Sb(OH)_3^0) species. Sb is a chalcophile element, which means that in its reduced species, tends to precipitate in the form of minerals. The reduction of Sb(V) to Sb(III) mediated biologically occurs under anaerobic conditions by two extracellular pathways, dissimilatory and by reacting with dissolved H_2S in sulfate reduction systems, consequently, these properties can be used for water treatment. Anaerobic up-flow packed bed reactors have been used successfully for the elimination of dissolved metals and the formation and recovery of precipitates. The main objective of the present work was to determine total Sb removal from synthetic wastewater with a concentration of 5 mg/L of Sb(V) by dissimilatory and sulfate reduction pathways which the operation of two up-flow packed bed reactors. The reactors were inoculated with secondary reactor sludge from an activated sludge system for municipal wastewater treatment and operated for 44 days in a discontinued sequential batch system of 48 hours per batch. The average percentage of total Sb elimination was 28.43 % and 58.88 % for the dissimilatory reactor and sulfate reduction reactor, respectively. At the end of the experiment, an x-ray diffraction analysis was conducted on the samples of the precipitates collected from the reactors during the purge, finding the presence of valentinite in the dissimilatory reactor and struvite, valentinite and kermesite, in the sulfate reduction reactor, being this last one crystal form a result of the oxidation of stibnite at the exposure to environmental conditions. Additionally, a phylogenetic analysis from the sludge attached to the packed bed and suspended sludge in the reactors purge was made, the result showed the presence in both reactors and in a low proportion of genus *Geobacter* and *Pseudomonas*, which are associated with the dissimilatory reduction. In the sulfate reduction reactor, a high abundance of sulfate-reducing bacteria was observed, while in the dissimilatory reactor, there was a dominance of the genus *Dysgonomonas*, which could play a key role on the redox transformation of the metalloid, however further studies are required to determinate the role of such genus in Sb removal.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antimonio: importancia, usos y aplicaciones

El antimonio (Sb) es el noveno metal más minado en el mundo (Scheinost et al., 2006). Es clasificado como metaloide o semimetal, dado que posee propiedades físicas y químicas que son semejantes a los no metales y conduce la electricidad, pero en menor medida que los metales (Sepúlveda, 2005). Este metaloide tóxico de color blanco plateado se rompe fácilmente, debido a esto es usualmente mezclado con otros metales, como el plomo o el zinc, para formar aleaciones, las cuales son usadas en la fabricación de baterías de plomo, soldaduras, láminas, tuberías metálicas, cojinetes industriales, fundiciones, metal tipográfico para imprentas, explosivos, armamento y como agente de dopaje en la fabricación de detectores infrarrojos, diodos y equipos de efecto-hall (Abin & Hollibaugh, 2013; ASTDR, 2017). Entre los compuestos de mayor interés comercial destacan la estibina (Sb_2S_3), la cual es usada en la fabricación de microondas, televisores y baterías recargables, y el trióxido de antimonio (Sb_2O_3), el cual es usado como un pigmento, retardador de flama, opacificante de cerámica, decolorante de vidrio, mordaz, estabilizador de PVC, en la fabricación de plaguicidas y catalizador para la producción de tereftalato de polietileno (Filella et al., 2002; Yang et al., 2007). Asimismo, compuestos tales como el tartrato de potasio, antimonil y el antimonio pentavalente son usados en la industria farmacéutica para el tratamiento de múltiples enfermedades (Abin & Hollibaugh, 2013). Anualmente se producen 165,000 t y se consumen 100,000 t de antimonio, de las cuales, su uso en la fabricación de retardador de flama se estima representa el 52% del consumo global, mientras que el uso en las aleaciones para las baterías plomo-ácidas el 38%, el uso en la catálisis para la producción de PET el 6% y el resto de los usos comprende menos del 3% del consumo (Dupont et al., 2016; Guo et al., 2009; He et al., 2019; He et al., 2012; Mubarak et al., 2015;).

1.2 Problemática de contaminación

El antimonio se encuentra naturalmente en rocas ($0.2 \mu\text{g g}^{-1}$), agua superficial ($< 1 \mu\text{g mL}^{-1}$), agua de origen geotérmico ($> 1 \mu\text{g L}^{-1}$), agua de mar, ($0.2 \mu\text{g L}^{-1}$) y suelos ($\sim 0.5\text{--}1 \mu\text{g g}^{-1}$) (Filella et al., 2007; INEGI-SE, 2009; Obiakor et al., 2017; Pierart et al., 2015). Anualmente se liberan a la atmósfera, por medio de actividades volcánicas, alrededor de 5 toneladas por año, lo cual representa entre el 3-5% de la emisión global total (Smichowski, 2008), por lo que la principal fuente de emisión del Sb es de origen antropogénico a través de la minería y por las diversas actividades que se derivan de esta industria (An et al., 2009; Hockmann et al., 2014). En áreas urbanas las principales fuentes de emisión se atribuyen a la contaminación del aire derivada de diversas actividades, principalmente el desgaste de la cubierta de los frenos en los automóviles,

la combustión fósil particularmente de carbón, la incineración de residuos, el uso de municiones, los artículos que contienen retardante de flama, lixiviados de rellenos sanitarios municipales y la escorrentía en sistemas de alcantarillado combinados de aguas residuales (Cyr et al., 1987; He et al., 2019; Pacyna & Pacyna, 2001; Patriarca et al., 1999; Qi et al., 2008; Tjandraatmadja et al., 2010). En aguas residuales se han reportado concentraciones de $0.01 \mu\text{g L}^{-1}$ (Palmquist & Hanaeus, 2005; Tjandraatmadja et al., 2010).

La preocupación por la contaminación por Sb ha sido asociada significativamente con las fuentes geogénicas (yacimientos mineros, sistemas geotérmicos y volcánicos), los cuales incluyen a los Estados Unidos de América, China, Australia, Nueva Zelanda, Japón, México, España y Eslovaquia. (Ashley et al., 2006; Henckens et al., 2016; McNamara et al., 2016; Simmons et al., 2016; Wang et al., 2011). China es el mayor productor de antimonio a nivel mundial ($\geq 80\%$) (He et al., 2012). Asia y Europa, son los mayores contribuyentes a la emisión global de Sb al medio ambiente, representando 57% y 24%, respectivamente, donde China, Estados Unidos y Japón encabezan la lista de los mayores países emisores (He et al., 2018; He et al., 2012; Tian et al., 2014). Proyecciones realizadas a futuro estiman un incremento en las emisiones de Sb al medio ambiente por actividades antropogénicas (He et al., 2019; Zhou et al., 2015).

En México los depósitos de Sb están estimados en 18,000 toneladas, los cuales están distribuidos en forma lineal a lo largo del límite este de la Sierra Madre Occidental. Tan sólo en 2018 se extrajeron 240 toneladas. Las minas más importantes se encuentran en los estados de Coahuila, Nuevo León, San Luis potosí, Querétaro y Oaxaca (Mascuñano et al., 2011; USGS, 2019).

La mayor parte del Sb se emite al ambiente desde las fuentes de contaminación en la forma de Sb_2O_3 al aire, luego se disuelve y transforma, lo que afecta su movilidad y biodisponibilidad. (He et al., 2019; He et al., 2012; Hu et al., 2014; Tian et al., 2012). En la Figura 1.1 se muestra el esquema de ciclo de vida del antimonio en el medio ambiente.

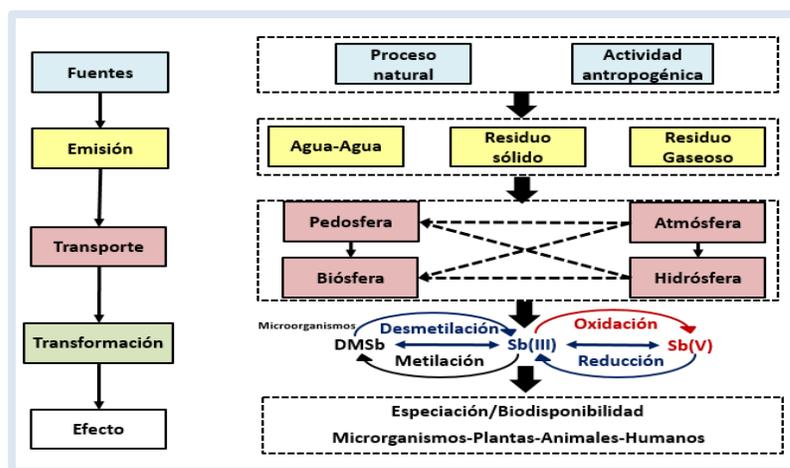


Figura 1.1. Esquema de fuentes de contaminación, procesos ambientales y efectos ecológicos (Modificado de He et al., 2019)

En la figura anterior se observa que el destino del Sb depende de su especiación química, donde los procesos de transporte y transformación son influenciados por las condiciones ambientales que, a su vez, pueden ser afectados por la microbiota presente en el medio, la cual, interactúa a través de procesos de oxidación, reducción, metilación, bioacumulación afectando la movilidad del Sb (He et al., 2019).

En décadas recientes el Sb ha sido encontrado en turberas en Europa y en el ártico canadiense en un intervalo de 0.07 a 108 pg g⁻¹ (Krachler et al., 2005; Shotyk et al., 1996). Del mismo modo, también se ha detectado su presencia en sedimentos de Chesapeake Bay, USA en concentraciones promedio de 0.52 µg g⁻¹ (Dolor et al., 2012). Concentraciones de 0.31 µg L⁻¹ de Sb(III) han sido registradas en Polonia en el río de Biała Przemsza; y 0.91 µg L⁻¹ de Sb en el agua del río Bytomka (Jablonska, 2015; Jablonska & Zerzucha, 2019). Existen relativamente pocos estudios enfocados en la contaminación por Sb en México; sin embargo, elevados valores de enriquecimiento (EF) usando plantas como biomonitores, fueron reportados para las subáreas Gustavo A. Madero, Azcapotzalco y Tlalnepantla de la Ciudad de México, las cuales son caracterizadas por una alta actividad industrial, lo que podría indicar la relación de contaminación por fuentes antropogénicas (Guzmán et al., 2011). Se ha detectado contaminación por Sb en Wadley, San Luis Potosí en concentraciones de 1645 ppb en aguas subterráneas de residuos mineros, lo anterior debido a la erosión y dispersión en minas abandonadas (Levresse et al., 2012), así mismo, se han reportado concentraciones traza superiores al promedio de 5.01 ppm en sedimentos superficiales y 5.82 ppm en suelos de arroyos secos, en la laguna de La Paz en Baja California (Shumilin et al., 2001).

Aunque no es un elemento esencial, este metaloide puede ser fácilmente absorbido por las raíces de las plantas y aunque estudios han demostrado que pueden soportar mayores concentraciones que la fauna del suelo, la absorción se traduce en supresión de hojas y raíces, incremento en el contenido de MDA y producción de estrés oxidativo (Ainsworth et al., 1991; He et al., 2019). Una vez que el Sb ha sido absorbido por las plantas, se puede implicar su entrada en la cadena alimenticia.

El antimonio, así como el arsénico (As), no tiene una función biológica conocida y es tóxico para la mayoría de los organismos vivientes (He et al., 2019; Nguyen & Lee, 2014), por ejemplo, el Sb(III) ha sido reportado como tóxico para varios organismos acuáticos en concentraciones letales medias (LC50) de 4.9 mg L⁻¹ y 261 mg L⁻¹ para los crustáceos planctónicos (*Simocephalus mixtus*) y larvas de peces del arroz japonés (*Oryzias latipes*), respectivamente en 24 horas de exposición (Nam et al., 2009). La contaminación por Sb en concentraciones de 19 a 1892 ppm y otros metaloides, causada por las descargas de las fundidoras en el noroeste del estado de Washintong, USA, han representado una amenaza para las microfitas (Child et al., 2018).

En lo que respecta a la exposición de Sb en humanos, serios casos de contaminación por Sb han sido reportados en suelos, descargas mineras, agua potable, cultivos y biota local en China, donde la concentración de ingesta diaria en la población se determinó en 554 µg d⁻¹, siendo esta 1.5 veces superior a la ingesta diaria

tolerable de 360 $\mu\text{g d}^{-1}$ determinado por la OMS (WHO, 2008; Wu et al., 2011). Al presente, la exposición en las poblaciones urbanas se estima en 60 y 460 ng d^{-1} por persona (Slooff, 1992).

Se sospecha que el antimonio puede alterar biológicamente varios mecanismos de defensa celular, potenciando la carcinogénesis; de hecho, el Sb se encuentra listado como posible cancerígeno por la agencia internacional de investigación del cáncer, mientras que el Sb_2O_3 se encuentra clasificado por la OMS como cancerígeno (Cooper & Harrison, 2009; Fowler et al., 1993; WHO, 2011). En contraste, se han realizado diversos estudios en los que el Sb ha dado negativo en el aumento de aberraciones genéticas (Carvello et al., 2002; Deboeck et al., 2003; Elliott et al., 1998; Gurnami et al., 1992; Sun, 2010).

La inhalación del referido metaloide puede dañar el sistema respiratorio, el hígado y la piel, por lo tanto, este elemento y sus compuestos han sido listados como contaminantes de interés prioritario por la Unión Europea (EU, por sus siglas en inglés) y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) (Guo et al., 2018). Tales organizaciones proponen límites máximos permisibles (LMP) de 6 y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Ungureanu et al., 2015; USEPA, 2009). El LMP en China coincide con lo establecido por la EPA y la EU en 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, mientras que otros países como Polonia y Japón establecen un límite menor de 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Rozporządzenie et al., 2016; WHO, 2017; Zheng et al., 2000). En la Tabla 1.1 se muestra un comparativo entre los LMP de diversos países y organizaciones.

Tabla 1.1. Límites máximos permisibles de antimonio en agua potable

País, región u organización	LMP $\mu\text{g L}^{-1}$
Unión Europea	6
China, Estados Unidos, OMS	5
Polonia y Japón	2

En México la regulación para Sb en el ambiente es limitada, sin embargo, la norma NOM-SSA-201-2015, “productos y servicios. agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias”, establece un LMP de 0.005 mg L^{-1} (NOM-201-SSA-2015, 2015), mientras que la norma NOM-014-CONAGUA-2003, Requisitos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada establece un LMP de 0.006 mg L^{-1} (NOM-014-CONAGUA,2003).

1.3 Propiedades físicas y químicas del antimonio

El antimonio pertenece al grupo 15 de la tabla periódica, tiene un número atómico de 51, un peso atómico de 122 g, una densidad de 6.697 kg m^{-3} a 26 $^{\circ}\text{C}$ y un promedio de dureza de 3.0 en la escala de Mohs

(Anderson, 2012). El Sb es considerado un pobre conductor de calor y electricidad, además no se oxida realmente y es resistente al ataque de ácidos (Anderson, 2019; Hernández 2011). El Sb tiene una configuración electrónica orbital externa de s^2p^3 y puede existir en una variedad de estados de oxidación (-3, 0, 3 y 5); sin embargo, en la naturaleza predomina en estados +3 y +5 (Filella et al., 2009; Wilson et al., 2010). En la Tabla 1.2 se muestran las principales características fisicoquímicas del antimonio.

Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas del antimonio (modificado de Emsley, 2011 y WHO,2003)

Propiedad	Valor
Punto de fusión °C	630.5 °C
Punto de ebullición °C	1587 °C
Densidad	6.697 kg/m ³
Electronegatividad	1.9
Presión de vapor 886°C	0.133 kpa
Solubilidad en agua	insoluble
Radio de Van Der Waals	0.159 nm
Radio Iónico	0.245 nm (-3); 0.062 nm (+5); 0.076 nm (+3)
Isótopos	12
Potencial estándar	0.21 V (Sb ³⁺ / Sb)
Energía de primera ionización	834 kJ.mol ⁻¹
Energía de segunda ionización	1595 kJ.mol ⁻¹
Energía de tercera ionización	2443 kJ.mol ⁻¹
Capa electrónica	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ² 5p ³

En el medio ambiente el Sb se encuentra en forma mineral como Sb₂S₃ (estibina), NiSbS (ulmanita) HgSb₄S₈ (livingstonita), Cu₃SbS₃ (tetrahedrita), FePb₄Sb₆S₁₄ (jamesonita) y Sb₂O₃. La forma predominante está relacionada con el pH, donde en condiciones muy alcalinas predomina el SbO₂⁺ y en condiciones ligeramente ácidas, neutras o básicas, el SbO₃⁻ (Hernández, 2011).

1.3.1 Especiación del Sb en soluciones acuosas

En general se considera que el antimonio tiene baja solubilidad; sin embargo, incrementos en el pH facilitan su movilización en el medio (Zhang, et al.,2016). Ambas especies, Sb(V) y Sb(III), pueden estar presentes en medios acuosos en formas químicas orgánicas (especies metiladas) e inorgánicas en condiciones aerobias y anóxicas (Obiakor et al., 2017).

En soluciones acuosas a pH neutro, Sb(III) y Sb(V), no existen como iones libres, en su lugar se hidrolizan para formar Sb(OH)_3^0 (antimonita) y $\text{Sb(OH)}_6^{[-]}$ (antimoniato) respectivamente (Abin & Hollibaugh, 2013). En la Figura 1.2 se presenta un esquema de la especiación, donde se aprecia que bajo condiciones aerobias, sistemas ligeramente reductores y $\text{pH} > 2.7$ predomina el $\text{Sb(OH)}_6^{[-]}$, mientras que en condiciones anóxicas y pH entre 1.4 y 11.8 parece ser termodinámicamente favorecida la presencia de Sb(OH)_3^0 (Filella, 2002); no obstante, se ha observado que Sb(V) es generalmente la especie predominante, aunque en ambientes naturales contaminados, ambas especies coexisten fuera de lo termodinámicamente establecido, lo que se atribuye a actividad biológica (Filella et al., 2002; Filella & May, 2003; Zhang et al., 2016).

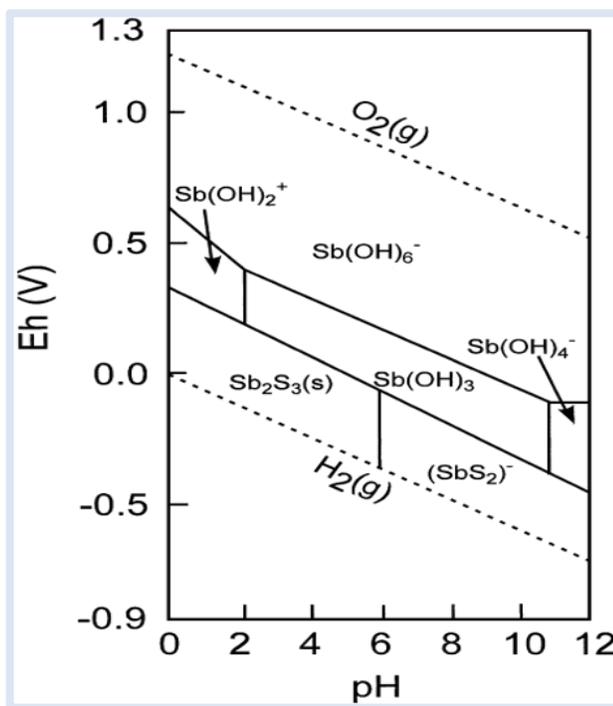


Figura 1.2. Diagrama Eh-pH para la especiación del Sb a 25°C y una concentración de $2.90 \times 10^{-10} \text{ mg L}^{-1}$ ($10^{-14.6} \text{ mol L}^{-1}$) en total (Filella et al., 2002)

El antimonio es un elemento calcófilo y, por lo tanto, tiende a ocurrir en forma mineral como Sb_2S_3 y Sb_2O_3 , los cuales tienen solubilidad limitada en soluciones acuosas y pueden precipitar en un amplio intervalo de pH (2-10) (Filella et al., 2002; Sun, 2010; Zhu et al., 2018).

1.3.2 Transformación redox de antimonio en soluciones acuosas

La oxidación del Sb no se lleva a cabo en presencia de oxígeno molecular, sino que depende de oxidantes naturales como peróxido de hidrógeno a pH neutro o alcalino. Minerales como la pirita pueden oxidar el antimonio a pH ácidos, además se ha estudiado que elementos traza como manganeso (Mn) y hierro (Fe) pueden fungir como catalizadores y acelerar la reacción. Lo anterior proporciona una posible explicación a la baja concentración de Sb(III) en agua y suelos (He et al., 2019; Kong et al., 2015; Leuz & Jhonson, 2005; Wang et al., 2012).

En cuanto a la reducción en medios acuosos, existen pocos estudios, pero se sabe que en condiciones anóxicas, Sb(V) puede ser reducido a Sb(III) en suelos con la asistencia de Fe^{2+} u otros complejos de hierro (Fan et al., 2016; He et al., 2019; Mitsunobu et al., 2008).

Estas propiedades hacen que se dificulte su eliminación por medios tradicionales para metaloides, como la precipitación electroquímica, la cual se considera que tiene un alto costo con posible contaminación secundaria derivada del proceso, y la adsorción, la cual se ha reportado es baja en comparación con otros metaloides (Filella et al., 2007; Wang et al., 2013; Zhang et al., 2011). Por ello es importante el desarrollo de nuevos métodos para el tratamiento de aguas residuales, entre los que destaca el tratamiento por medios biológicos, como bio-sorción, bio-precipitación y bio-consumo (Pardo et al., 2003; Zhang et al., 2016).

1.4 Reducción biológica de antimonio

1.4.1 Digestión anaerobia

Las interacciones entre microorganismos y el Sb se entienden muy poco; sin embargo, se sabe que en el ambiente la reducción del Sb tiende a ocurrir en condiciones anaerobias (Abin & Hollibaugh, 2013). En la Figura 1.3 se presenta el esquema general de la digestión anaerobia, el cual es un proceso biológico multi etapa para la descomposición y estabilización de materia orgánica en la ausencia de O_2 .

La digestión anaerobia tiene lugar a través de 4 etapas sucesivas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, y depende de la interacción entre diversos microorganismos. En la hidrólisis, las macromoléculas que conforman la materia orgánica e insoluble se descomponen en compuestos más pequeños. Durante la acidogénesis, los microorganismos fermentan compuestos solubles como azúcares, aminoácidos, etc., para producir ácidos grasos volátiles intermedios como acetato, propionato y butirato, hidrógeno, dióxido de carbono y pequeñas cantidades de etanol y ácido láctico. Aunque se ha producido algo de acetato en esta etapa, el resto de los ácidos grasos volátiles son convertidos a acetato en la acetogénesis, donde además se produce hidrógeno. En la etapa final, las arqueas metanogénicas consumen los componentes

intermedios para producir metano en un proceso conocido como descarboxilación del acetato. En presencia de concentraciones altas de sulfato se generan las condiciones para el desarrollo de microorganismos sulfato reductores (Meegoda et al., 2018; Visser, 1995; Wu et al., 2019).

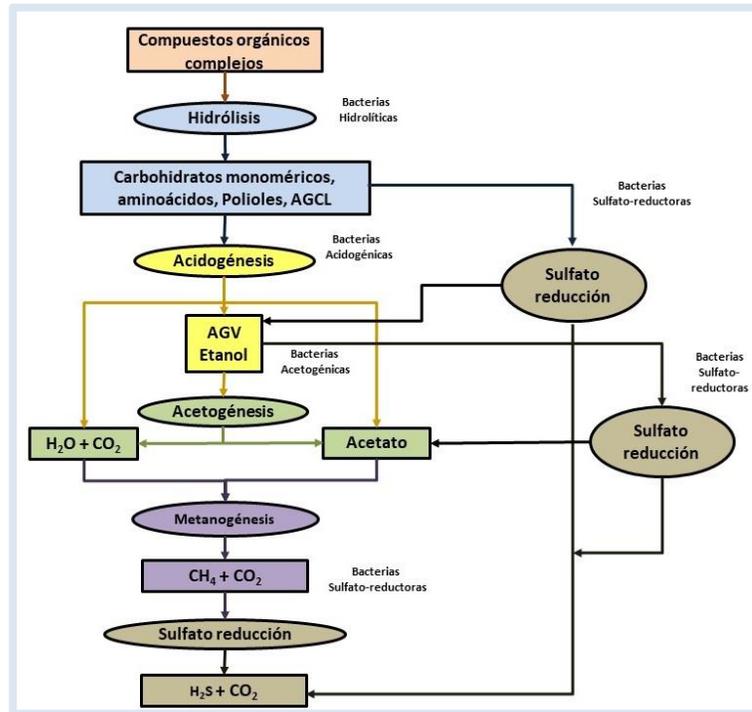


Figura 1.3. Esquema de la digestión anaerobia (Modificado de Gujer & Zehnder, 1983; Valenzuela, 2011)

1.4.1.1 Reducción biológica del sulfato

Los microorganismos sulfato reductores son capaces de crecer de forma heterotrófa usando moléculas orgánicas de bajo peso molecular y de manera autotrófa usando hidrógeno y dióxido de carbono (Nagpal et al., 2000; Lens & Kuenen, 2001). Dicho proceso está acoplado a la reducción del sulfato a ácido sulfhídrico por medio de diversas rutas metabólicas, siendo la reducción desasimilatoria la más común en el medio ambiente (Cypionka, 2011; Itoh et al., 1999).

En la digestión anaerobia, cuando existe presencia de altos niveles de sulfato en el medio, los organismos sulfato-reductores compiten con las bacterias fermentativas o acidogénicas por los productos de la hidrólisis, con las bacterias acetogénicas por sustratos intermediarios como los ácidos grasos volátiles (AGV) y alcoholes, y con las bacterias metanogénicas por los sustratos menos complejos como hidrógeno y acetato. Esta competencia determina el rendimiento de los productos finales de la mineralización (sulfuro y

metano), donde la actividad de los organismos sulfato-reductores depende de diversos factores como la concentración de la materia orgánica y sulfato, la relación DQO/SO₄²⁻, óptima es de 1.49 $\frac{g\ SO_4^{2-}}{g\ DQO}$ del compuesto orgánico; el tipo de sustrato (etanol potencia el proceso, otros como acetato tienden a degradarse lentamente y acumularse), la presencia de metales traza y otros nutrientes, el tipo de inóculo, las propiedades de inmovilización, los factores ambientales como el pH (6.3 a 7.0) y temperatura, y la inhibición por sulfuros (Choi & Rim, 1991; Drury, 1999; Espinosa-Chávez, 2007; Lens et al., 2000; Valenzuela, 2011).

El diagrama de la reducción del sulfato se encuentra en la Figura 1.4. En la primera etapa el anión doblemente cargado tiene que ser tomado por sistemas específicos de transporte. Luego una molécula de ATP es hidrolizada para activar sulfato, convirtiéndose en adenosín fosfosulfato; después, éste es reducido a (bi-) sulfito, el cual es reducido a sulfuro por la enzima sulfito reductasa. Al final, se forma ácido sulfhídrico, el cual es un fuerte agente reductor, altamente tóxico para otros microorganismos (Atlas & Bartha, 2002; Zamora et al., 2012).

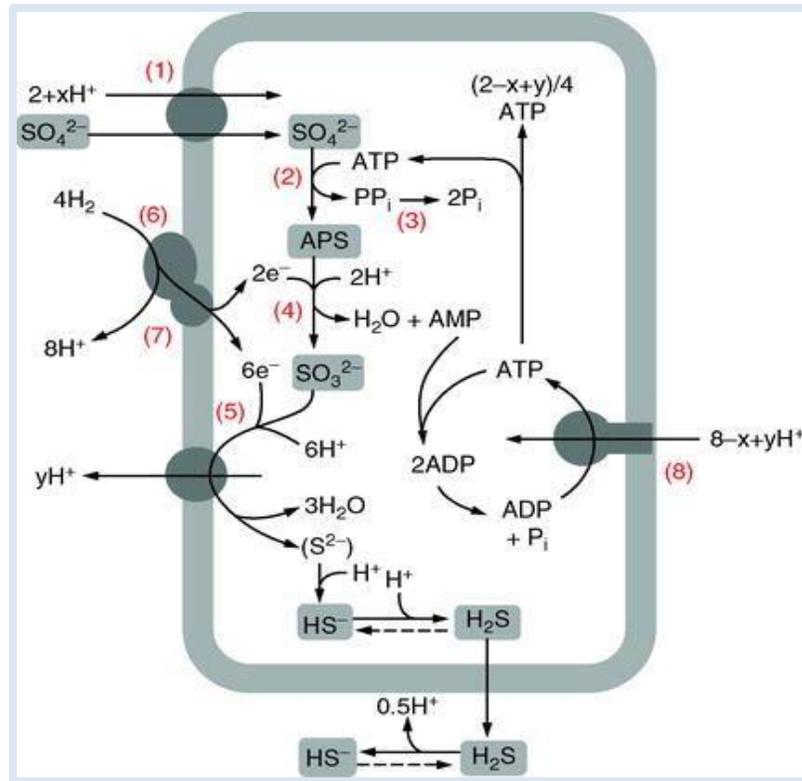


Figura 1.4. Diagrama de la reducción del sulfato (Bleam, 2017; Bradley et al, 2011; Cypionka, 2006)

Se han determinado más de 120 especies de procariotas sulfatoreductoras, siendo los grupos más importantes proteobacterias mesofílicas delta (*Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*), Bacterias Termofílicas Gramnegativas (*Thermodesulfovibrio*), entre otras (Cypionka, 2011; Itoh et al., 1999).

La concentración de ácido sin disociar está en función del equilibrio químico, donde pequeñas variaciones en un intervalo de pH de 6 a 8, tiene un gran efecto del ácido sulfhídrico sin disociar. En la Figura 1.5 se muestran la especiación del sulfuro en relación con el pH, donde la zona oscura representa el pH óptimo de los organismos sulfato reductores (Dean, 1999; Kaksonen & Puhakka, 2007; Visser, 1995).

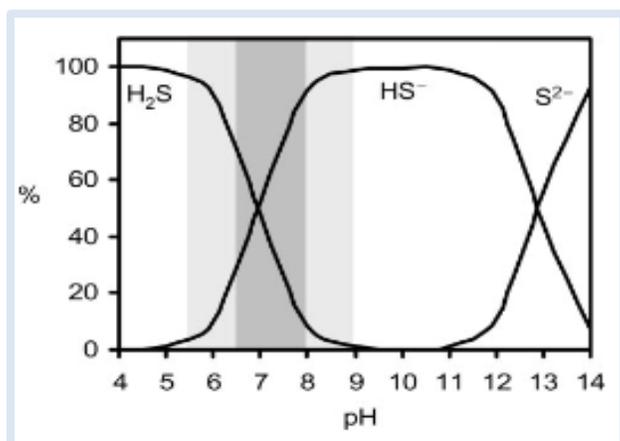


Figura 1. 5. Especiación del sulfuro en relación con el pH a 25 °C (Hao et al., 1996; Kaksonen & Puhakka, 2007)

1.4.2 Antecedentes de la reducción biológica de antimonio

La pareja redox del antimoniato y antimonito tienen un potencial eléctrico (E+0 0.59V) que permite a microorganismos derivar energía útil de la reducción a la oxidación de compuestos orgánicos e inorgánicos (Wilson et al., 2010).

Se sabe que el Sb(III) es 10 veces más tóxico que Sb(V), lo que podría explicarse por su acción toxicofórica, ya que el antimonito presenta gran afinidad por las proteínas que contienen un grupo tiol, este grupo puede ser parte de las características estructurales de las proteínas o se encuentran de manera transitoria como parte de un ciclo catalítico o regulatorio. Dichas proteínas se encuentran predominantemente en los compartimentos extra-citoplasmáticos donde juegan papeles importantes en el plegado de las proteínas, además de que catalizan reacciones de oxidación o etapas de reducción en diversos procesos metabólicos; por lo que la interferencia provocada por los enlaces con antimonito tiene un detrimento significativo en su funcionamiento (Filella et al., 2002; Finch et al., 2010; Hamamura et al., 2013; Ritz & Beckwith, 2001; Sun, 2010).

En estudios usando metano como sustrato, se ha descubierto que cuatro genes que codifican para la molibdopterina oxidorreductasa se transcriben en respuesta a la reducción del antimonio, lo que indica que codifican la unidad catalítica de la enzima antimonio reductasa, donde dichas enzimas podrían tener una unión a cofactor de molibdeno 4Fe-4S, además de encontrarse en regiones extracelulares (Shi et al., 2019).

En una investigación en sedimentos anóxicos se observó un proceso de respiración que utiliza antimonio como aceptor final de electrones y carbono orgánico como donador; obteniendo como resultado la producción de CO₂ y de Sb₂S₃, y la reducción del Sb(V) a Sb(III) (Kulp et al., 2013). Así mismo, se documentó la existencia de comunidades microbianas endógenas capaces de llevar a cabo la reducción de antimonio en el suelo de un campo de tiro militar (Hockmann et al., 2014). Otro estudio demostró que el enriquecimiento y el cultivo de microorganismos del orden de las bacilliales (MLFW-2), es capaz de usar antimonio como aceptor de electrones terminal para el proceso de respiración anaerobia, usando lactato como fuente de carbono y energía, obteniendo Sb₂O₃ cristalino como subproducto (Abin & Hollibaugh, 2017; Abin & Hollibaugh, 2013). Otro organismo, aislado cerca de una fábrica de Sb, *Sinorhizobium sp*, puede reducir el antimonio y producir un bio-mineral de Sb(OH)₃⁰ (He et al., 2019; Nguyen & Lee, 2014).

La bio-reducción del Sb ha sido asociada a la oxidación de donadores de electrones orgánicos, destacando el uso de metano como donador (Lai et al., 2018), sin embargo, se ha demostrado que es posible una biorreducción autotrófica usando hidrógeno (Lai et al., 2016), así como realizar la reducción biológica de antimonio usando un método bioeléctrico con cátodos como donador de electrones (Nguyen et al., 2019).

Por otra parte, otro estudio comparó el desempeño en la reducción de Sb(III) en sistemas aerobios y anaerobios, con lactato como donador de electrones. Los resultados revelaron una menor toxicidad por exposición a los microorganismos en sistemas anaerobios, reduciendo la actividad metanogénica al 50% en concentraciones de 250 mg L⁻¹ de Sb(V) y de 11 mg L⁻¹ de Sb(III) (Moreno et al., 2019). Otros experimentos de toxicidad realizados sobre la influencia de la especiación del Sb en los microorganismos, determinaron que la concentración de inhibición al 50% es de 150 mg L⁻¹ para Sb(V) y entre 10 y 12 mg L⁻¹ para Sb(III) (Regidor, 2017).

Existen diversos microorganismos capaces de realizar el proceso de reducción del antimonio, como *Simpliscispira*, *Brevibacillus*, *Sporosarcina*, y *Lysinibacillus*. Además se ha demostrado que existe una correlación entre el incremento de la presencia de la clase Bacilliales y la habilidad del inóculo de reducir Sb(V) a Sb(III), mas no para remover Sb total; en contraste, un decremento en la presencia de la clase Bacilliales es correlacionada con bajas en intervalos de reducción de Sb(V) y una alta eficiencia de eliminación de Sb total (Moreno et al., 2019; Moreno et al., 2018). Otros microorganismos identificados son *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Geobacter*, *SRB*, *Allivibrio fishery*, *Methanosarcina*, *Shewanella sp.* *CNZ-1*, *Clostridium sp.*, *Escherichia coli*, *Ruminococcaceae*, *Chryseobacterium koreense* y

Stenotrophomonas nitritireducens (Abin & Hollibaugh, 2013; Chen et al., 2019; Nguyen et al., 2019; Lai et al., 2018; Lai et al., 2016; Zhang et al., 2019; Zhu et al., 2018).

Se ha estudiado que durante la reducción de Sb(V), los genes que codifican para la deshidrogenasa, citocromos, reductasa, proteínas de resistencia al estrés y transportadores, juegan un papel primordial durante el proceso (Zhang et al., 2019).

Se sabe que la reducción biológica de antimonio en condiciones anaerobias es influenciada por el donador de electrones, así como por el pH y la presencia de azufre en la fase líquida en forma de sulfato, pues afectan la especiación y hace que el Sb(III) reducido, forme componentes altamente insolubles como Sb_2S_3 , el cual precipita en un intervalo de pH de 5 a 8 (Regidor, 2017; Zhang et al., 2016).

La bio-reducción de Sb(V) a Sb(III), requiere que la acumulación del Sb(III) producido sea controlada para que se considere un método significativo para la eliminación del metaloide, por lo que existe un gran interés por la inmovilización de Sb a través de la subsecuente formación de precipitados de Sb(III) (Filella et al., 2002; Zhu et al., 2018).

En resumen, es posible distinguir 3 vías para la reducción biológica de antimonio en condiciones anaerobias: intracelular, desasimilatoria y por la acción de bacterias sulfato reductoras.

1.4.3 Reducción biológica del antimonio intracelular

Los microorganismos han desarrollado diversas estrategias para reducir la acumulación de Sb(III) intracelular, como inhibir su entrada a la célula, promoviendo su extrusión activa en caso de que logre entrar o logrando su secuestro en una forma no tóxica dentro de la célula (Wysocki et al., 2001). Experimentos han determinado que el aporte de eliminación del Sb por sorción en la biomasa es considerablemente pequeño en relación con otras vías (Zhang et al., 2016). En el caso de cuando el elemento logra entrar en la célula, se han identificado dos diferentes familias transportadoras responsables de la descarga de Sb(III) en organismos procarióticos: La proteína ArsB, la cual pertenece a la superfamilia de iones transportadores y Acr3p, perteneciente a la super familia transportadora de arsenita. ArsB es un antiportador trivalente de metaloides H^+ . En presencia de ArsA, ArsB cataliza la extrusión de As (III)/ Sb(III) por la hidrólisis de ATP, mientras que puede extraer As(III) y Sb(III) por sí misma, usando el gradiente electroquímico de protones. Por otro lado, ArsC es una As(V) citoplasmática reductasa, reduciendo As(V) a As(III). De este modo, permite la descarga desde la célula a través del bombeo de ArsAB. ArsC podría estar involucrada también con la resistencia al Sb(III), pero no se sabe si está relacionado con la reducción intracelular del Sb(V). El otro antiportador trivalente de metaloides H^+ , Acr3P y su homólogo YqcL, que están normalmente presentes en *Actinobacteria* y *Alphaproteobacteria*, pueden sustituir a ArsB como bomba de descarga de Sb(III). La eliminación del gen *acr1* en la enzima Acr3p en *Agrobacterium tumefaciens* 5A resulta en una mayor

sensibilidad a Sb(III). También se ha demostrado que la expresión de *acr3* es estimulada por la presencia Sb(III) y el producto de este gen confiere tolerancia al Sb(III) en levaduras. A pesar de lo anterior, el mecanismo molecular de la reducción bacteriana intracelular del Sb(V) sigue siendo desconocido y las enzimas involucradas aún no han sido identificadas (Li et al., 2016).

En consideración de la toxicidad del antimonio, la biometilación del Sb se interpreta como un mecanismo de desintoxicación biótico (excluyendo mamíferos), en el cual el Sb(III) se puede transformar a formas menos tóxicas (mono, di y tri metilantimonio); sin embargo, esto ha sido cuestionado, dado que se ha observado que la metilación del Sb se da a una velocidad e intensidad menores que con el arsénico (Filella et al., 2002; Gebel, 1997; He et al., 2019; Ungureanu et al., 2015; Zhu et al., 2018). En la Figura 1.6 se presenta un posible modelo de la introducción, movilidad y transformaciones dentro de las células procariontas.

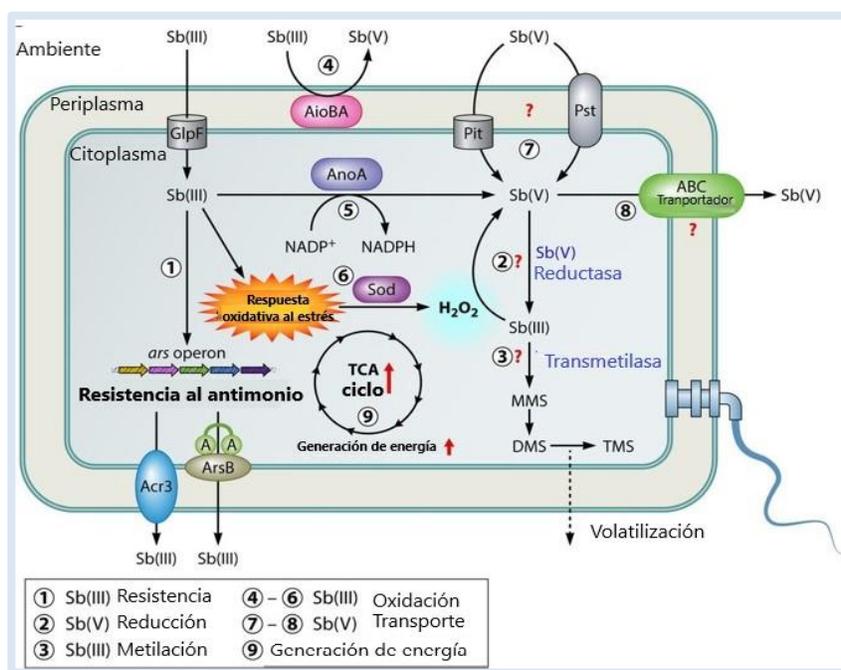


Figura 1.6. Modelo de interacción intracelular del Sb (Modificado de Li et al., 2016)

1.4.4 Reducción biológica del antimonio por vía desasimilatoria

El proceso de reducción biológica de antimonio puede llevarse a cabo por medio de un camino reductor desasimilatorio de los microorganismos en la forma hidrolizada de Sb(V) “antimoniato” ($\text{Sb}(\text{OH})_6^{[-]}$) a Sb(III) “antimonito” ($\text{Sb}(\text{OH})_3^0$) (Abin & Hollibaugh, 2013). En esta ruta respiratoria, los microorganismos oxidan la materia orgánica usando metales como aceptores finales de electrones, lo que no está relacionado con la asimilación del metal (Lovley, 2002). Este proceso se lleva a cabo en una extensión de la cadena respiratoria en la superficie exterior de bacterias gram negativas, reduciendo aceptores de

electrones extracelulares, siendo para ello esenciales las llamadas proteínas citocrómicas transportadoras de electrones. Dichas proteínas hacen posible el viaje de los electrones desde la membrana citoplasmática hacia el periplasma y sobre la membrana exterior. Los citocromos exteriores de la membrana tienen la habilidad de catalizar los últimos pasos de la cadena respiratoria transfiriendo los electrones al metal (Ritcher et al., 2012). Esta vía ha sido reportada e identificada para otros metaloides como el As y se considera que la enzima ArrAB reductasa podría estar involucrada en esta vía para el caso del Sb. Sin embargo, esto aún no ha sido probado y existe evidencia que sugiere que otros factores podrían intervenir en el proceso; por ejemplo, se ha observado que la reacción es limitada por la acumulación de Sb(III), lo que podría estar relacionado con la resistencia y tolerancia de los microorganismos a Sb(III) (Filella et al., 2007; Li et al., 2016). Investigaciones recientes atribuyen a las enzimas pertenecientes a la familia dimetil sulfoxido reductasas la capacidad para reducir antimonio en microorganismos (Abin & Hollibaugh, 2019; Shi et al., 2019).

En esta vía, cuando el sustrato es orgánico, éste es reducido a acetato y presumiblemente HCO_3^- según la siguiente reacción (Abin & Hollibaugh, 2013):



En la naturaleza el Sb_2O_3 puede ocurrir en la poliforma cúbica de senarmontita y ortorrómbica de valentinita, a temperatura ambiente puede formarse una combinación de ambas formas, por lo que el producto inmediato de la reducción de Sb(V) es hidróxido anfotérico $\text{Sb}(\text{OH})_3^0$, el cual pierde subsecuentemente agua y se precipita en una combinación de ambas formas de Sb_2O_3 senarmontita y valentinita de acuerdo con la siguiente reacción (Zotov et al., 2003):



Las especies bacterianas identificadas que realizan esta vía son *Pseudomonas*, *Acidobacter*, *Geobacter*, *Escherichia coli*, *Ruminococcaceae* y *Clostridium sp* (Chen et al., 2019; Zhu et al., 2018).

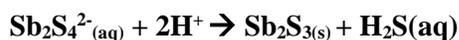
1.4.5 Reducción de Sb por acoplamiento de sulfato reducción por SRB

El sulfuro biogénico producido por organismos sulfato reductores, es capaz de precipitar los metales disueltos como sulfuros de baja solubilidad, lo que ha sido reportado para diversos metales y metaloides como Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , As^{3+} , entre otros, motivo por el cual ha sido ampliamente utilizado en el tratamiento de aguas residuales (Kaksonen & Puhakka, 2007).

Estudios recientes muestran que comunidades microbianas sulfato reductoras, pueden afectar los ciclos biogeoquímicos del Sb, donde la vía de la reducción de Sb(V) a Sb(III) es seguido de la reacción de Sb(III) con H₂S, resultando en la precipitación de Sb₂S₃. En este proceso, el Sb(V) es químicamente reducido a Sb(III) por el H₂S que se generó en la reducción del sulfato por las bacterias sulfato reductoras (SRB), donde las SRB no son capaces de reducir Sb(V) enzimáticamente (Chen et al., 2019; Zhang, et al., 2016). En el proceso de reducción del Sb(V) a Sb(III) por H₂S, éste es convertido a azufre elemental, similarmente a la reducción observada en Cr(IV) por el sulfuro generado por las SRB, donde el azufre elemental se genera de la reacción de sulfuro con Cr(VI). Además, se sabe que el Sb(III) puede formar complejos Sb(III)-S(-II), como por ejemplo Sb₂S₄²⁻ y HSb₂S₄⁻ en presencia de sulfuros (Chen et al., 2019; Filella et al., 2002b; Krupp 1988; Planer-Friedrich & Scheinost, 2011).

Una vez reducido a Sb(III), el Sb puede reaccionar con el exceso de sulfuro formando sulfuro de antimonio (Sb₂S₃), lo cual puede comprobarse mediante la disminución de H₂S y Sb(III), así como por la presencia de precipitado del Sb₂S₃. A pH 7 se ha observado que la principal especie formada como producto de la reducción del sulfato es HS⁻, lo que favorece que se lleve a cabo la reacción de reducción del Sb; sin embargo, estudios recientes muestran que a pH relativamente bajo (<7.3) los complejos formados por Sb(III) se disuelven y se disocian lo que da lugar a la formación del precipitado, mientras que a pH de 6.3 se da una completa transformación de Sb(III) a Sb₂S₃. Dicha disminución en el pH incentiva la formación del precipitado. Por el contrario, el aumento en el pH provoca una reacción inversa donde el precipitado se disocia nuevamente en complejos de Sb(III) (Chen et al., 2019; Helz et al., 2002; Rodriguez-Freire et al., 2014; Spycher & Reed, 1989; Wang et al., 2013).

La posible reducción del Sb(V) a Sb(III) se describe a continuación (Chang & Kim, 2007; Chen et al., 2019; Johnson & Hallberg, 2005; Kieu et al., 2011; Neculita et al., 2007; Wang et al., 2013).



El proceso de bio-producción de sulfuro es considerado económico y para llevarse a cabo se requiere de la presencia de altos niveles de iones sulfato en el medio. Se ha reportado que el pH 7 es óptimo para el crecimiento de las SRB y para la eliminación de Sb(V) y Sb total, además de que la concentración de sulfuro producido es más alta en medios alcalinos que en ácidos. No obstante, la reducción de iones sulfato es una reacción que produce acidez, lo que puede derivar en la acidificación del medio (Filella et al., 2007; Wang et al., 2013; Zhang et al., 2011).

En reactores donde se lleva a cabo la sulfato reducción la literatura reporta potenciales óxido reducción de 281.6 ± 6.5 mV; lo anterior, junto con la aparición de H_2S , indica el crecimiento de microorganismos sulfato reductores y unas condiciones altamente reductoras, necesarias para que la reducción del metal pueda llevarse a cabo (Chen et al., 2019).

Las bacterias identificadas capaces de llevar a cabo el proceso por esta vía, en condiciones de laboratorio son *Pseudomonas*, *Geobacter* y SRB, de la cuales se ha observado que la especie dominante es *Clostridium Sp* (Zhang et al., 2016; Zhu et al., 2018), mientras que se han observado los géneros *Alkaliphilus*, *Clostridiaceae*, *Tissierella* 26 y *Lysinibacillus* en la sub-superficie cerca de una mina activa de Sb (Wang et al., 2018a).

1.4.6 Comparación entre vía desasimilatoria y vía sulfato reductora

En la Tabla 1.3 se resumen los estudios realizados sobre la reducción biológica de Sb, cuyos resultados se discuten a continuación.

En la mayoría de los experimentos consultados sobre la reducción biológica de antimonio, se utilizó antimoniato en grado reactivo y las configuraciones de reactores fueron de tipo discontinuo. La temperatura en casi todos los experimentos se mantuvo alrededor de 30 °C, debido a que en el proceso de digestión anaerobia se ha determinado que la temperatura óptima está alrededor de los 35 °C, mientras que las bacterias sulfato reductoras encuentran las condiciones óptimas de crecimiento a un intervalo de temperatura entre 28 y 32°C (Acosta & Abreu, 2005; Hao et al., 1996).

El pH se mantuvo cerca de la neutralidad en todos los experimentos, dado que a ese valor se ha observado que ambas especies hidrolizadas $Sb(OH)_3^0$ (antimonita) y $Sb(OH)_6^{[-]}$ (antimoniato) pueden coexistir. Así mismo, permite la formación de precipitados de estibina, la cual requiere de la presencia de altas concentraciones de sulfato, y trióxido de antimonio, necesarios para la eliminación del contaminante. En cuanto a las comunidades microbianas, los experimentos demuestran que los consorcios capaces de llevar a cabo la reducción desasimilatoria se ven favorecidas por un pH neutro, mientras que se ha reportado que las bacterias sulfato reductoras encuentran su intervalo óptimo de 6.3 a 7.5 (Chen et al., 2019; O’Flaherty et al., 1998; Valenzuela, 2011; Visser et al., 1996).

En general la reducción por la vía desasimilatoria mostró ser menos eficiente en la reducción biológica de Sb(V), en comparación con la vía de sulfato reducción, probablemente debido a la acumulación de Sb(III) el cual tiene un efecto inhibitorio en los microorganismos. Experimentos realizados para examinar la bio-reducción desasimilatoria de Sb, usando biomasa con y sin presencia de sulfato, mostraron que 0.8 mM de Sb(V) fue casi reducido en su totalidad en menos de 20 h, con un 48.6% de recuperación de Sb(III) y la formación de Sb_2O_3 como precipitado, mientras que concentraciones de sulfato coexistente de 0.8 mM, 1.6

mM y 4 mM, la reducción se consiguió en 17, 9 y 5 h, respectivamente, con una ausencia de Sb(III) final y la aparición de precipitados de Sb_2S_3 y Sb_2O_3 , donde la bio-reducción del sulfato ocurrió de manera simultánea (Zhu et al., 2018). Conforme a lo anterior, la reacción de bio-reducción ha mostrado ser relativamente rápida, registrándose TRH para reactores de sulfato reducción de 24 horas (Chen et al., 2019). El esquema general del proceso se encuentra descrito en la Figura 1.7

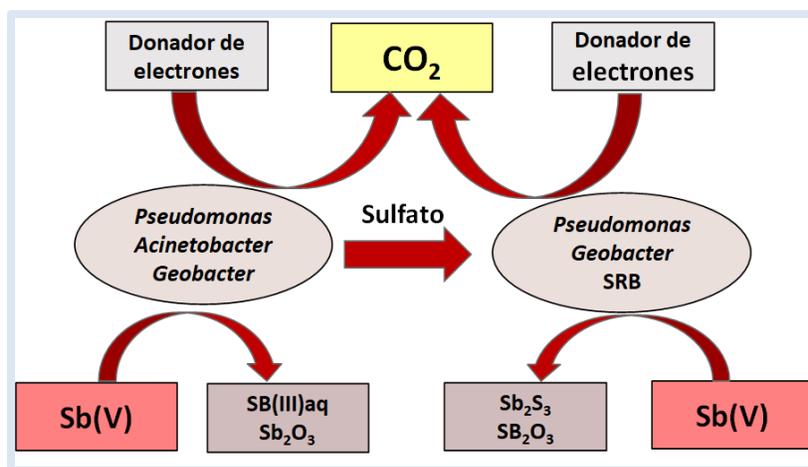


Figura 1.7. Reducción biológica de Sb(V) (Modificado de Zhu et al., 2018)

Lo anterior demuestra que tanto la reducción desasimilatoria, como la vía sulfato reductora, son rutas con las que es posible obtener Sb(III) y que juntas pueden coexistir, mejorando el proceso a través de la formación de precipitados. Es sabido que el agua residual de la minería y fundición con altas concentraciones de antimonio contiene altas concentraciones de sulfato (Zhu et al., 2018), por lo que en la naturaleza han sido reportados ambos procesos. Aunque los compuestos de antimonio trivalente se consideran más tóxicos que los de antimonio pentavalente, se ha demostrado que es más sencilla su eliminación, ya que pueden ser fácilmente adsorbido por hidróxidos de Fe(III) a pH neutro, y eliminados por centrifugación o filtración (Xiao et al., 2013), por lo que un procesos biológico es una herramienta útil como proceso de tratamiento.

Estudios recientes indican que la ruta metabólica relacionada a la reducción biológica de antimoniato está vinculada al tipo de sustrato suministrado como donador de electrones; por ejemplo, usando lactato, la reducción se da por medio de una respiración anaeróbica heterotrófica. (Jurtshuk, 1996; Lai et al., 2016). El potencial de reducción de los microorganismos con H_2 como donador de electrones; es mayor que aquellos suministrados con moléculas orgánicas, como el lactato. También ha sido reportada una menor recuperación de electrones en los sistemas alimentados con lactato de alrededor de 77–83%, comparado con 98% con H_2 . Lo anterior probablemente por una mayor red involucrada en la síntesis de biomasa debido al anabolismo heterotrófico, donde los electrones se van al acetato y propionato a través de la fermentación, y a metano a través de la metanogénesis; lo que representa una pérdida del 15% en la recuperación de electrones (Lai et

al., 2016; Wen et al., 2015). En cuanto a otras moléculas orgánicas, también ha sido reportado el uso de acetato; pero, se puede inferir que al igual que el lactato, al ser otra molécula orgánica, representará una pérdida en comparación con el H₂. Así mismo, se ha estudiado el uso de etanol, el cual ha mostrado una recuperación de electrones similar al lactato, con la ventaja de ser más económico, además de que como resultado de la oxidación se produce menor cantidad de HCO₃⁻, el cual es el factor que más afecta al pH en los sistemas de sulfato reducción (Chen et al., 2019; Dvorak et al., 1992; Kousi et al., 2011).

Experimentos realizados controlando la adición de sulfato, en la reducción por SBR, mostraron que éste se consume casi en su totalidad y que la especie en la que se encuentre, sulfato, sulfito o tiosulfato, tiene un efecto en el proceso, donde sulfito y el tiosulfato llevaron a la formación del precipitado de estibina, mientras que esto no fue posible con el sulfato. Sin embargo, esto fue en condiciones para un microorganismo marino específico, por lo que se requieren más estudios para determinar el efecto de la especie de sulfato y su influencia en la reducción del Sb (Zhang et al., 2019; Zhu et al., 2018).

Las comunidades microbianas presentan grandes diferencias dependiendo el tipo de sustrato; por ejemplo, cuando se emplea lactato proliferan principalmente fermentadores y microorganismos heterotróficos, mientras que cuando se emplea H₂, predominan *Rhizobium* (α -Protobacteria) (Lai et al, 2016). Otros experimentos han mostrado una relación entre la presencia de la clase *Bacilliales* y la reducción de Sb (Moreno et al., 2018). Los estudios de control de la presencia de sulfato mostraron que los géneros *Geobacter* y *Pseudomonas* persistieron y aparecieron tanto en la etapa desasimilatoria como en la de sulfato reducción (Zhu et al., 2018).

Tabla 1.3. Resumen antecedentes reducción Sb

Ruta metabólica	Donador de electrones	Inóculo	Precipitados obtenidos	Microorganismos identificados	Sb	Configuración de reactor	Parámetros de operación	Resultados	Referencia
Desasimilatoria	Lactato	Sedimento de lago	Sb ₂ O ₃	<i>Bacillales</i> MLFW-2	KSb(OH) ₆	Batch	pH 7, 30°C, oscuridad	Aislamiento de microorganismo	Abin & Hollibaugh, 2013
	H ₂	Sedimento de mina		<i>Rhizobium</i>		Batch	pH 7.0 ± 0.2, 30°C y oscuridad	Reducción de 650 µM of Sb(V) a Sb(III) en 10 días	Lai et al., 2016
	CH ₄	N.E.		<i>Methanosarcina</i>		Batch con biopelícula en membrana	35±1°C	Reducción de antimoniato usando metano	Lai et al., 2018
	Electrodo	Muestra de suelo fabrica		<i>Chryseobacterium koreense</i> y <i>Stenotrophomonas nitritireducens</i>		Cámara bioelectroquímica	Potencial del biocátodo -0.7 V	Reducción bioeléctrica de antimoniato	Nguyen et al., 2019
Desasimilatoria y Sulfato reducción	Ausencia de sulfato: 3.3 mM acetato Presencia de sulfato: 8 mM acetato	Lodo de digestión anaerobia	Sb ₂ S ₃ y Sb ₂ O ₃	Fase desasimilatoria: <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> y <i>Geobacter</i> Fase sulfato reducción: <i>Pseudomonas</i> , <i>Geobacter</i> y <i>SRB</i>	KSb(OH) ₆	Batch	pH 7.0 ± 0.2, 35 °C. y oscuridad	0.8 mM de Sb(V) reducido en 20 h, con un 48.6% de recuperación de Sb(III) y Sb ₂ O ₃ . Sulfato coexistente de 0.8mM, 1.6mM y 4mM, la reducción se consiguió en 17, 9 y 5 h	Zhu et al., 2018
Sulfato reducción	Acetato (2.56 g L ⁻¹).	Inóculo de biorreactor industria papelera	Sb ₂ S ₃	-N.E.	KSb(OH) ₆ ,	Batch	pH 7.0, 30±2°C y oscuridad	Concentración de inhibición para microorganismos anaerobios al 50% es de 150 mg L ⁻¹ para Sb (V) y entre 10 & 12 mg L ⁻¹ para Sb (III).	Regidor, 2017
	Lactato de sodio, sulfato de sodio, sulfito de sodio, thiosulfato de	Ensayos de reducción: 100 mL CNZ-1		<i>Shewanellasp. CNZ-1</i> ,	Ensayos de reducción: Sb(V): KSb(OH) ₆ (10 mM) de (0.2,	Batch (cámara anaerobia)	pH 7.2 ± 0.2 20 ± 2 °C.	Identificación de genes específicos para la reducción de Sb(V) a Sb(III)	Zhang et al., 2019

Ruta metabólica	Donador de electrones	Inóculo	Precipitados obtenidos	Microorganismos identificados	Sb	Configuración de reactor	Parámetros de operación	Resultados	Referencia
	sodio y ácido ascórbico : y 0 g L ⁻¹ , 0.2 g L ⁻¹ , 0.4 g/ y L, 0.8 g L ⁻¹ & 1.2 g L ⁻¹ , respectivamente	Efecto del sulfato: 0.1 g L ⁻¹ CNZ-1 Proveniencia: sedimentos marinos			0.4, 0.8, 1.2 y 1.6 mM) Efectos del sulfato, sulfito y tiosulfato: 0.8mM				
	Etanol y Lactato	Inóculo sintético	Sb ₂ S ₃ , S ⁰ , calcita (CaCO ₃), dolomita (CaMg(CO ₃) ₂)	<i>Clostridium sp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , y <i>Ruminococcaceae</i> .	KSb(OH) ₆	Reactor anaerobio flujo ascendente con lecho empacado a escala laboratorio.	pH (6.58–7.96)	Operación a largo plazo de reactor flujo ascendente con lecho empacado y estudio de la formación de Sb ₂ S ₃	Chen et al., 2019
	Acetato (2.56 g L ⁻¹).	Diferentes lodos anaerobios	N.E.	<i>Allivibrio fishery</i>	Sb(V): KSb(OH) ₆ y Sb(III)/ C ₈ H ₄ K ₂ O ₁₂ Sb ₂ *H ₂ O	Batch	pH 7.0, 30±2°C y oscuridad	Menor toxicidad para microorganismos anaerobios	Moreno et al., 2018
N.E.	H ₂		N.E.	Género <i>Simpliscispira</i> , <i>Brevibacillus</i> , <i>Sporosarcina</i> , y <i>Lysinibacillus</i>	19 mg L ⁻¹ Sb(V): KSb(OH) ₆	Batch	30±2°C, oscuridad	Correlación entre el incremento de la presencia de la clase <i>Bacilliales</i> y la reducción de Sb(V) a Sb(III), mas no para remover Sb total. Decremento de la clase <i>Bacilliales</i> conlleva baja reducción de Sb(V) y una eliminación de Sb total	Moreno et al., 2019

N.E. No especificado

2. JUSTIFICACIÓN

El antimonio es un metaloide que presenta una elevada toxicidad y que es ampliamente usado en la industria. Aunque la contaminación está asociada a sus fuentes geogénicas, casos de contaminación han sido reportados en distintas partes del mundo, como resultado de la actividad antropogénica. Proyecciones a futuro estiman un incremento en la aplicación y explotación de este metaloide y por ende el riesgo de contaminación en cuerpos de agua por la descarga de efluentes industriales, lo que, sumado a que sus propiedades fisicoquímicas dificultan su eliminación de cuerpos de agua, hace de la contaminación por antimonio una problemática de interés creciente. El ciclo biogeoquímico del antimonio en el medio ambiente, así como la interacción de éste con microorganismos han sido poco estudiados; sin embargo, se sabe que en soluciones acuosas la bio-reducción del Sb(V) a Sb(III) se lleva a cabo en condiciones anaerobias por dos vías extracelulares, desasimilatoria y al reaccionar con H₂S disuelto en sistemas de sulfato reducción, por lo que dichas propiedades pueden utilizarse como un método de eliminación de Sb para el tratamiento de aguas contaminadas. Los reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado se han utilizado exitosamente para la biotransformación de metales presentes en aguas residuales y la formación y recuperación de precipitados. El presente proyecto pretende conocer la capacidad de eliminación del antimonio total y su efecto sobre la actividad de los microorganismos en un proceso anaerobio operado a largo plazo a través de realizar el arranque de dos biorreactores para la transformación biológica de antimonio presente en agua residual sintética, por sulfato reducción y reducción desasimilatoria; así como la viabilidad del uso de un sistema UAPB (por sus siglas en inglés, *Upflow Anaerobic Packed Bed*). para la biotransformación de antimoniato a antimonito y la recuperación del metaloide en forma de precipitados de Sb₂S₃ y Sb₂O₃.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar la eliminación antimonio total en agua residual sintética por vías desasimilatoria y sulfato reductora en reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado a nivel laboratorio

3.2 Objetivos particulares

1. Determinar la capacidad de eliminación de Sb total por vía desasimilatoria y sulfato reductora empleando reactores de flujo ascendente con lecho empacado para el tratamiento de aguas.
2. Comprobar posibles vías metabólicas al destino final del Sb total analizando la composición de los precipitados producidos por vía desasimilatoria y sulfato reductora mediante la técnica de difracción de rayos X.
3. Determinar la dinámica poblacional de los procesos caracterizando filogenéticamente las comunidades microbianas en la biopelícula del empaque y en la purga de los reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado.

4. METODOLOGÍA

4.1 Diseño experimental

La estrategia experimental para este proyecto se dividió en 3 etapas como se muestra en la Figura 4.1.

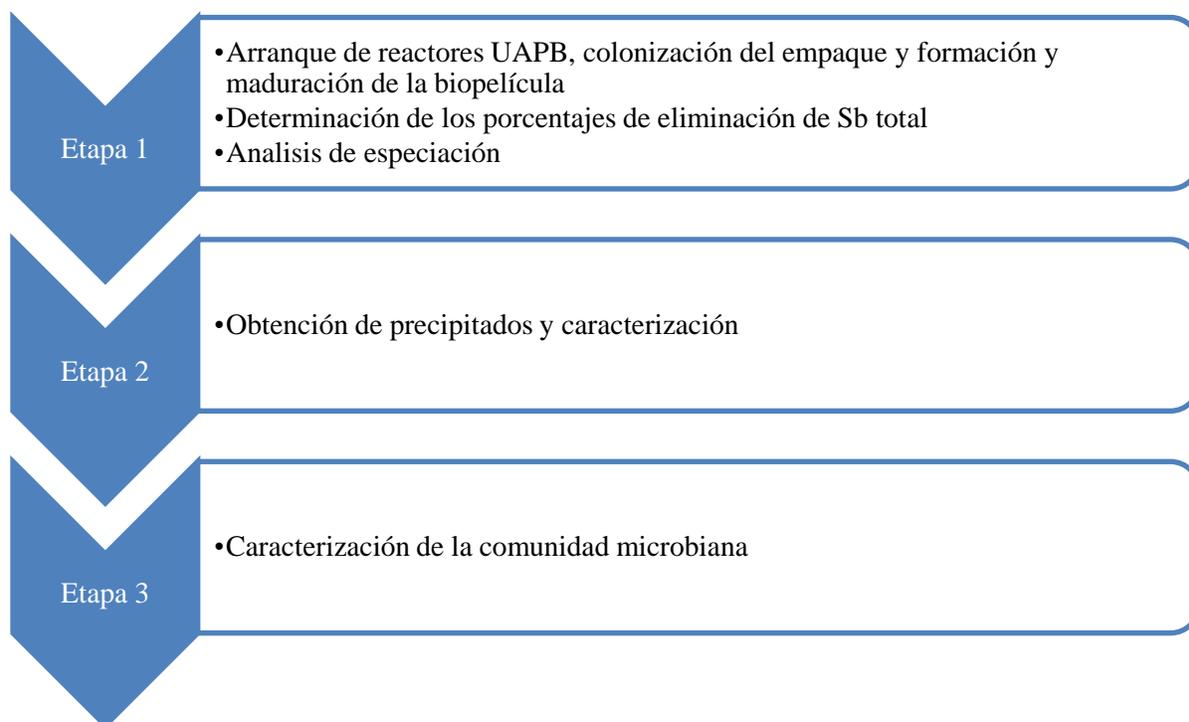


Figura 4. 1. Etapas experimentales

La primera etapa consistió en el arranque de dos reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado (UAPB, por sus siglas en inglés). Al reactor uno, (R1), le fueron adicionados sulfato en el influente para propiciar la aparición de bacterias sulfato reductoras y realizar la bio-reducción del antimonio presente por medio de la reacción con H_2S disuelto. En el reactor dos (R2), no fueron adicionados sulfatos, esperando así que proliferaran los microorganismos capaces de utilizar el $Sb(V)$ como aceptor final de electrones por vía desasimilatoria. A dichos reactores se les hizo pasar agua residual sintética adicionada con antimoniato, el cual fue recirculado del efluente en la parte superior para introducirse en la parte inferior del reactor con la finalidad de incentivar la colonización del lecho empacado y la formación de una biopelícula. Además, se determinaron los porcentajes de eliminación que se llevaron a cabo en el proceso de bio-reducción en los UAPB. En la segunda etapa, una vez obtenidos los precipitados, éstos se extrajeron y se almacenaron para

determinar su composición. En la tercera etapa se realizó una caracterización de la comunidad microbiana adherida al empaque, así como en la biomasa suspendida de cada reactor.

4.1.1 Etapa 1

4.1.1.1 Arranque de reactores UAPB

4.1.1.1.1 Reactivos

- **Agua residual sintética:** Se utilizó agua destilada a la cual se le adicionó Sb(V) en una concentración de 5 mg L^{-1} como hexahidroxoantimoniato de potasio, con la finalidad de mantener la concentración por debajo de lo reportado para inhibición de microorganismos anaerobios para Sb(III), cuya aparición derivada del proceso de reducción biológica, puede provocar inhibición en el sistemas anaerobios en concentraciones superiores a 11 mg L^{-1} (Moreno et al., 2019; Barrera, 2020). Las concentraciones en aguas residuales provenientes de minas de antimonio son muy variadas; sin embargo, se han reportado concentraciones de 1.3 a 7.9 mg L^{-1} (Anawar et al., 2011; Chen et al., 2019; Flynn et al., 2003; He, 2007; Parker et al., 1979).
- **Antimonio:** El Sb utilizado para alimentación y en las pruebas analíticas, fue Sb(V) como hexahidroxoantimoniato de potasio (KSb(OH)_6 , CAS # 12208-, pureza $\geq 99.0\%$), mientras que el Sb (III), usado para la realización de estándares fue tartrato de potasio de antimonio (III) hidratado ($\text{C}_8\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_{12}\text{Sb}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, CAS # 331753-56-1, pureza $\geq 99.0\%$).
- **Inóculo:** Lodo mesófilo aerobio proveniente del sedimentador secundario una planta de tratamiento de aguas residuales ubicada en el municipio de Santa Rosa Juriquilla, en el estado de Querétaro; se eligió este inóculo ya que se ha observado que el lodo de recirculación de un sistema de lodos activados para el tratamiento de aguas residuales domésticas, presenta una gran diversidad microbiana, lo que posibilita la adaptación a condiciones anaerobias y la presencia del antimonio y que luego de un periodo de aclimatación, aparezcan aquellos microorganismos capaces de realizar el proceso de bio-reducción del antimonio (Jiang et al., 2008). Dicho inóculo fue tamizado para retirar el agua en exceso y caracterizado en su concentración de sólidos volátiles según el método APHA, 1999, obteniéndose una concentración de $87 \text{ g de SSV L}^{-1}$ lodo húmedo.
- **Medio basal mineral:** Se utilizó un medio mineral para adicionar nutrientes necesarios para la inoculación del reactor desasimilatorio (Angelidaki & Sanders, 2004) y para el de sulfato reducción (Postgate, 1984).
- **Sustrato:** Se empleó etanol grado reactivo en una concentración de 5 g L^{-1} .

4.1.1.1.2 Diseño y configuración del reactor de reactor

Un lecho empacado permite incrementar la estabilidad y el desempeño de los reactores anaerobios, además, un empaque sirve como un filtro que previene el lavado de los microorganismos y provee una mayor área superficial, lo que acelera la formación de la biopelícula y mejora la metanogénesis. Los reactores de lecho empacado dependen de la tendencia natural de las poblaciones microbianas mixtas que se adsorben a superficies y forman biopelículas (Parawira et al., 2006). Los reactores de lecho empacado han sido ampliamente usados en experimentos y en la industria para la eliminación y recuperación de metales como Cu, Zn, Ni, Fe, Al, Mg, As, Sb y sulfato, los cuales pueden ser adsorbidos o co-precipitados, dependiendo del potencial redox y del pH. Dichos reactores han registrado porcentajes de eliminación de sulfato de 82% y de metales superior al 70%, particularmente para antimonio, se ha reportado 96% para pH entre 6.2 y 7.0 en sistemas de sulfato reducción (Chen et al., 2019; Isosaari & Sillanpää, 2017; Jong & Parry, 2003). En consideración de lo anterior, se construyeron 2 reactores de flujo ascendente con lecho empacado, fabricados de material acrílico con doble pared y con un volumen útil de 2.5 L. Las medidas se especifican en la Figura 4.2.

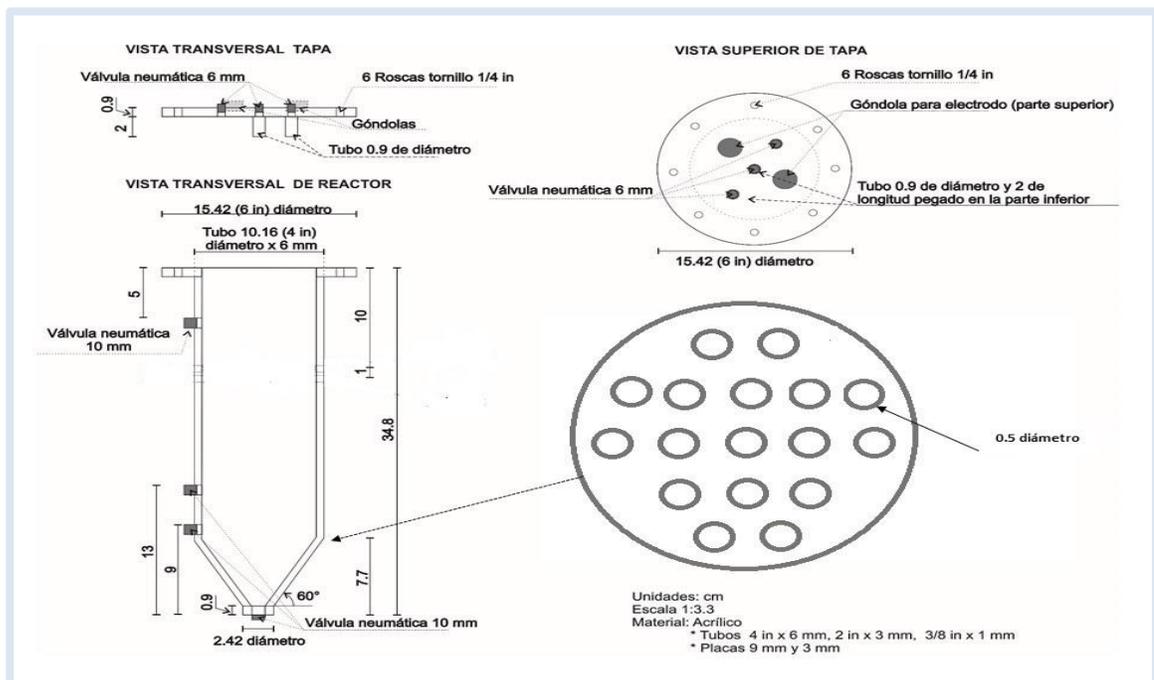


Figura 4.2. Diseño del reactor

En la Figura 4.3 se muestra la configuración que tuvieron ambos reactores.

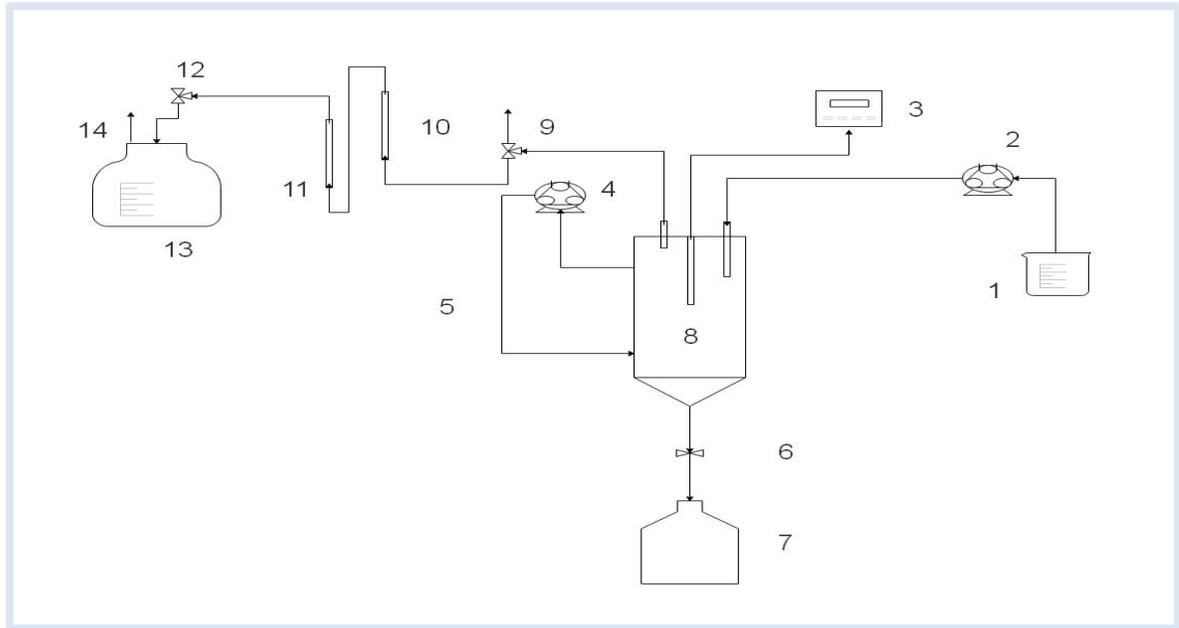


Figura 4.3. Diagrama de flujo de reactor

El reactor (8) previamente llenado con empaques, contó con un puerto de alimentación/extracción (1), donde el agua residual sintética era introducida al reactor o extraída para toma de muestra, lo anterior a través de una bomba peristáltica (2). El monitoreo de pH al interior del reactor consistió en un electrodo de pH sumergido y un monitor (3). Por medio de una bomba peristáltica (4) se realizó la recirculación (5) para mantener el reactor en constante agitación. Los precipitados que pudieran formarse se depositarían por gravedad en el fondo cónico del reactor, lo que permitiría su drenado por medio de una válvula (6) y recolección (7). El biogás producido en el proceso biológico fue conducido a un puerto de extracción para toma de muestra de biogás (9) y luego a una trampa de H₂S (10), la cual contenía rebaba metálica para neutralizar el gas corrosivo. Luego, el gas limpio pasaba a una segunda trampa de control de humedad (12) la cual contenía sílica gel en perlas a lo que sucedía un segundo puerto de extracción de biogás (12) depositándose en un sistema de medición de flujo de gas por desplazamiento de agua (13), el cual consistió en un recipiente cerrado con agua salada a pH 2, donde el volumen de agua desplazado por el gas permitió estimar el volumen generado. En la Figura 4.4 se muestran los reactores ensamblados, según la configuración descrita anteriormente.



Figura 4. 4. Reactores ensamblados: R1. Reactor de sulfato reducción; R2. Reactor de reducción desasimilatoria

4.1.1.1.3 Empaque

Como empaque para fijar los microorganismos se utilizaron anillos plásticos de polietileno de alta densidad (2H-BCN-007), los cuales tienen un diámetro promedio de 7mm, 9 mm de largo, 7 mm de ancho, área superficial de $884 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$, y una densidad de 160 kg m^{-3} . En la Figura 4.5 se muestra el empaque utilizado. Ambos reactores se llenaron con un volumen equivalente a 1 litro de estos empaques, lo que equivale a 0.884 m^2 de área superficial disponible.



Figura 4. 5. Anillos plásticos de empaque

4.1.1.1.4 Técnicas generales

Con el fin de conocer las características del sistema se evaluaron los parámetros descritos en la Tabla 4.1 en ambos reactores.

Tabla 4. 1. Análisis Físicoquímicos e instrumentales realizados a los reactores UAPB R1 y R2

Técnica	Análisis	Referencia	Equipo utilizado	Punto de medición	Reactor	
					R1	R2
Análisis físicoquímicos	Alcalinidad Total	APHA et al., 1999	N.A.	Efluente	✓	✓
	Sólidos Volátiles	APHA et al., 1999	Mulfla Vulcan A 550, Estufa Venticell y balanza analítica	Lodo de purga, sólidos y biopelícula en empaque.	✓	✓
	Sulfato disuelto	Método turbidimétrico estándar 8051/ APHA, et al., 1999; HACH, 1992	HACH DR 1900	Efluente	✓	x
	Sulfuro disuelto	APHA et al., 1999; HACH, 1992			✓	x
Análisis instrumentales	Ácidos grasos y volátiles	Mejía C., (2018)	Cromatógrafo de gases Agilent 7890B con detector de ionización de flama FID y columna DB-FFAP (15 cm x 530 µg x 1um, Agilent).	Efluente	✓	✓
	Composición de Biogás (H ₂ , CO ₂ , CH ₄)	Cardeña et al., 2017 & Cobos, 2019	Cromatógrafo 8610C, SRI Instruments, Torrance, CA, USA)	Efluente		✓
	Sb total	GBC, 2005; Chapple G., 1990; Fuentes et al., 2003; de la Calle Guntiñas et al., 1992; Apte S. & Howard A., 1986	Espectrofotómetro de absorción atómica GBC HG3000, GBC Scientific	Efluente, Lodo de purga y adherido al empaque	✓	✓
	pH	APHA, 1999	Display para interior de reactores: Butech Instruments pH 190 series (R1) y Cole - Parmer pH/ORP 350 en el (R2); con electrodos Hanna HI1230B Efluente: Hanna HI5222	Interior de reactores para control y en efluente.	✓	✓
*✓ Determinado; x No determinado; N.A. No aplica; R1. Reactor de sulfato reducción; R2. Reactor Desasimilatorio,						

a) Análisis instrumental

- **Sb total:** Las muestras líquidas efluente previas al análisis se filtraron usando filtros de nitrocelulosa de 0.45 µm, para remover las partículas suspendidas, luego se acidificaron a pH 2 con ácido clorhídrico concentrado para evitar la formación de microorganismos en la muestra y se almacenaron a 4 °C previo al análisis. Se sabe que el antimonio tiende a oxidarse lentamente cuando se almacena en una solución fuertemente ácida y puede perderse como oxiclورو de antimonio en HCl diluido, por lo que, para prevenirlo en ácidos débiles, se puede adicionar ácido tartárico en exceso a las muestras y estándares en caso de largos periodos de almacenamiento. Para el caso de las muestras de lodo, estas se incineraron a 550 °C, para eliminar la fracción orgánica, luego las cenizas se lavaron en una solución ácido clorhídrico 0.1 N con la finalidad de solubilizar el metal presente, para luego continuar con el proceso de preparación utilizado para las muestras líquidas del efluente anteriormente descrito (Apte & Howard, 1986; Antanasopoulos, 1993; Chapple, 1990; de la Calle Guntiñas et al., 1992; Fuentes et al., 2003; GBC, 2005).

En esta etapa se evaluaron los resultados experimentales de los análisis fisicoquímicos y se realizó un cálculo para determinar el porcentaje de eliminación del Sb total en ambos reactores usando la ecuación 1.

$$\% \textit{Eliminación} = \frac{[\text{SbT purga}] * 100}{\text{SbT lote}} \quad (1)$$

4.1.1.2 Colonización del empaque

En esta primera fase se llevó a cabo la inoculación de los reactores y la colonización y maduración de la biopelícula. Luego de ser inoculados de manera simultánea, los reactores R1 y R2 se alimentaron con agua residual sintética adicionada con antimonio en concentración de 5 mg L⁻¹. El control de pH se realizó mediante la adición carbonato de calcio para mantener en un intervalo entre 6.0 y 7.0 dentro de los reactores replicando condiciones cercanas a la neutralidad. La temperatura de 30°C ±5°C se controló por medio de un recirculador Julabo CORIO CD-BT5, con el cual se hizo pasar agua por una manguera alrededor de la superficie externa de los reactores.

La recirculación continua del líquido al interior del reactor se realizó por medio de bombas peristálticas Masterflex LS 77200-50, a una velocidad de 50 r.p.m. para mantener completamente mezclado el reactor en un caudal de recirculación de 0.20 mL /min con un TRH de 48 h.

La operación durante todo el experimento se realizó en discontinuo, lo que consiste en 4 etapas consecutivas las cuales son: etapa de llenado para la adición de sustrato, el medio mineral y el antimonio al reactor con una duración de 10-20 min; etapa de reacción, en la cual se llevó a cabo la reducción de antimonio a antimonio; etapa de sedimentación, donde se dio la formación de precipitados; y etapa de vaciado cuyo propósito es la extracción del efluente, con una duración de 10-20 min. La etapa de reacción y sedimentación se llevó a cabo de forma simultánea en la duración del periodo de 48 h (Cárdenas et al., 2006; Paredes & Ramos, 2014; Santiago, 2013).

En ambientes favorables, cuando los microorganismos entran en contacto con tóxicos, ocurre una fase de aclimatación. Diferentes mecanismos se han sugerido para explicar la aclimatación de consorcios microbianos, sin embargo, se ha sugerido que existe una selección y multiplicación de microorganismos y que ocurren transformaciones fisiológicas en el sistema metabólico como por ejemplo alteraciones al nivel enzimático, regulación y producción, mutación, etc. (Moreno & Buitron, 2004; Aelion et al., 1989; Wiggings et al., 1987); en consideración de lo anterior, se determinó un tiempo de 30 días para el proceso de arranque y aclimatación, al término del cual se observó la formación de la biopelícula, por medio de la formación de exopolímeros extracelulares que permitieron a los microorganismos adherirse al empaque en ambos reactores (Chen et al., 2019; Qureshi et al., 2005).

Las condiciones durante la etapa de arranque y etapa de operación de ambos reactores se encuentran en la Tabla 4.2.

Tabla 4. 2. Parámetros de operación de reactores UAPB R1 y R2

Parámetro	R1 Sulfato reducción	R2 Reducción desasimilatoria
pH	6-7	6-7
Temperatura; C°	30	30
Concentración inicial de Inóculo L de lodo húmedo	0.18 L	0.18 L
Concentración de Sb(V); mg L ⁻¹	5 mg L ⁻¹	5 mg L ⁻¹
Concentración de Sulfato	1 g L ⁻¹ como Na ₂ SO ₄	Ausente
TRH	48 h	48 h
Caudal de recirculación	0.20 mL /min	0.20 mL /min

4.1.1.3 Maduración de la biopelícula

Con la finalidad de determinar el crecimiento total de biomasa (X_T), se utilizó la ecuación 2 (Mejía, 2018, Anzola-Rojas & Zaiat, 2015), Donde X_T es igual a la sumatoria de la biomasa suspendida (X_S), la

biomasa adherida a los soportes (X_A) y la biomasa descargada en el efluente (X_E); sin embargo, se realizó una modificación, donde $X_S=X_E$ debido a que X_E se encuentra conteniendo X_S dado que se utilizó una cantidad de empaques suficiente para inmovilizar el lecho, ocupando la mayoría del espacio disponible del reactor dejando libre únicamente un espacio gaseoso de 300 ml.

$$X_T = X_S + X_A + X_E \quad (2)$$

$$X_S = X_E \quad (3)$$

$$X_T = X_A + X_E \quad (4)$$

Para el cálculo de X_A , se utilizaron soportes de cada uno de los reactores, a los cuales les fue retirada la biomasa adherida con ayuda de una espátula y agua destilada. El lodo obtenido se utilizó para calcular los sólidos volátiles, suponiendo un crecimiento homogéneo, tomando en cuenta el volumen de muestra recolectada (V_m) y número de soportes utilizados como se ilustra en la ecuación 5. Para X_E se determinaron los sólidos volátiles suspendidos en el interior del reactor y en el efluente respectivamente, considerando el volumen útil de operación (V_R) conforme a la ecuación 6.

$$X_A = SSV * V_m * \# \text{SOPORTES} \quad (5)$$

$$X_S = SSV * V_R \quad (6)$$

X_T sólo se determinó en la biomasa adherida a los empaques al final del experimento, mientras que X_E , se calculó en la purga de lodo en los lotes donde se recolectó muestra líquida para determinación del Sb total. Así mismo, se analizó la concentración de Sb total absorbido en la biomasa adherida a los empaques y en el lodo de purga, el cual consiste en una mezcla de biomasa y precipitados depositados en el fondo cónico de los reactores. La muestra de la purga fue recolectada al finalizar el ciclo de aquellos lotes donde se tomó muestra del efluente para determinación de Sb total disuelto.

4.1.1.4 Análisis de especiación

Para el análisis de la especiación, se utilizó la información determinada experimentalmente en el efluente de ambos reactores, considerando los factores que intervienen directamente en la formación del precipitado, siendo estos el pH, alcalinidad y temperatura, adicionando la concentración de sulfato y sulfuro de hidrógeno disueltos exclusivamente para el reactor de sulfato reducción. Con dicha información se realizaron simulaciones con el programa visual MINTEQ (Gustafsson, 2013); usando la concentración de Sb total disuelto en el efluente, suponiendo una reducción de antimoniato a antimonito del 25, 50, 75 y 100 % del total del antimonio disuelto en el efluente. Con los resultados se determinaron las condiciones que

generarían la formación de los precipitados y se contrastó esta información con los resultados experimentales para determinar el escenario más probable dentro de los reactores.

4.1.2 Etapa 2

4.1.2.1 Obtención de precipitados y caracterización

En los precipitados se esperó encontrar fases cristalinas, por lo que dichos precipitados fueron extraídos previo al cambio de lote, extrayendo de la base cónica de los reactores la muestra de sedimentos. Posteriormente, los precipitados fueron centrifugados a 10,000 r.p.m. por 10 minutos, con la finalidad de separar las fases y retirar el líquido sobrante. Al final del experimento, se formó una muestra representativa del lodo de purga de ambos reactores, misma que fue secada a temperatura ambiente en un desecador para evitar la alteración de las fracciones cristalinas que pudieran estar presentes. Posteriormente el precipitado seco se congeló a -4°C para su preservación (Bish & Reynolds, 2018), para ser enviado para su análisis por difracción de rayos X al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM (CFATA), un laboratorio externo ubicado en Juriquilla, Querétaro.

El análisis de difracción de rayos X, fue realizado por el método de polvos. Dicha técnica es útil para analizar muestras policristalinas basándose en la ley de Bragg, $2d\sin\theta=n\lambda$, donde d es la distancia entre planos atómicos, θ es el ángulo de difracción y λ es la longitud de onda de la radiación utilizada (Chauhan & Chauhan, 2014)., teniendo un valor de 1.54 \AA en este caso, misma que corresponde a la radiación $K\alpha$ del cobre. Se empleó un difractómetro de rayos X marca Rigaku, modelo UIV con detector de ultra alta velocidad DteX. Las condiciones de operación fueron las siguientes: rango de medición (2θ) de 5 a 80° Velocidad = 4 grados por minuto; Muestreo = 0.02 seg, Incertidumbre de medición: ± 0.017 grados.

4.1.3 Etapa 3

4.1.3.1 Caracterización de la comunidad microbiana

Al finalizar el experimento, se extrajo una muestra de biomasa de los empaques colonizados de ambos reactores, procediendo a realizar lavados con apoyo de agua destilada y una espátula. De igual manera se tomó muestra de lodo de la purga del último lote. El volumen obtenido se centrifugó a 3500 r.p.m. durante 10 min, eliminando el sobrenadante para posteriormente ser congelado a -20°C y almacenado hasta su

análisis. El ADN presente en las muestras se extrajo con un kit de extracción Power Soil DNA Isolation (QIAGEN, Hidden, Alemania), siguiendo los procedimientos de extracción y purificación de acuerdo con el protocolo del fabricante. La concentración del ADN se determinó por espectrofotometría utilizando el equipo KANODmp 2000c (Thermo Scientific, EUA). La comunidad presente en el ADN extraído se analizó amplificando un gen 16s rADN y fue secuenciando mediante la plataforma MiSeq en un laboratorio externo (RTL genomics, Texas, EUA). Fueron usados cebadores estándares para determinar todas las secuencias presentes. El análisis de las secuencias y clasificación de Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU, por sus siglas en inglés), y asignación taxonómica fue realizado por el proveedor de secuenciación de acuerdo con lo descrito en trabajos anteriores (Barragán- Trinidad et al., 2017). Con las OTU obtenidas se realizaron gráficos con ayuda de RStudio V.3.6.3 (RStudio Team, 2020), utilizando la paquetería específica para la determinación de la abundancia relativa. Los resultados se contrastaron con lo reportado en la literatura (Abin & Hollibaugh, 2017; Gonzáles, 2006; Zhu et al., 2018).

Con la información de la secuenciación, se determinaron índices de diversidad alfa para realizar comparativos entre los consorcios del empaque y la purga de un mismo reactor. Se calculó el índice de Shannon-Wiener que expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra, por lo que se utilizó para medir el grado promedio de incertidumbre en predecir a que especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una colección (Baev & Penev, 1995; Ferriol & Merle, 2012; Magurran, 1988; Peet, 1974). Dicho índice asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra. Adquiere valores entre cero, cuando hay una sola especie, y el logaritmo de S, cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos (Magurran, 1988). Adicionalmente se determinó el índice de Simpson, el cual manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie, este índice está fuertemente influido por la importancia de las especies más dominantes (Magurran, 1988; Peet, 1974).

Con la información de la secuenciación se realizaron cálculos para determinar índices de diversidad, beta de similitud/disimilitud cuantitativa, eligiendo el índice de Morisita-Horn para realizar comparativos entre los consorcios de los empaques y las purgas de ambos reactores. El índice de Morista-Horn mide la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar, cada uno de un sitio o grupo diferente sean de la misma especie. Para cualquier par de grupos el valor se encuentra entre 0 y 1, siendo los valores cercanos a uno los más similares; estos valores dependen del número de especies comunes y de la abundancia relativa de éstas. Este índice está fuertemente influido por la riqueza de especies y el tamaño de las muestras, y tiene la desventaja de que es altamente sensible a la abundancia de la especie más abundante (Baev y Penev, 1995; Gutiérrez et al., 2012; Magurran, 1988; Moreno, 2000). También se calculó el índice de diversidad beta cuantitativa de Sorensen entre los consorcios de los empaques y las purgas de un mismo reactor (Moreno, 2000).

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Etapa 1. Operación de los biorreactores

5.1.1 Determinación de porcentajes de eliminación de Sb total

En total se realizaron 20 cambios de lote en intervalos de 48 horas, para el reactor desasimilatorio y 21 para el de sulfato reducción, por lo que los reactores fueron operados por un periodo de 44 y 46 días respectivamente.

En la Figura 5.1 se muestra el comportamiento del pH, la concentración de Sb total en el efluente del reactor desasimilatorio y el porcentaje de eliminación a lo largo del experimento. Para el reactor desasimilatorio (R2) se reportó un pH promedio de 6.13 ± 0.76 , lo que se encuentra por debajo de 7.0 en el que se ha reportado que la bio-reducción desasimilatoria del antimonio puede llevarse a cabo en condiciones anaerobias (Abin & Hollibaugh, 2013). La concentración de Sb total disuelto en el efluente se encontró en $0.0003 \pm 0.0006 \text{ mg L}^{-1}$, con un porcentaje de eliminación promedio de $28.43 \pm 15.02 \%$, donde los mejores % de eliminación, aquellos superiores a 30% en los puntos en lo que se realizó el estudio, se encontraron en el lote 8, 9 y 12 con pH cercano a la neutralidad de entre 6.77 y 6.89 respectivamente, lo que concuerda con lo reportado para procesos de reducción desasimilatoria de Sb en condiciones anaerobias (Abin & Hollibaugh, 2013; Zhu et al., 2018).

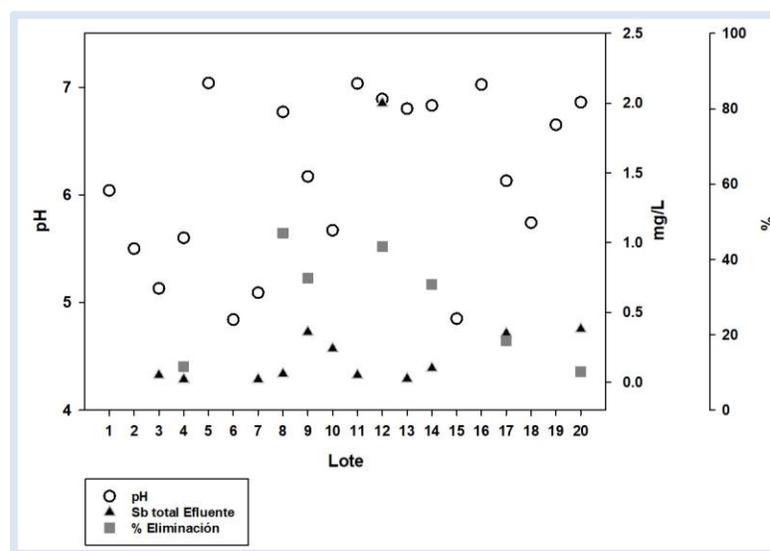


Figura 5. 1. pH/ % Eliminación- Reactor desasimilatorio (R2)

En la Figura 5.2 se muestra el comportamiento del pH en comparación con la concentración de Sb total en el efluente y el % de eliminación a lo largo del experimento en el reactor de sulfato reducción (R1).

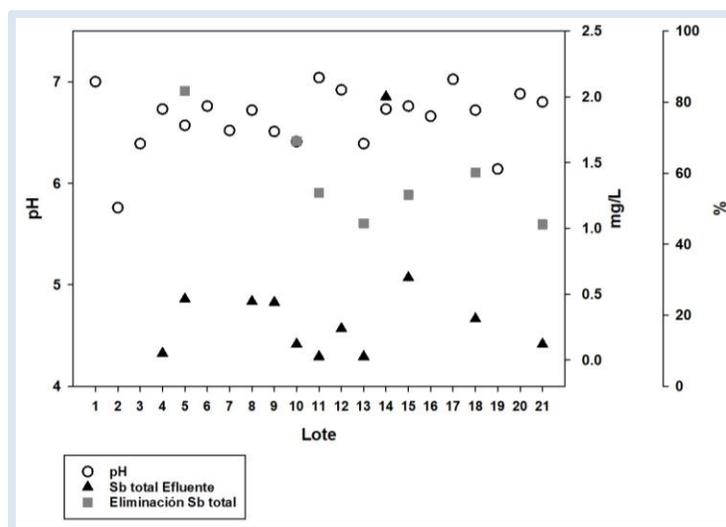


Figura 5. 2. pH/ % Eliminación- Reactor sulfato reducción (R1)

En el reactor de sulfato reducción, el pH se encontró en 6.68 ± 0.29 , mientras que la concentración de Sb total disuelto en el efluente se encontró en $0.40 \pm 0.54 \text{ mg L}^{-1}$, con un porcentaje de eliminación promedio de 58.88 ± 11.72 , lo que se encuentra por debajo del 96% reportado en sistemas de sulfato reducción. Lo anterior podría explicarse debido a las diferentes variaciones de pH donde los mejores valores de eliminación, aquellos superiores al 60%, se encontraron en el lote 5, 10 y 18 con pH entre 6.41 y 6.72, lo que es congruente con lo reportado en la literatura para que se lleve a cabo el proceso de reducción por la vía de sulfato reducción (Chen et al., 2019).

A lo largo del experimento, la concentración en el efluente se registró en un promedio de $148.65 \pm 204.03 \text{ mg L}^{-1}$, mientras que la concentración de S^{-2} disuelto en la fase líquida, el cual es el agente reductor que posibilita la bio-reducción del antimoniato en los sistemas de sulfato reducción, se registró en un promedio de $1.83 \pm 0.81 \text{ mg L}^{-1}$. La conversión a gas a lo largo del experimento se calculó por medio de la diferencia entre las concentraciones de sulfato en el medio mineral y la sumatoria de concentraciones de los sulfato y S^{-2} en el efluente, dicha conversión se encontró en un promedio de $94.73 \pm 6.62 \%$ de los 3.7 g del sulfato disponible, proveniente de las sales disueltas del medio mineral, lo cual es consistente con lo reportado en la literatura en sistemas UASB para la eliminación de sulfato y metales (Jong, & Parry, 2003).

5.1.2 Crecimiento de la biomasa

El comportamiento de los AGV durante el experimento, para el reactor desasimilatorio (R2) se muestra en la Figura 5.3.

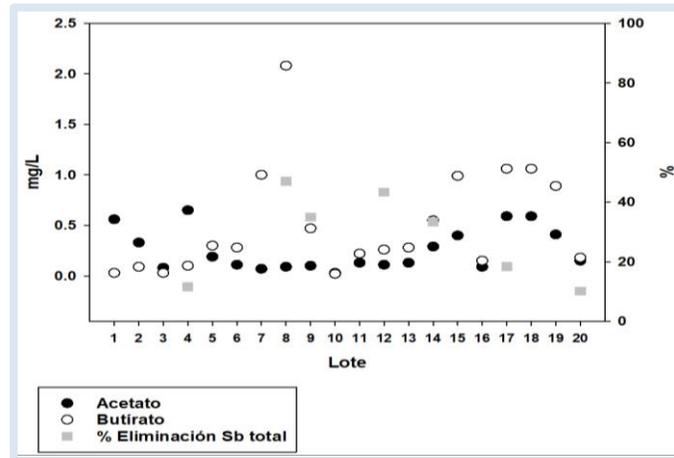


Figura 5. 3 AGV-Reactor desasimilatorio (R2)

El comportamiento de los AGV durante el experimento, para el reactor de sulfato de reducción (R1), se muestra en la Figura 5.4.

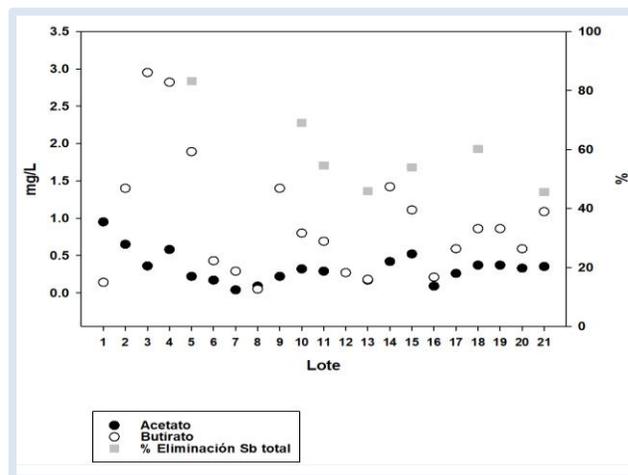


Figura 5. 4 AGV-Reactor sulfato reducción (R1)

El consumo de sustrato es un indicador de actividad microbiológica y que la reducción biológica de antimonio puede llevarse a cabo (Zhu et al., 2018). En ambas figuras se observa la formación de ácido butírico

y acético. La formación de butirato y acetato formado de la degradación del etanol es la reacción más exergónica, aunque la formación de acetato homoacetogénico y propionato requieren casi una cantidad idéntica de energía. La oxidación de etanol a acetato con una inherente formación de metano por vía de transferencia de hidrógeno interespecie, permite una considerable conservación de la energía; la energía libre en esta reacción es incluso más alta si el sulfato sirve como aceptor de electrones en lugar de bicarbonato (Gallegos-García et al., 2010; Phelps & Zeikus, 1984; T. J. Phelps & J. G. Zeikus, observaciones no publicadas; Schink, et al., 1985; Oude-Elferink et al., 1994). La actividad de los acetogénicos que utilizan butirato es más susceptible a la inhibición que los metanogénicos que utilizan el acetato (Kong et al., 1994; Lin, 1992).

En la Figura 5.3 correspondiente al reactor desasimilatorio, se observa una mayor concentración de butirato que de acetato producido en la mayoría de los lotes, con excepción de los lotes 1,2,3,4,10 y 14, donde el pH se encontró entre 5.13 y 6.83, lo que podría estar relacionado con el pH, ya que en sistemas anaerobios con uso de etanol como substrato el límite de inhibición de la actividad microbiana por potencial de hidrógeno es de pH 4, por lo que una baja en el pH tendría el efecto de inhibir la producción de butirato. Adicionalmente se realizaron estudios de la composición de biogás, resultando en un 97 ± 3.61 % de CO_2 , 2.04 ± 3.14 % de CH_4 y 0.96 ± 2.01 % de H_2 . La pequeña cantidad de hidrógeno producido podría provenir de la fermentación del butirato, ya que se sabe que estas bacterias son tolerantes a pH ácidos y pueden producir hidrógeno, además este proceso requiere una supresión de los microorganismos metanogénicos, lo cual dadas las bajas concentraciones del metano hace de ésta la ruta más probable. Sin embargo, es importante destacar que se considera un proceso deficiente además de que la adición de metales inhibe a los microorganismos consumidores de H_2 de los que dependen los microorganismos que oxidan el butirato (Hwang et al., 2004; Kong et al., 1994; Lin 1992). La inhibición provocada por la presencia del antimoniato se manifiesta en una interrupción de la ruta metanogénica, donde no se produce hidrógeno que es ocupado por organismos hidrogenotróficos metanogénicos para reducir dióxido de carbono a CO_2 , lo que lleva a la acumulación de dióxido de carbono en la composición del gas de salida.

La adición de sulfato al reactor R1, permitió el desarrollo de microorganismos sulfato reductores, cuya presencia se pudo constatar en el tercer cambio de lote y hasta el final del experimento, por la aparición del olor a materia en descomposición característico resultante de la reducción del sulfato, donde el sulfuro puede ser liberado a la atmósfera en la forma de diferentes compuestos como metil y dimetilsulfuro, sulfuro orgánico y sulfuro de hidrógeno; además de una coloración oscura en los lodos de purga característico en este tipo de microorganismos. Lo anterior indica el crecimiento y proliferación de microorganismo sulfato reductores en el efluente (Hartig, E., 2005).

En la Figura 5.4 correspondiente al reactor de sulfato reducción también se observó una mayor producción de butirato que acetato, con excepción de los lotes 1 y 8 donde el pH se encontró en 6.72 y 7.0 respectivamente, lo que podría deberse a la inhibición provocada por el metal en sistemas anaerobios.

La determinación del crecimiento total de biomasa (X_T) en el empaque de los reactores, así como la concentración de Sb total absorbida por la biomasa se muestra en la Tabla 5.1.

Tabla 5. 1. Biomasa total en el empaque (XT)

Muestra	Lote	Xt (g SSV)	Xs (g SSV)	X _A =X _E (g SSV)	V _m (L)	#	LEM (g SSV L ⁻¹)	V _r (L)	LHE (g SSV L ⁻¹)	\bar{X} Sbt (mg L ⁻¹)
LED	20	33.95	9.61	0.001	100	96.10	1.2		0.08	0.001
LES	21	38.68	7.54	0.001	100	75.40	1.2		1.29	0.030
LPD	20		24.34					1.2	20.28	0.510
LPS	21		31.14					1.2	25.95	2.120

*LED. Lodo de empaque desasimilatorio; LES. Lodo de empaque sulfato reducción; LPD. Lodo de purga desasimilatorio; LPS. Lodo de purga sulfato reducción; V_r. Volumen útil de operación; X_t. Biomasa total; X_s. Biomasa suspendida; X_A. Biomasa adherida a los soportes; X_E. Biomasa en el fluyente; V_m. Volumen de muestra; #. Número de empaques, V_r. Volumen de operación útil; LEM. Lodo húmedo del empaque; LHE. Lodo húmedo efluente; \bar{X} Sbt. Promedio Sb total en muestra de lodo.

En los reactores anaerobios con lecho empacado se han reportado concentraciones operacionales de biomasa que van de 4.9 a 35 g SSV L⁻¹ (Malina, 1992). En el caso del reactor desasimilatorio, la biomasa se encontró dentro del intervalo reportado en la literatura con 30.74 g SSV L⁻¹, mientras que en el caso del reactor de sulfato reducción, se encontró ligeramente por encima del intervalo, con 36.17 g SSV L⁻¹, lo que podría atribuirse al exceso de producción de biomasa inducido durante la etapa de arranque con una concentración de 0.1 mg L⁻¹ de FeSO₄ g L⁻¹ (Chen et al., 2019; Zhang et al., 2008) adicional de sulfato en el medio mineral, con el propósito de incrementar la adhesión de los microorganismos a los empaques. Para sistemas de sulfato reducción se han reportado periodos de aclimatación en consorcios microbianos de hasta 9 días (Xi et al., 2020). En consideración de lo anterior, ambos reactores concluyeron su etapa de arranque y se alcanzó la maduración de la biopelícula.

La determinación del crecimiento total de biomasa (X_T) y Sb total en la purga del lodo de los reactores, se muestra en la Tabla 5.2.

Tabla 5. 2. Biomasa total en la purga (Xs)

Reactor	Lote	Xs (g SSV)	Vr (L)	LHE (g SSV L ⁻¹)	\bar{X}_{Sbt} (mg L ⁻¹)
D	5	36.43	1.2	30.36	0.58
	8	42.74		35.62	2.35
	9	26.30		21.92	1.75
	20	24.34		20.28	0.51
S	6	7.87	1.2	6.56	0.37
	10	68.88		57.40	1.43
	11	14.33		11.94	2.25
	13	24.20		20.17	2.68
	15	38.57		32.14	1.68
	18	64.37		53.64	1.68
	21	31.20		26.00	2.60

*D. Desasimilatorio; S. Sulfato reducción; Vr. Volumen útil de operación; Xt. Biomasa total; Xs. Biomasa suspendida; X_A. Biomasa adherida a los soportes; X_E. Biomasa en el fluente; V_m. Volumen de muestra; Vr. Volumen de operación útil; LHE. Lodo húmedo efluente; \bar{X}_{Sbt} . Promedio Sb total en muestra de lodo.

En el reactor de sulfato reducción, la concentración de SSV en la purga, se encontró en un promedio de 35.07 ± 22.12 g SSV, mientras que en el desasimilatorio se reportó en 32.45 ± 8.67 g SSV. La concentración de Sb total se determinó en 2.12 ± 0.87 mg L⁻¹, y de 1.42 ± 0.75 mg L⁻¹ para el reactor de sulfato reducción y desasimilatorio respectivamente. Lo anterior incluye tanto el antimonio posiblemente absorbido por la biomasa en la purga como los precipitados formados durante la fase de reacción/sedimentación de cada lote, dado que la configuración del reactor no permite la separación de estos componentes.

5.1.3 Especiación de Sb en el efluente

5.1.3.1 Simulación de especiación reactor sulfato reducción

Los resultados de las simulaciones para el reactor de sulfato reducción, realizada con visual MINTEQ se muestran en la Figura 5.5.

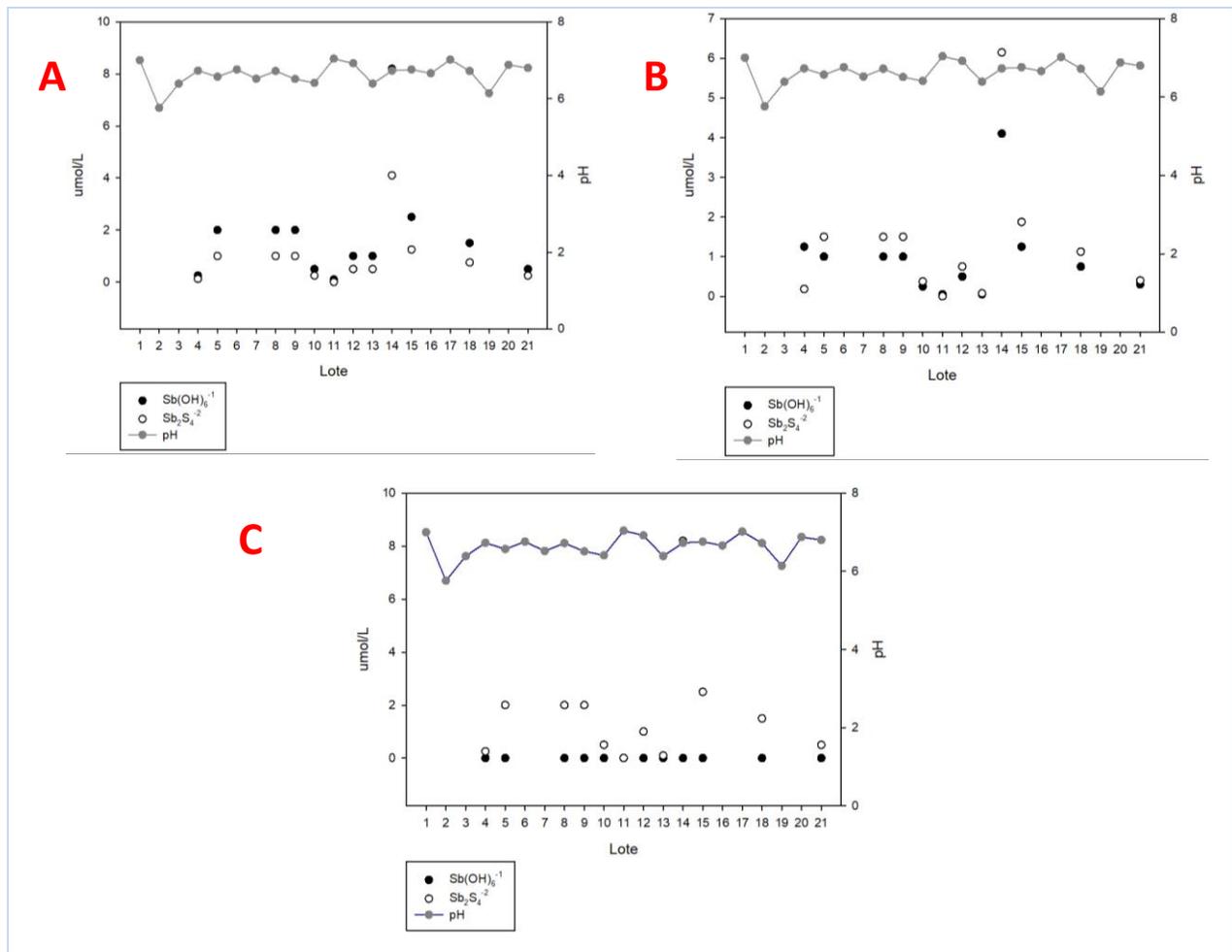


Figura 5. 5. Simulación de especiación tomando en cuenta distintos porcentajes de reducción del Sb total determinado en el efluente en el reactor de sulfato reducción: A. 50 %; B. 75 %; C. 100 %

La simulación de la Figura 5.5, se elaboró considerando el Sb total determinado en el efluente experimentalmente y diferentes porcentajes de reducción supuestos de 50, 75 y 100 %. Para dicha simulación, se fijó el potencial óxido reducción en -300 mV, con la finalidad de generar condiciones reductoras estables necesarias para el crecimiento estable de organismos sulfato reductores encontrado típicamente en sistemas de sulfato reducción (Chen et al., 2019). Los resultados se contrastaron contra el pH. De acuerdo con la simulación, no fue posible determinar especies precipitadas; sin embargo, ésta indicó que la especie reducida predominante formada cuando el porcentaje de reducción de Sb(V) a Sb(III) remanente era de 75 y 100 % fue $\text{Sb}_2\text{S}_4^{-2}$, lo que indicaría que el camino para la reducción del antimonio y formación de precipitado por sulfato reducción en condiciones cercanas a la neutralidad, se encuentra más acorde a el esquema sugerido por Wang et al., (2013), que al presentado por otros autores (Chang & Kim, 2007; Kieu et al., 2011; Johnson & Hallberg, 2005 & Neculita et al., 2007).

5.3.2.2 Simulación de especiación en reactor desasimilatorio

La senarmonita (Sb_2O_3) es junto con la valentinita, uno de los resultados de la oxidación del antimonito, la cual tiene con una riqueza teórica de antimonio de 83.5% y en la naturaleza suele presentarse en cristales octaédricos si se trata de filones o en cristales opacos si se trata de bancos arcillosos. La diferencia entre la valentinita y la senarmonita radica en que la primera tiene una configuración cristalina ortorrómbica y la segunda tiene una configuración polimorfa como lo son estructuras octaédricas, modificadas por cubos y dodecaedros (Picado & Alvarez, 2011; Rossello, 1987; Vidal & Martí, 2007; Vitaliano & Masón, 1952). A temperatura ambiente, como resultado de la reducción del antimonio, el precipitado formado es una combinación de ambas formas (Abin & Hollibaugh, 2013; Zotov et al., 2003).

En la Tabla 5.3 se muestran los resultados de la simulación realizada con visual MINTEQ utilizando la concentración de Sb total determinada experimentalmente en el efluente, incluyendo únicamente aquellos donde las condiciones eran favorables para la saturación y posible formación de los precipitados, valentinita y senarmonita.

**Tabla 5. 3. Simulación de especiación con Sb total determinado efluente de reactor desasimilatorio:
Precipitados**

% Sb V reducido del Sb total	Lote	Precipitado	Estado
50	12	Senarmontita	Saturado
75	12	Valentinita	Saturado
	9, 12, 17 y 20	Senarmontita	Saturado
100	9,12,17 y 20	Senarmontita	Saturado
	12	Valentinita	Saturado

En la Figura 5.6 se muestran el resultado de la simulación de la especiación contra el pH y el porcentaje de eliminación de Sb total. De acuerdo con lo presentado en dicha figura y la información de la Tabla 5.3, el lote 12, es el único cuyas condiciones pudieron haber generado la formación de valentinita en todos los porcentajes de reducción, el cual registró un pH en el efluente de 6.89, lo que se encuentra cercano a la neutralidad conforme a lo reportado en la literatura (Abin & Hollibaugh, 2013; Zhu et al., 2018). La senarmontita podría haberse generado cuando el porcentaje de reducción antimoniato de 75 y 100 %, en los lotes 9, 12, 17 y 20, para los cuales se registró un pH entre 6.13 y 6.89.

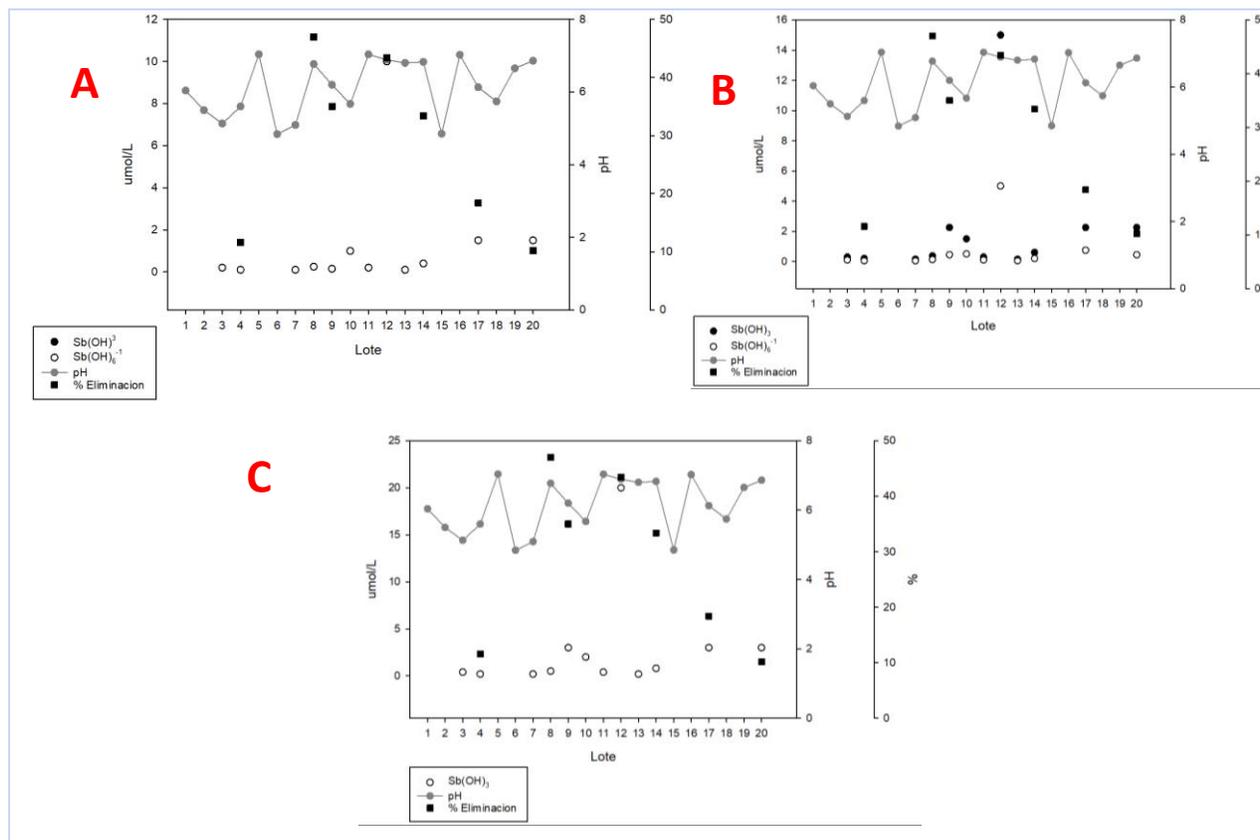


Figura 5. 6. Simulación de especiación tomando en cuenta distintos porcentajes de reducción de Sb total determinado en el influente en el reactor desasimilatorio: A. 50 %; B. 75 %; C. 100 %

La interacción entre el metal y los microorganismos se efectuó en la etapa de reacción/sedimentación, por lo que el proceso de reducción se llevó a cabo en presencia de una mayor concentración de antimonio. En consideración de lo anterior se realizaron simulaciones utilizando la información experimental del efluente, pero con la concentración de Sb total inicial de 5 mg L^{-1} . Los resultados de dichas simulaciones presentados en la Tabla 5.4. Conforme a los resultados, existieron las condiciones para la formación de precipitados en porcentajes de reducción de antimoniato iguales o superiores al 50%, como fue el caso para las simulaciones con la concentración de Sb total del efluente. La concentración de valentinita que puede generarse se encontró en $0.005 \text{ mmoles L}^{-1}$ con una reducción del 50% del Sb(V) total y de $0.01 \text{ mmoles L}^{-1}$ para una reducción de 75% y 100% del Sb(V) total, siendo la concentración generada al 50% de reducción la que se asemeja con la concentración de Sb total en la purga determinada experimentalmente, la cual se encontró en $0.004 \pm 0.003 \text{ mmoles L}^{-1}$.

Tabla 5. 4 Simulación de especiación con Sb total inicial: Precipitados

% Sb V reducido del Sb total	Lote	Precipitado	Estado	Concentración estimada mmoles L⁻¹
50	1 a 20	Senarmontita	Sobresaturado	
	1 a 20	Valentinita	Equilibrio	0.005
75	1 a 20	Senarmontita	Sobresaturado	
	1,2,15,16,18 y 19	Valentinita	Sobresaturado	
	3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,17 y 20	Valentinita	Equilibrio	0.01
100	1 a 20	Senarmontita	Sobresaturado	
	1,2,5,6,15,16,18 y19	Valentinita	Sobresaturado	
	3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,17 y 20	Valentinita	Equilibrio	0.01

Los resultados de la simulación utilizando la concentración de Sb inicial en el influente comparados contra el pH y el % de eliminación de Sb total se encuentran en la Figura 5.7. En todos los lotes, existieron las condiciones para la formación de valentinita cuando el porcentaje de reducción fue del 50%, mientras que para los porcentajes de 75 y 100 de antimonio reducido las condiciones fueron favorables en 14 de los 20 lotes, con un amplio margen de pH que va desde los 4.84 a 7.03.

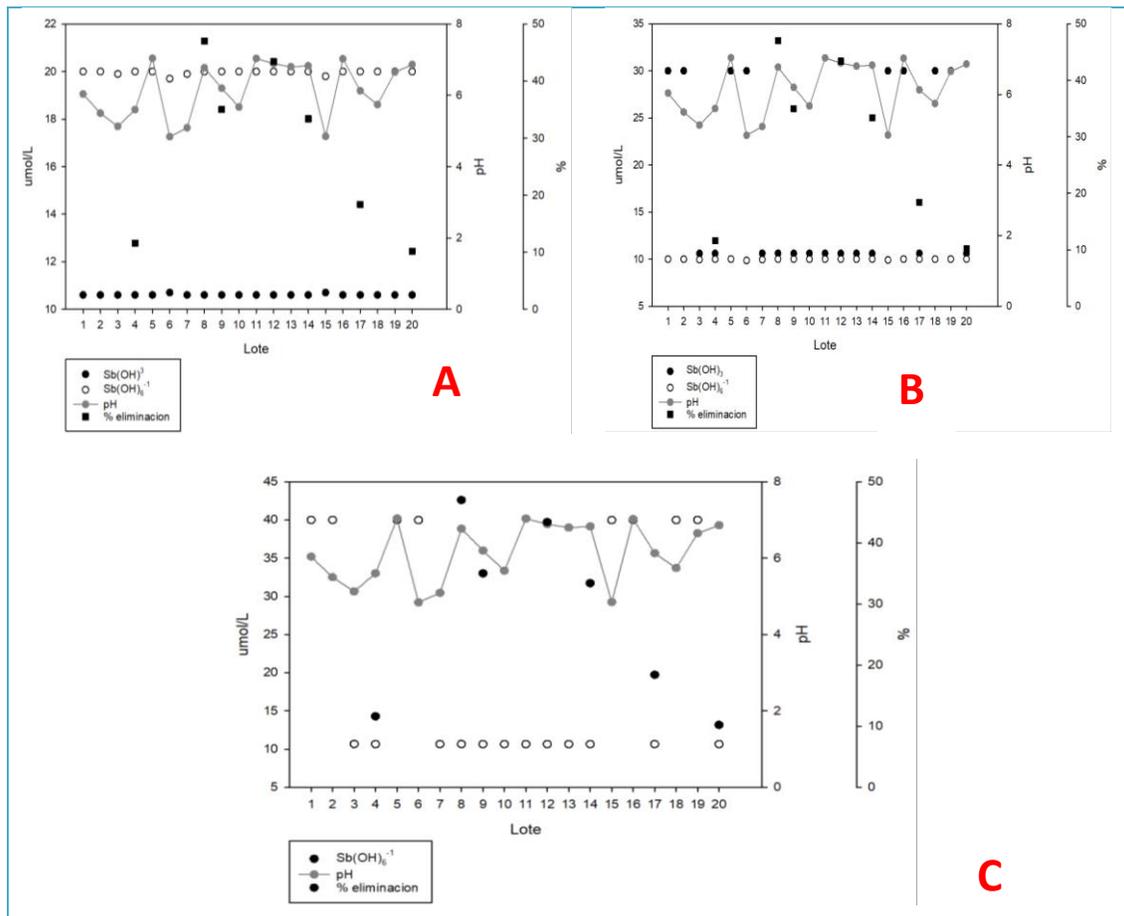


Figura 5. 7. Simulación de especiación tomando en cuenta distintos porcentajes de transformación de Sb total inicial en el reactor desasimilatorio: A. 50 %; B. 25 %; C. 0 %

5.2 Etapa 2. Análisis de precipitados

El difractograma del resultado experimental de la muestra del reactor de sulfato reducción (R1), así como las fases cristalinas identificadas, estruvita ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4(\text{H}_2\text{O})_6$), quermesita (Sb_2OS_2) y valentinita (Sb_2O_3), en baja proporción, se muestran en la Figura 5.8.

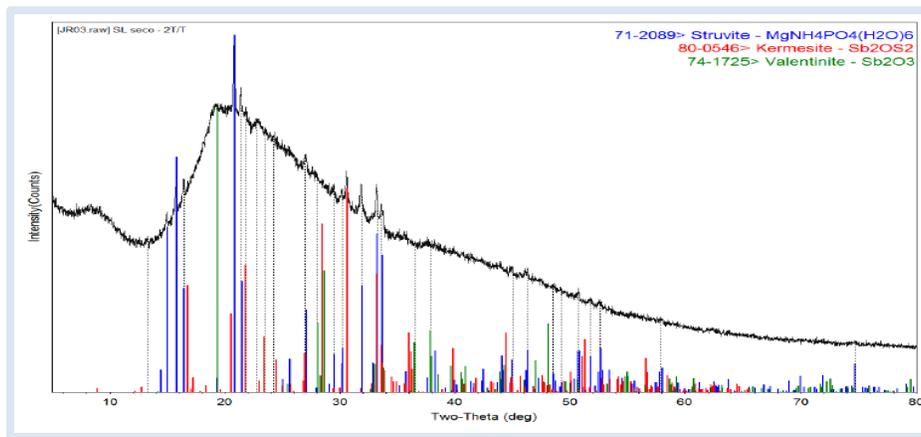


Figura 5. 8. Difractograma reactor sulfato reducción (R1)

El difractograma del resultado experimental de la muestra del reactor de reducción desasimilatorio se muestra en la Figura 5.9. Las líneas punteadas muestran las posiciones de los picos de difracción de la muestra y las líneas rojas los de la fase cristalina valentinita o trióxido de antimonio (Sb_2O_3).

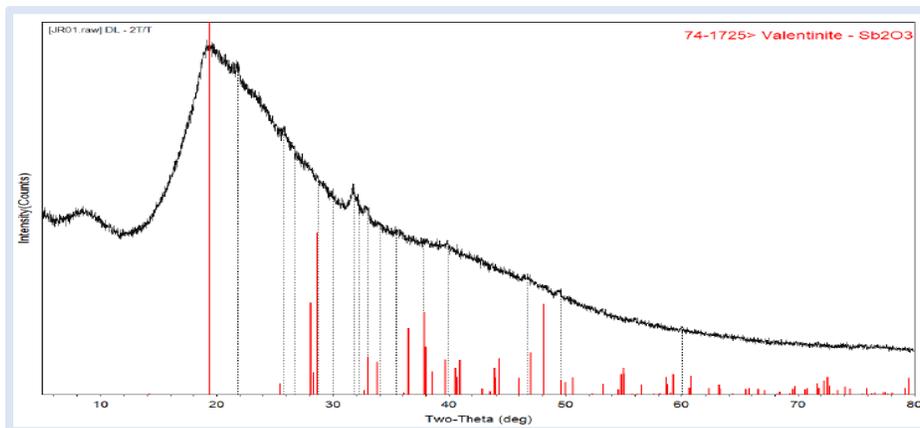


Figura 5. 9. Difractograma reactor desasimilatorio (R2)

En el difractograma de la muestra R2, los picos son más anchos y de baja intensidad comparados con los de la muestra R1 en la que se revelan picos más delgados e intensos. Esto quiere decir que las fases cristalinas de la muestra R2, no poseen un orden de largo alcance, o bien, tienen un tamaño de cristal muy pequeño.

La presencia de los precipitados de valentinita en ambos reactores y quermesita en el reactor de sulfato reducción indican que se llevó a cabo la reducción del antimonio presente en el influente por mediación biológica, ya que no podrían ocurrir estas transformaciones de manera meramente fisicoquímica.

La quermesita (Sb_2OS_2) es un precipitado mineral rojizo a menudo encontrado en pequeñas cantidades en yacimientos de antimonio. Tanto la valentinita (Sb_2O_3) como la quermesita, en la naturaleza, son productos producidos por la degradación de la estibina, la cual es desestabilizada en favor de la quermesita, el producto menos oxidado. Este proceso tiene a ocurrir a temperaturas inferiores a $150\text{ }^\circ\text{C}$, como resultado inherente de la oxidación en la zona supergénica y por la interacción con los elementos atmosféricos, aunque también ocurre como un producto mineral primario en la degradación de la pirita (Birkholzer, J., 2008; Williams-Jones & Normand, 1997).

En agua tanto la quermesita y la estibina, son relativamente estables en condiciones reductoras, anaerobias, con pH neutros a ácidos y/o actividad de H_2S , donde es posible que la quermesita controle la actividad del Sb. La estibina puede degradarse y formar quermesita como se muestra en la siguiente reacción (Birkholzer, J., 2008; Deimar, 2008; Gun, G., 2014; Williams-Jones & Normand, 1997).



La oxidación de la estibina bio-precipitada en sistemas de sulfato reducción, puede oxidarse y disolverse al exponerse al medio ambiente durante su transporte o almacenamiento. En condiciones cada vez más oxidantes la quermesita forma senarmontita, $\text{Sb}_2\text{O}_3(\text{s})$, o valentinita, para a continuación formar cervantita $\text{Sb}_2\text{O}_4(\text{s})$ como la forma más oxidada (Klimko et al., 2011; Maruška et al., 2000; Wang et al., 2013; Xi et al., 2020). En la Figura 5.10 se muestra un diagrama de las fases minerales simples del Sb en soluciones acuosas, donde la quermesita se encuentra estable en un pH de 4 a 6. Aunque la valentinita puede llevar a la formación de estibina, en un margen de pH de 2-11, con la siguiente secuencia: valentinita>senarmontita>estibiconita>estibina; no se ha reportado a la quermesita como un producto intermedio. Además, el intervalo de disolución de valentinita es mayor en al menos dos órdenes que el intervalo de disolución de la estibina. Adicionalmente han sido identificados microorganismos (*Paraccocus*

versutus XT0.6) capaces de realizar la oxidación de la estibina en condiciones anaerobias, en pH de 7.2, dando como resultado la formación de minerales secundarios; sin embargo, la quermesita no ha sido reportada como uno de estos. Lo anterior, sumado a que la tendencia del antimonio a oxidarse lentamente en soluciones ácidas, hace posible que la estibina en la muestra se haya degradado hasta formar la quermesita. Estudios recientes ligan la adición de ion ferroso al medio como un método para la preservación del precipitado (Antanasopoulos, 1993; Biver, 2011; Birkholzer, J., 2008; Diemar, 2008; Gun, G., 2014; Loni et al., 2020; Williams-Jones & Normand, 1997; Zhu et al., 2018).

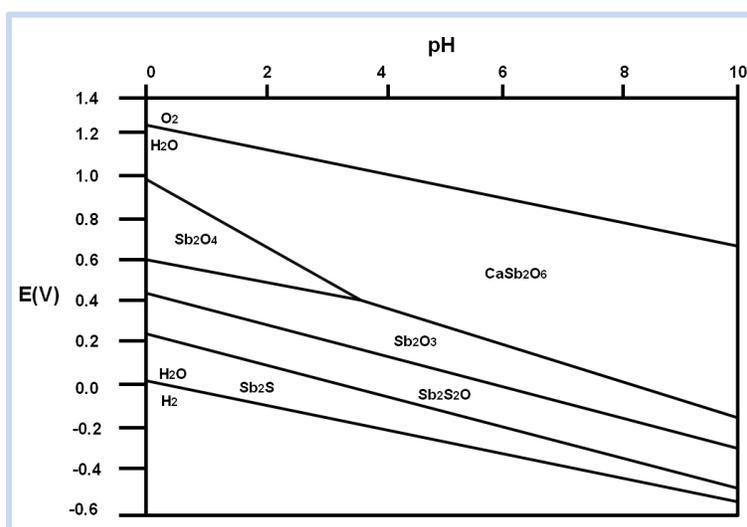


Figura 5. 10. Diagrama de pourbaix para fases minerales simples de antimonio (Diemar, 2008)

En el reactor R1 de sulfato reducción es posible obtener ambos precipitados, debido a que los consorcios microbianos que reducen el antimonio por vía desasimilatoria y sulfato reducción pueden coexistir (Zhu et al., 2018). La ausencia de azufre elemental, en los precipitados del reactor de sulfato reducción, podría explicarse dado que la reducción de antimonato mediada biológicamente es mucho más rápida que la reducción abiótica de antimonato por el sulfuro disuelto, lo que lleva a una cantidad de sulfuro formado durante la reducción abiótica de Sb(V) al mínimo y simultáneamente el sulfuro producido podría estar siendo usado como un donador de electrones por otros microorganismos (Zhu et al., 2018).

En los precipitados de los reactores biológicos se ha reportado la aparición en la composición de precipitados de minerales secundarios como cuarzo y dolomita. La estruvita $\text{MgNH}_4\text{PO}_4(\text{H}_2\text{O})_6$, fue el único mineral secundario reportado en el reactor de sulfato reducción, dicho mineral ocurre de forma natural por medios físicos y químicos cuando las cantidades de magnesio, amonio y fosfato están presentes, de igual

manera también se atribuye al resultado de la degradación que ejercen las bacterias sobre la materia orgánica (Momberg, 1992; Whitaker & Jeffery, 1970; Chen et al., 2019).

5.3 Etapa 3. Caracterización de las comunidades microbianas

En la Figura 5.11 se observa el cálculo de la abundancia relativa de los consorcios microbianos de las muestras tomadas tanto en los empaques como en la purga.

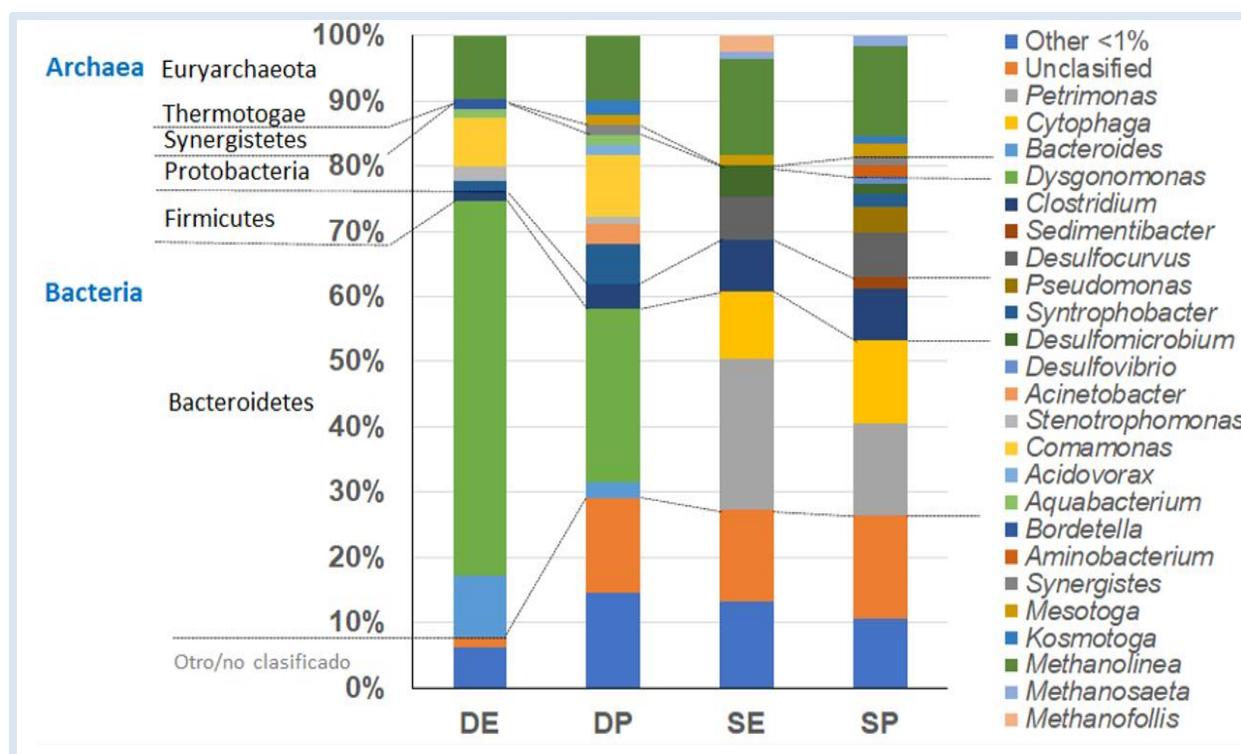


Figura 5. 11. Características de la comunidad microbiana dentro de los reactores: DE. Desasimilatorio empaque; DP. Desasimilatorio purga; SE. Sulfato reducción empaque; SP. Sulfato reducción purga.

La formación de estruvita se atribuye a diversos microorganismos entre los que destacan *Brucella*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas calciprecipitans*, *Proteus mirabilis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Yersinia*, *Corynebacterium*, *Azotobacter*, *Bacillus pumilus* y *Myxococcus xanthus*. En sistemas de sulfato reducción se ha atribuido a *Acinetobacter calcoaceticus SRB4* la formación del precipitado (Da Silva et al., 2000; Han et al., 2015). En el reactor de sulfato reducción se detectó la

presencia en la biomasa del reactor de los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, por lo que existe la posibilidad de que la formación del precipitado de valentinita se realizara por mediación biológica.

5.3.1 Abundancia relativa en reacto de sulfato reducción

En el empaque del reactor de sulfato reducción se reportó con mayor abundancia los géneros *Petrimonas* (23.07%), *Methanolinea* (14.47%), *Cytophaga* (10.40%), *Clostridium* (7.83%), *Desulfocurvus* (6.5%), *Desulfomicrobium* (4.80%), *Methanofolis* (2.47%), *Mesotaga* (1.62%), *Methanosaeta* (1.57%), y *Desulfovibrio* (0.8%). Adicionalmente, pero con menor abundancia, se reportó *Geobacter* (0.06%). Mientras que en la purga los géneros de mayor abundancia reportados fueron *Petrimonas* (13.86%), *Methanolinea* (13.75%), *Cytophaga* (12.70%), *Clostridium* (7.82%), *Desulfocurvus* (6.9%), *Pseudomonas* (3.86%), *Mesotaga* (1.98%), *Syntrophobacter* (1.85%), *Aminobacterium* (1.78%), *Sedimentibacter* (1.77%), *Desulfomicrobium* (1.60%), *Methanosaeta* (1.56%), *Synergistes* (1.30%), *Kosmotoga* (1.06%) y *Desulfovibrio* (1.0%). Adicionalmente, pero con menor abundancia, se reportó *Geobacter* (0.07%).

La relación DQO/SO₄ en el reactor de sulfato reducción fue de 3.86, lo que proporcionó las condiciones para que los organismos sulfato reductores superaran en proporción a las bacterias fermentativas por la utilización del etanol, lo que tiende a suceder cuando la relación DQO/SO₄ es superior 0.5 (Sun et al., 2016).

La aparición en el empaque del reactor de los géneros de bacterias SRB como *Petrimonas*, *Desulfocurvus*, *Desulfomicrobium* y *Desulfovibrio*, entre otros, así como la aparición de *Geobacter* y *Pseudomonas* concuerda con lo reportado en la literatura para la eliminación de Sb total por vía sulfato reductora en sistemas de flujo ascendente con lecho empacado (Chen et al., 2019; Zhu et al., 2018). Particularmente, la aparición en baja proporción de los géneros *Geobacter* y *Pseudomonas*, podría sugerir que se llevó a cabo la reducción desasimilatoria de manera simultánea en el sistema de sulfato reducción (Zhu et al., 2018). Adicionalmente, la presencia de géneros como *Dethiobacter*, y *Desulfovibrio* que pueden utilizar sulfuros como aceptor de electrones (Sorokin et al., 2008), explica la ausencia de azufre elemental formado durante la reducción abiótica del antimonato.

5.3.2 Abundancia relativa reactor de reducción Desasimilatoria

En el empaque del reactor desasimilatorio se encontraron los siguientes géneros: *Dysgonomonas* (54.76%), *Methanolinea* (9.3%), *Bacteroides* (8.90%), *Commamonas* (7.17%), *Clostridium* (1.5%),

Bordetella 1.40%) *Acquabacterium* (1.26%), *Syntrophobacter* (1.48%) y *Strenotophomonas* (2.03%), así mismo, también fueron detectadas, en menor abundancia los géneros *Acinetobacter* (0.64%), *Pseudomonas* (0.12%), *Rhizobium* (0.076%) y *Shewanella* (0.083%). Mientras que en la purga del reactor se encontraron *Dysgonomonas* (26.53%), *Methanolinea* (9.89%), *Commamonas* (9.25%), *Bacteroides* (2.21%), *Clostridium* (3.58%), *Acidovorax* (1.65%), *Acquabacterium* (1.58%), *Acinetobacter* (3.16%), *Strenotophomonas* (1.81) %, *Kosmotoga* (2.06%) y *Mesotoga* (1.63%). Del mismo modo, también fueron reportadas en la purga, pero en menor abundancia, los géneros *Pseudomonas* (0.58%), *Geobacter* (0.013%) y *Rhizobium* (0.028).

Conforme a lo reportado en la literatura, la aparición de los géneros *Pseudomonas*, *Geobacter* y *Acinetobacter*, concuerdan con lo reportado para sistemas desasimilatorios en la literatura (Zhu et al., 2018), pero en bajas proporciones. Se encontró mayor abundancia relativa del género *Dysgonomonas*, bacterias gramnegativas, anaerobias facultativas, de forma cocobacilo, que han sido reportadas en consorcios en sistemas de tratamiento biológico para la eliminación de metales y que además se han clasificado algunos microorganismos pertenecientes a este género como organismos generadores de electricidad. Este tipo de microorganismos pueden ser capaces de transferir electrones por medio de un pili conductivo, sintetizar enzimas redox unidas a la membrana y estar involucrados en la oxidación o reducción de metabolitos reducidos o mediadores redox solubles. Lo anterior sugiere que estos microorganismos pudieran presentar los mecanismos para utilizar el antimonio como aceptor final de electrones en la cadena de la respiración (Awasthi et al., 2020; Boothman et al., 2006; Hofstad et al., 2000; Li et al., 2011).

5.3.3 Análisis de diversidad

En la Tabla 5.5 se muestran los resultados de los índices de diversidad alfa y beta aplicados a los resultados de la secuenciación de ADN de la biomasa adherida a los empaques y en la purga al final del experimento.

Tabla 5. 5. Análisis de diversidad

Muestra	Número de individuos	Número de géneros	Índices de diversidad Alfa		Índices de diversidad Beta	
			Simpson	Shannon	Sorenson	índice Morisita-Horn
DE	43486	117	0.32	1.96	52.51%	
DP	52711	140	0.11	3.02		
SE	61465	113	0.11	2.78	37.45%	
SP	46990	120	0.08	3.00		
DE/SE						8.33 %
DS/SP						31.11%

*DE, Desasimilatorio empaque; DP, Desasimilatorio purga, SE, Sulfato reducción empaque; SP, Sulfato reducción purga

En el índice de Shannon, valores inferiores a 2 se consideran bajos en diversidad y superiores a 3 son típicamente interpretados como “diversos” (Pla, 2006). De acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 5.5, el índice de Shannon se encontró en el reactor desasimilatorio en 1.96 y 3.02 para el empaque y la purga respectivamente, lo que indica que la biomasa suspendida cuenta con una diversidad mayor que la presente en el empaque, aunque se puede considerar que ambas presentan una gran diversidad. En cuanto al reactor de sulfato reducción, el índice en el empaque se encontró en 2.78 y en la purga en se entró en 3.00, por lo que, de igual manera que en el desasimilatorio, la biomasa suspendida presentó una diversidad superior y ambas comunidades se consideran diversas. Los resultados del índice Shannon concuerdan con los resultados del índice de Simpson, los cuales se encontraron en valores inferiores a 0.5 en todas las muestras por lo que se considera baja la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie (Magurran, 1988; Peet, 1974).

Se utilizó el índice de Sorenson para comparar las comunidades microbianas adheridas al empaque y suspendida en cada reactor de forma independiente, el cual se encontró en 52.41% en el reactor desasimilatorio y en 37.45% para el reactor de sulfato reducción, lo que indica que, el primero presentó una mayor homogeneidad entre los géneros encontrados en el empaque y los expulsado en la purga del lote. (Moreno, 2000). Los índices de Morista-Horn para la comparación entre las comunidades de los empaques de los reactores se encontró en 8.33% mientras que en la biomasa suspendida se encontró en 31.11%, lo que indica que existe una mayor similitud entre la biomasa suspendida de ambos reactores, pero una muy baja similitud entre las comunidades de los empaques (Baev & Penev, 1995; Gutierrez et al., 2012; Magurran, 1988; Moreno, 2000).

6 CONCLUSIONES

Inicialmente se determinó la capacidad de eliminación de Sb total por vía desasimilatoria y sulfato reductora empleando reactores de flujo ascendente con lecho empacado para el tratamiento de aguas, encontrándose un porcentaje de eliminación promedio de 28.43 ± 15.02 % en el reactor desasimilatorio, mientras que para el reactor de sulfato reducción el porcentaje de eliminación se encontró en 58.88 ± 11.72 %. En ambos reactores se lograron porcentajes de eliminación de Sb total inferiores a los reportados para otra configuración de reactores (sistema en lote) (Chen et al., 2019; Zhu et al., 2018).

Por otro lado, fue posible comprobar las posibles vías metabólicas al destino final del Sb total analizando la composición de los precipitados producidos, por vía desasimilatoria y sulfato reductora, mediante la técnica de difracción de rayos X. Los resultados demostraron que en el reactor de sulfato reducción se obtuvo valentinita y quermesita, la cual fue el producto de la rápida oxidación que sufre la estibina al desestabilizarse por entrar en contacto con el medio ambiente como consecuencia de una pobre preservación de la muestra; en tanto que el Sb que no precipitó permaneció disuelto, la especie trivalente en la forma de complejos azufrados y la especie pentavalente hidrolizado como antimonioato. En el reactor desasimilatorio los resultados mostraron que se obtuvo valentinita, lo que comprueba que se llevó a cabo la reducción con mediación biológica por vía desasimilatoria. El Sb que no precipitó permaneció disuelto hidrolizado como antimonioato.

La caracterización filogenética de las comunidades microbianas en la biopelícula del empaque y en la purga de los reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado demostró que en el reactor desasimilatorio se encontraron los géneros asociados a la reducción desasimilatoria *Pseudomonas*, *Geobacter* y *Acinetobacter*, pero en baja proporción en comparación con el género *Dysgonomona*, el cual presentó la mayor abundancia relativa, tanto en el empaque como en la purga. Dicho género ha sido reportado en consorcios en reactores para el tratamiento biológico para la eliminación de metales y que además se han clasificado algunos microorganismos pertenecientes a este género como organismos generadores de electricidad, por lo que se puede inferir que este organismo podría estar relacionado con la reducción desasimilatoria. Sin embargo, se requieren más estudios para determinar el rol del microorganismo en la eliminación de Sb. En el reactor de sulfato reducción hubo una predominancia de géneros de bacterias sulfato reductoras, aunque también hubo hallazgo de los géneros asociados a la reducción desasimilatoria, pero en baja proporción *Pseudomonas*, *Geobacter* y *Acinetobacter*.

Finalmente, de la evaluación de la eliminación antimonio total en agua residual sintética por vías desasimilatoria y sulfato reductora en reactores anaerobios de flujo ascendente con lecho empacado a nivel laboratorio, se puede concluir que el reactor de sulfato reducción tiene una capacidad superior para la eliminación del antimonio del agua residual sintética en comparación con el reactor desasimilatorio, sin

embargo, presenta la desventaja de que requiere de la adición de sulfato, el cual aunque es posible encontrarlo en aguas residuales de la minería, podría estar escaso en otras fuentes que originen la contaminación de aguas con Sb, por lo que la ruta desasimilatoria, se presenta como una vía más económica para el tratamiento de agua contaminada con antimonio.

7 RECOMENDACIONES

En el reactor desasimilatorio los resultados tanto experimentales como de la simulación, demostraron que los mejores porcentajes de eliminación de Sb total se obtuvieron cuando el pH se encontró próximo a la neutralidad, por lo que sería necesario realizar experimentos fijando este factor para determinar si es posible incrementar el % de eliminación, eligiendo distintos valores de pH considerando que la valentinita puede formarse y mantenerse relativamente estable en un margen de pH de 4 a 7, pero que los microorganismos encuentran las mejores condiciones en pH cercano a la neutralidad. De igual manera, en consideración que el precipitado formado es en realidad la combinación de senarmontita y valentinita, son necesarios experimentos con diferentes valores de pH que podrían ayudar a esclarecer si el pH está relacionado con la composición del precipitado y si es posible obtener un precipitado mayoritariamente compuesto por una sola fase cristalina. También se recomienda reemplazar el medio mineral por un medio habitualmente usado para incentivar la reducción de metales por mediación biológica por vía desasimilatoria (Abin & Hollibaugh, 2013; Widdel et al., 1983; Zhu et al., 2018), lo que podría influir en mejorar el porcentaje de eliminación; o en su defecto, adicionar al medio una sal que proporcione mejores condiciones para los microorganismos capaces de funcionar como mediadores redox en la reducción del antimonio, como $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dado que se ha reportado que la molibdopterina oxidoreductasa se transcribe en respuesta a la reducción del antimonio, lo que indica que codifican la unidad catalítica de la enzima antimonio reductasa, donde dichas enzimas podrían tener una unión a cofactor de molibdeno 4Fe-4S (Shi et al., 2019).

Para el reactor de sulfato reducción, la adición de iones de hierro debería prevenir la oxidación de las fases cristalinas en la purga de los reactores (Loni et al., 2020). Al igual que en el reactor desasimilatorio, los mejores porcentajes de eliminación de Sb total se encontraron cerca de la neutralidad, sin embargo, se ha demostrado que un pH neutro se encuentra en detrimento de las características del precipitado el cual tiende a disociarse en compuestos azufrados, pero que a un pH de 6.3 se encuentran las mejores condiciones óptimas para la formación de la estibina, por lo que un pH entre estos dos valores podría ser óptimo para la transformación del Sb reducido a precipitado.

Adicionalmente se sugiere realizar un experimento para determinar el papel del género *Dysgonomonas*, en la reducción de antimonio, dada la evidencia que sugiere que este tipo de organismos pudieran tener la facultad de funcionar como mediador redox (Boothman et al., 2006; Li et al., 2011). Lo anterior se podría realizar utilizando un cultivo puro.

La recuperación de los precipitados de valentinita y estibina es también de interés dado que pueden tener valor comercial (Abin & Hollibaugh, 2013; Zhu et al., 2018). Los reactores de flujo invertido de lecho suspendido han demostrado mejores rendimientos para la recuperación de precipitados en sistemas de sulfato reducción con separación de la biomasa (Villa Gómez & Denys, 2013); en consideración de lo anterior, dicha

configuración de reactor podría ser utilizada para la recuperación de precipitados de antimonio en sistemas de sulfato reducción y desasimilatorio

8 REFERENCIAS

- Abin, C. A., & Hollibaugh, J. T. (2019). Transcriptional response of the obligate anaerobe *Desulfuribacillus stibiiarsenatis* MLFW-2T to growth on antimonate and other terminal electron acceptors. *Environmental microbiology*, 21(2), 618-630.
- Abin, C. A., & Hollibaugh, J. T. (2017). *Desulfuribacillus stibiiarsenatis* sp. nov., an obligately anaerobic, dissimilatory antimonate-and arsenate-reducing bacterium isolated from anoxic sediments, and emended description of the genus *Desulfuribacillus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(4), 1011-1017.
- Abin, C. A., & Hollibaugh, J. T. (2013). Dissimilatory antimonate reduction and production of antimony trioxide microcrystals by a novel microorganism. *Environmental science & technology*, 48(1), 681-688.
- Acosta, Y. L., & Abreu, M. C. O. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 39(1), 35-48.
- Aelion, C. M., Dobbins, D. C., & Pfaender, F. K. (1989). Adaptation of aquifer microbial communities to the biodegradation of xenobiotic compounds: Influence of substrate concentration and preexposure. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 8(1), 75-86.
- Ainsworth, N., Cooke, J. A., & Johnson, M. S. (1991). Biological significance of antimony in contaminated grassland. *Water, Air, and Soil Pollution*, 57(1), 193-199.
- An, Y. J., & Kim, M. (2009). Effect of antimony on the microbial growth and the activities of soil enzymes. *Chemosphere*, 74(5), 654-659.
- Anawar, H. M., Freitas, M. C., Canha, N., & Santa Regina, I., (2011). Arsenic, antimony, and other trace element contamination in a mine tailings affected area and uptake by tolerant plant species. *Environmental Geochemistry and Health*, 33(4), 353-362.
- Anderson, C., (2019). Antimony Production and Commodities. *SME Mineral Processing and Extractive Metallurgy Handbook* (431-442). Estados Unidos de America. Society for Mining, Metallurgy and Exploration.
- Anderson, C. G. (2012). The metallurgy of antimony. *Chemie der Erde-Geochemistry*, 72, 3-8.
- Angelidaki, I., & Sanders, W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*, 3(2), 117-129.
- Antanasopoulos, N. (1993). *Flame Methods Manual for Atomic Absorption*, GBC Scientific Equipment PTY LTD, Victoria.
- Anzola-Rojas, M. D. P., & Zaiat, M. (2016). A novel anaerobic down-flow structured-bed reactor for long-term stable H₂ energy production from wastewater. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91(5), 1551-1561.
- APHA, AWWA, WEF, 1999. *Standard methods for the examination of water and wastewater 20th Edition*
- Apte, S. C., & Howard, A. G. (1986). Determination of dissolved inorganic antimony (V) and antimony (III) species in natural waters by hydride generation atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1(3), 221-225.
- Ashley, P. M., Craw, D., Tighe, M. K., & Wilson, N. J. (2006). Magnitudes, spatial scales and processes of environmental antimony mobility from orogenic gold-antimony mineral deposits, Australasia. *Environmental Geology*, 51(4), 499-507.
- ASTDR (2017). *Toxicological profile for antimony compounds: draft of public comment*. USA. Department of Health and human services. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp23.pdf>.

- Atlas, R. M., & Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Pearson-Addison Wesley.
- Awasthi, M. K., Duan, Y., Awasthi, S. K., Liu, T., Chen, H., Pandey, A., ... & Taherzadeh, M. J. (2020). Emerging applications of biochar: Improving pig manure composting and attenuation of heavy metal mobility in mature compost. *Journal of hazardous materials*, 389, 122116.
- Baev, P. V. Y L. D. Penev. 1995. BIODIV: program for calculating biological diversity parameters, similarity, niche overlap, and cluster analysis. Versión 5.1. Pensoft, Sofia-Moscow, 57 pp.
- Barragán-Trinidad, M., Carrillo-Reyes, J., & Buitrón, G. (2017). Hydrolysis of microalgal biomass using ruminal microorganisms as a pretreatment to increase methane recovery. *Bioresource technology*, 244, 100-107.
- Barrera C. (2020). Efecto de la presencia de antimonio sobre microorganismos en ambientes aerobios y anaerobios. (Tesis Maestría) Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Biver, M. (2011). Some kinetic aspects of the mobilization of antimony from natural sources (Doctoral dissertation).
- Bijmans M.F.M. (2008). Sulfate reduction under acidic conditions for selective metal recovery. Ph.D. Thesis. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. 156p.
- Birkholzer, J. (2008). Research project on CO₂ geological storage and groundwater resources: water quality effects caused by CO₂ intrusion into shallow groundwater.
- Bish, D. L., & Reynolds, R. C. (2018). 4. SAMPLE PREPARATION FOR X-RAY DIFFRACTION. *Modern powder diffraction*, 73-100.
- Bleam, W. (2017). Reduction-Oxidation Chemistry. In: *Soil and Environmental Chemistry*, 2nd ed. [online] William Bleam, pp.445-489. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128041789000094> [Consultado 15 Nov. 2019].
- Boothman, C., Hockin, S., Holmes, D. E., Gadd, G. M., & Lloyd, J. R. (2006). Molecular analysis of a sulphate-reducing consortium used to treat metal-containing effluents. *Biometals*, 19(6), 601-609.
- Bradley, A.S., Leavitt, W.D., Johnston, D.T., 2011. Revisiting the dissimilatory sulfate reduction pathway. *Geobiology* 9 (5), 446–457.
- Bratkova, S., Koumanova, B., and Beschkov, V. (2013) Biological treatment of mining wastewaters by fixed-bed bioreactors at high organic loading. *Bioresource Technol.*, 137: 409–413.
- Cárdenas, C., Perruolo, T., Tarre, Y., Flores, K., Trujillo, A., Saules, L., Araujo, I. & Yabroudi, S. (2006). Remoción de nutrientes en un reactor discontinuo secuencial. *Interciencia*, 31(11), pp. 787-793.
- Cardeña, R., Moreno, G., Bakonyi, P., y Buitrón, G. (2017). Mejora de la producción de metano a partir de diversos cultivos de microalgas a través de un nuevo tratamiento previo de ozonización. *Revista de ingeniería química*, 307, 948-954.
- Cavello, D., Iavicoli, I., Setini, A. et al. (2002) *Environmental Health Perspectives*, 40, 184–189.
- Chang, I. S., & Kim, B. H. (2007). Effect of sulfate reduction activity on biological treatment of hexavalent chromium [Cr (VI)] contaminated electroplating wastewater under sulfate-rich condition. *Chemosphere*, 68(2), 218-226.
- Chapple G., (1990). The determination of arsenic, selenium and mercury levels in U.S.EPA quality control samples using the GBC HG3000 continuous-flow hydride generator, GBC AA applications N° 17, 1990, Australia.
- Chauhan, A., & Chauhan, P. (2014). Powder XRD technique and its applications in science and technology. *J Anal Bioanal Tech*, 5(5), 1-5.
- Chen, J., Zhang, G., Ma, C., & Li, D., (2019). Antimony removal from wastewater by sulfate-reducing bacteria in a bench-scale upflow anaerobic packed-bed reactor. *Acta Geochimica*, 1-13.

- Child, A. W., Moore, B. C., Vervoort, J. D., & Beutel, M. W. (2018). Bioavailability and uptake of smelter emissions in freshwater zooplankton in northeastern Washington, USA lakes using Pb isotope analysis and trace metal concentrations. *Environmental Pollution*, 238, 348-358.
- Choi E. & Rim J.M. (1991). Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. *Water. Sci. Technol.* (23), pp. 1259–64.
- Cobos S., (2019). Producción de biohidrógeno a partir de hidrolizados de bagazo de agave en un reactor UASB. (Tesis Licenciatura) Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Cooper, R. G., & Harrison, A. P. (2009). The exposure to and health effects of antimony. *Indian journal of occupational and environmental medicine*, 13(1), 3.
- Cypionka H. (2011) Sulfate-Reducing Bacteria. In: Reitner J., Thiel V. (eds) *Encyclopedia of Geobiology. Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer, Dordrecht
- Cypionka, H., (2006). *Grundlagen der Microbiologie*. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Cyr F, Mehra MC, Mallet VN. Leaching of a chemical contaminants from a municipal landfill site. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1987;38(5):775–782.
- Da Silva, S., Bernet, N., Delgenès, J. P., & Moletta, R. (2000). Effect of culture conditions on the formation of struvite by *Myxococcus xanthus*. *Chemosphere*, 40(12), 1289-1296.
- Dautan, R., Pérez, M. L., Contreras, A., Marzana, A., Rincones, B., El Trigal Centro, C. P. N., & Valencia, E. C. (1998). Diseño y construcción de un reactor discontinuo secuencial para remoción de DBO. In Ponencia presentada en el XXVI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Lima, Perú.
- Dean, A. (1999). *Lange's Handbook of Chemistry*, 15th ed., McGraw-Hill, Inc, New York (USA) 1999, 5.6 and 8.6–8.17.
- De Boeck, M., Kirsch-Volders, M., and Lison, D. (2003) *Mutation Research*, 533, 135–152.
- de la Calle Guntiñas, M. B., Madrid, Y., & Cámara, C. (1992). Speciation of antimony by atomic absorption spectrometry. Applicability to selective determination of Sb (III) and Sb (V) in liquid samples and of bioavailable antimony in sediments and soil samples. *Microchimica Acta*, 109(1-4), 149-155.
- Diemar, G. A. (2008). Supergene Dispersion of Antimony and a Geochemical Exploration Model for Antimony Ore Deposits. Master thesis.
- Dolor, M. K., Helz, G. R., & McDonough, W. F. (2012). Cause of the chalcophile trace element enrichments marking the Holocene to Anthropocene transition in northern Chesapeake Bay sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 82, 79-91.
- Drury, W. J. (1999). Treatment of acid mine drainage with anaerobic solid-substrate reactors. *Water Environment Research*, 71(6), 1244-1250.
- Dupont, D., Arnout, S., Jones, P. T., & Binnemans, K. (2016). Antimony recovery from end-of-life products and industrial process residues: a critical review. *Journal of Sustainable Metallurgy*, 2(1), 79-103.
- Dvorak, D. H., Hedin, R. S., Edenborn, H. M., & McIntire, P. E. (1992). Treatment of metal-contaminated water using bacterial sulfate reduction: Results from pilot-scale reactors. *Biotechnology and bioengineering*, 40(5), 609-616.
- Elliott, B.M., Mackay, J.M., Clay, P., and Ashby, J. (1998) *Mutation Research*, 415, 109–117.
- Emsley, J. (2011). *Nature's building blocks: an AZ guide to the elements*. Oxford University Press.
- Espinosa Chávez, B. (2007). Evaluación del desarrollo de la actividad sulfatorreductora en un lodo granular metanogénico de diferentes tamaños (Master's thesis)
- Fan, J. X., Wang, Y. J., Fan, T. T., Dang, F., & Zhou, D. M. (2016). Effect of aqueous Fe (II) on Sb (V) sorption on soil and goethite. *Chemosphere*, 147, 44-51.

- Ferriol Molina, M., & Merle Farinós, H. B. (2012). Los componentes alfa, beta y gamma de la biodiversidad. Aplicación al estudio de comunidades vegetales.
- Filella, M., Philippo, S., Belzile, N., Chen, Y., & Quentel, F. (2009). Natural attenuation processes applying to antimony: a study in the abandoned antimony mine in Goesdorf, Luxembourg. *Science of the Total Environment*, 407(24), 6205-6216.
- Filella, M., Belzile, N., & Lett, M. C. (2007). amplio: a review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions. *Earth-Science Reviews*, 80(3-4), 195-217.
- Filella, M., and May, P.M. (2003). Computer simulation of the low-molecular-weight inorganic species distribution of antimony (III) and antimony(V) in natural waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67, 4013–4031. doi:10.1016/S0016-7037(03)00095-4.
- Filella, M., Belzile, N., & Chen, Y. W. (2002). Antimony in the environment: a review focused on natural waters: I. Occurrence. *Earth-Science Reviews*, 57(1-2), 125-176.
- Filella M, Belzile N, Chen YW (2002b) Antimony in the environment: a review focused on natural waters II. Relevant solution chemistry. *Earth-Sci Rev* 59(1–4):265–285.
- Finch, R. G., Greenwood, D., Whitley, R. J., & Norrby, S. R. (2010). Antibiotic and chemotherapy e-book. Elsevier Health Sciences.
- Fowler, B. A., Yamauchi, H., Conner, E. A., & Akkerman, M. (1993). Cancer risks for humans from exposure to the semiconductor metals. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 101-103.
- Fuentes E, Pinochet H, De Gregori I, Potin-Gautier M (2003) Redox speciation analysis of antimony in soil extracts by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Spectrochim Acta Part B Atom Spectrosc* 58(7):1279–1289.
- Flynn HC, Meharg AA, Bowyer PK, Paton GI (2003) Antimony bioavailability in mine soils. *Environ Pollut* 124(1):93–100
- Gallegos-García, M., Celis, L. B., & Razo-Flores, E. (2010). Competencia por sustrato durante el desarrollo de biomasa sulfatorreductora a partir de un lodo metanogénico en un reactor UASB. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 26(2), 109-117.
- GBC (2005). Manual de operación del generador de hidruros GBC HG3000, GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Australia
- Gebel, T. (1997). Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology. *Chemicobiological interactions*, 107(3), 131-144.
- Greenberg AE, Clesceri LS, Eaton AD (1992) Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th edn. A.P.H. Association, Washington, DC
- Gujer, W., & Zehnder, A. J. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water science and technology*, 15(8-9), 127-167.
- Gunn, G. (Ed.). (2014). *Critical metals handbook*. John Wiley & Sons.
- Guo, W., Fu, Z., Wang, H., Song, F., Wu, F., & Giesy, J. P. (2018). Environmental geochemical and spatial/temporal behavior of total and speciation of antimony in typical contaminated aquatic environment from Xikuangshan, China. *Microchemical Journal*, 137, 181-189.
- Guo, X., Z. Wu, and M. He. 2009. "Removal of Antimony(V) and Antimony(III) from Drinking Water by Coagulation Flocculation Sedimentation (CFS)." *Water Research* 43: 4327-4335
- Gurnami, N., Sharma, G., and Talukder, G. (1992) *Biometals: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 5, 47–50.
- Gustafsson, J. (2013). Visual MINTEQ, ver 3.1. Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden, Department of Land and Water Resources Engineering <<http://hem.bredband.net/b108693>>

- Gutiérrez-Báez, C., Ortiz-Díaz, J. J., Flores-Guido, J. S., & Zamora-Crescencio, P. (2012). Diversidad, estructura y composición de las especies leñosas de la selva mediana subcaducifolia del Punto de Unión Territorial (PUT) de Yucatán, México. *Polibotánica*, (33), 151-174.
- Guzmán-Morales, J., Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., Rodríguez-Salazar, M. T., García-Arreola, M. E., & Tapia-Cruz, V. (2011). Assessment of atmospheric metal pollution in the urban area of Mexico City, using *Ficus benjamina* as biomonitor. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 86(5), 495-500.
- González, A. R. (2006). *Ecología: Métodos de muestreo y análisis de poblaciones y comunidades*. Pontificia Universidad Javeriana.
- Hach Company. (1992). *Hach water analysis handbook*. Hach Company.
- Hamamura, N., Fukushima, K., & Itai, T. (2013). Identification of antimony-and arsenic-oxidizing bacteria associated with antimony mine tailing. *Microbes and environments*, ME12217.
- Hantson, P., Leonard, E.D., Crutzen-Fayt, M.C. et al. (1996) *Pharmacotherapy*, 16, 869–871.
- Han, Z., Zhao, Y., Yan, H., Zhao, H., Han, M., Sun, B., ... & Du, H. (2015). Struvite precipitation induced by a novel sulfate-reducing bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* SRB4 isolated from river sediment. *Geomicrobiology Journal*, 32(10), 868-877.
- Hao, O., Chen, J., Huang, L., Buglass, R. (1996). Sulfate-reducing bacteria, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 1996,26, 155–187.
- Hartig, E. K. (2005). *Wetlands, Naturally Occurring*.
- He, M., (2007) Distribution and phytoavailability of antimony at an antimony mining and smelting area, Hunan, China. *Environ Geochem Health* 29(3):209–219
- He, M., Wang, N., Long, X., Zhang, C., Ma, C., Zhong, Q., ... & Shan, J. (2019). Antimony speciation in the environment: Recent advances in understanding the biogeochemical processes and ecological effects. *Journal of Environmental Sciences*, 75, 14-39.
- He, M., Wang, X., Wu, F., & Fu, Z. (2012). Antimony pollution in China. *Science of the total environment*, 421, 41-50.
- Henckens, M. L. C. M., Driessen, P. P. J., & Worrell, E. (2016). How can we adapt to geological scarcity of antimony? Investigation of antimony's substitutability and of other measures to achieve a sustainable use. *Resources, Conservation and Recycling*, 108, 54-62.
- Helz, G. R., Valerio, M. S., & Capps, N. E. (2002). Antimony speciation in alkaline sulfide solutions: role of zerovalent sulfur. *Environmental science & technology*, 36(5), 943-948.
- Hernández J. (2011). Estudio del comportamiento de Sb_2S_3 (sulfuro de antimonio) durante su tostación a Sb_2O_3 (trióxido de antimonio) en hornos de resistencia eléctrica y microondas. (Tesis Licenciatura) Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Hockmann, K., Tandy, S., Lenz, M., Reiser, R., Conesa, H. M., Keller, M., ... & Schulin, R. (2015). Antimony retention and release from drained and waterlogged shooting range soil under field conditions. *Chemosphere*, 134, 536-543.
- Hockmann, K., Lenz, M., Tandy, S., Nachtgeal, M., Janousch, M., & Schulin, R. (2014). Release of antimony from contaminated soil induced by redox changes. *Journal of hazardous materials*, 275, 215-221.
- Hofstad, T., Olsen, I., Eribe, E. R., Falsen, E., Collins, M. D., & Lawson, P. A. (2000). *Dysgonomonas* gen. nov. to accommodate *Dysgonomonas gadei* sp. nov., an organism isolated from a human gall bladder, and *Dysgonomonas capnocytophagoides* (formerly CDC group DF-3). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(6), 2189-2195.

- Hu, X., Kong, L., & He, M. (2014). Kinetics and mechanism of photopromoted oxidative dissolution of antimony trioxide. *Environmental science & technology*, 48(24), 14266-14272.
- Hwang, M. H., Jang, N. J., Hyun, S. H., & Kim, I. S. (2004). Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH. *Journal of Biotechnology*, 111(3), 297-309.
- INEGI-SE, (2009). Anuario estadístico, INEGI-SE, México, pp.240-242.
- Isosaari, P., & Sillanpää, M. (2017). Use of sulfate-reducing and bioelectrochemical reactors for metal recovery from mine water. *Separation & Purification Reviews*, 46(1), 1-20.
- Itoh, T., Suzuki, K., Sanchez, P. C., and Nakase, T., 1999. *Caldivirga maquilingsensis* gen. nov., sp. nov., a new genus of rod-shaped crenarchaeote isolated from a hot spring in the Philippines. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 1157–1163.
- Jabłońska-Czapla, M. (2015). Antimony, arsenic and chromium speciation studies in Biała Przemsza River (Upper Silesia, Poland) water by HPLC-ICP-MS. *International journal of environmental research and public health*, 12(5), 4739-4757.
- Jabłońska-Czapla, M., & Zerzucha, P. (2019). Metal (loid) speciation in a river subjected to industrial anthropopressure: chemometric and environmental studies. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 1-16.
- Jiang, X., Mingchao, M. A., Jun, L. I., Anhuai, L. U., & Zhong, Z. (2008). Bacterial diversity of active sludge in wastewater treatment plant. *Earth Science Frontiers*, 15(6), 163-168.
- Johnson, D. B., & Hallberg, K. B. (2005). Acid mine drainage remediation options: a review. *Science of the total environment*, 338(1-2), 3-14.
- Jong, T., & Parry, D. L. (2003). Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs. *Water research*, 37(14), 3379-3389.
- Jurtshuk, P Jr. (1996). *Bacterial Metabolism*. In: Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7919/>
- Kaksonen, A. H., & Puhakka, J. A. (2007). Sulfate reduction based bioprocesses for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. *Engineering in Life Sciences*, 7(6), 541-564.
- Kieu, H. T., Müller, E., & Horn, H. (2011). Heavy metal removal in anaerobic semi-continuous stirred tank reactors by a consortium of sulfate-reducing bacteria. *Water research*, 45(13), 3863-3870.
- Klimko, T., Lalinska, B., Majzlan, J., Chovan, M., Kucerova, G., & Paul, C. (2011). Chemical composition of weathering products in neutral and acidic mine tailings from stibnite exploitation in Slovakia. *Journal of Geosciences*, 56(3), 327-340.
- Kong, I. C., Hubbard, J. S., & Jones, W. J. (1994). Metal-induced inhibition of anaerobic metabolism of volatile fatty acids and hydrogen. *Applied microbiology and biotechnology*, 42(2), 396-402.
- Kong, L., Hu, X., & He, M. (2015). Mechanisms of Sb (III) oxidation by pyrite-induced hydroxyl radicals and hydrogen peroxide. *Environmental science & technology*, 49(6), 3499-3505.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A., Battaglia-Brunet, F., Joulain, C., Kousteni, V., & Tsezos, M. (2011). Metal precipitation in an ethanol-fed, fixed-bed sulphate-reducing bioreactor. *Journal of hazardous materials*, 189(3), 677-684.
- Krachler, M., Zheng, J., Koerner, R., Zdanowicz, C., Fisher, D., & Shoty, W. (2005). Increasing atmospheric antimony contamination in the northern hemisphere: snow and ice evidence from Devon Island, Arctic Canada. *Journal of Environmental Monitoring*, 7(12), 1169-1176.
- Krupp, R. E. (1988). Solubility of stibnite in hydrogen sulfide solutions, speciation, and equilibrium constants, from 25 to 350 C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 52(12), 3005-3015.

- Kulp, T. R., Miller, L. G., Braiotta, F., Webb, S. M., Kocar, B. D., Blum, J. S., & Oremland, R. S. (2013). Microbiological reduction of Sb (V) in anoxic freshwater sediments. *Environmental science & technology*, 48(1), 218-226.
- Kumar, V., Sonkar, M., & Shukla, S. K. (2018). Recent advancement on bioaugmentation strategies for process industry wastewater (PIWW) treatment. In *Water Remediation* (pp. 189-209). Springer, Singapore.
- Lai, C. Y., Dong, Q. Y., Rittmann, B. E., & Zhao, H. P. (2018). Bioreduction of antimonate by anaerobic methane oxidation in a membrane biofilm batch reactor. *Environmental science & technology*, 52(15), 8693-8700.
- Lai, C. Y., Wen, L. L., Zhang, Y., Luo, S. S., Wang, Q. Y., Luo, Y. H., ... & Zhao, H. P. (2016). Autotrophic antimonate bio-reduction using hydrogen as the electron donor. *Water research*, 88, 467-474.
- Leal, M., Rojas, C., Denisse, D., Ramírez, J., & Ruiz, D. (Junio de 2013). Apoyo al Sistema de Agua Potable de Emiliano Zapata, Ver. A.C. En E. Álvarez E. (Presidencia), Congreso Internacional de Investigación ACADEMIAJOURNALS.COM en Ciencias y Sustentabilidad. Congreso llevado a cabo en Tuxpan, México.
- Lens, P. N. L., & Kuenen, J. G. (2001). The biological sulfur cycle: novel opportunities for environmental biotechnology. *Water Science and Technology*, 44(8), 57-66.
- Lens P.N.L., Omil F., Lema J.M. & Hulshoff-Pol L.W. (2000). Biological treatment of organic sulfate-rich wastewaters. En: *Environmental technologies to treat sulfur pollution-principles and engineering*. Lens, P.N.L. y Hulshoff Pol, L. (Ed). International Water Association. Londres. pp. 153-174.
- Leuz, A. K., & Johnson, C. A. (2005). Oxidation of Sb (III) to Sb (V) by O₂ and H₂O₂ in aqueous solutions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(5), 1165-1172.
- Levenspiel O (1972) *Chemical reaction engineering*. Wiley, New York
- Levesse, G., Lopez, G., Tritlla, J., López, E. C., Chavez, A. C., Salvador, E. M., ... & Corona-Esquivel, R. (2012). Phytoavailability of antimony and heavy metals in arid regions: the case of the Wadley Sb district (San Luis, Potosí, Mexico). *Science of the total environment*, 427, 115-125.
- 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(18), 5482-5495.
- Li, Y., Sun, Y., Kong, X., Li, L., Yang, G., & Yuan, Z. (2011). Isolation and electricity-producing characteristics of strain *Dysgonomonas mossii*. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 27(1), 181-184.
- Lin CY (1992) Effect of heavy metals on volatile fatty acids degradation in anaerobic digestion. *Water Res* 26:177-183
- Liu, Z. H., Yin, H., Lin, Z., & Dang, Z. (2018). Sulfate-reducing bacteria in anaerobic bioprocesses: basic properties of pure isolates, molecular quantification, and controlling strategies. *Environmental Technology Reviews*, 7(1), 46-72.
- Liu, F., Zhang, G., Liu, S., Fu, Z., Chen, J., & Ma, C. (2018). Bioremoval of arsenic and antimony from wastewater by a mixed culture of sulfate-reducing bacteria using lactate and ethanol as carbon sources. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 152-159.
- Loni, P. C., Wu, M., Wang, W., Wang, H., Ma, L., Liu, C., ... & Tuovinen, O. H. (2020). Mechanism of microbial dissolution and oxidation of antimony in stibnite under ambient conditions. *Journal of hazardous materials*, 385, 121561.

- Lopes S.I.C. (2007) Sulfate reduction at low pH in organic wastewaters. Doctoral Thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. ISBN: 978-90-8504-763-6. 248p
- Lovley, D. R. (2002). Dissimilatory metal reduction: from early life to bioremediation. *Asm News*, 68(5), 231-237.
- Magurran, A. E. 1988. Ecological diversity and its measurement. Princeton University. Press, New Jersey, 179 pp.
- Malina, J. (1992). Design of anaerobic processes for treatment of industrial and municipal waste (Vol. 7). CRC Press.
- Martins, M., Santos, E.S., Pires, C., Barros, R.J., and Costa, M.C. (2010) Production of irrigation water from bioremediation of acid mine drainage: comparing the performance of two representative systems. *J. Clean Prod.*, 18: 248–253.
- Maruška, M., Chovan, M., & Ševc, J. (2000). Mineralogical and environmental evaluation of the settling ponds at deposit Dúbrava in Nízke Tatry Mts. *Slovak Geol Mag*, 6, 61-69.
- Mascuñano, E., Gilles, L., Tritlla, J., Cardellach, E., & Corona-Esquivel, R. (2011). Simple Sb deposits in Mexico. In *Let's talk ore deposits, Proceedings of the 11th Biennial SGA Meeting of The Society for Geology Applied to Mineral Deposits, Antofagasta, Chile, 26th–29th September*.
- McNamara, D. D., Sewell, S., Buscarlet, E., & Wallis, I. C. (2016). A review of the Rotokawa geothermal field, New Zealand. *Geothermics*, 59, 281-293.
- Meegoda, J. N., Li, B., Patel, K., & Wang, L. B. (2018). A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. *International journal of environmental research and public health*, 15(10), 2224.
- Mejía C., (2018). Producción de biohidrógeno a partir de efluente vitivinícolas en sistemas de biopelícula con lecho estructurado. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de México. México.
- Mitsunobu, S., Takahashi, Y., & Sakai, Y. (2008). Abiotic reduction of antimony (V) by green rust (Fe₄ (II) Fe₂ (III)(OH) 12SO₄· 3H₂O). *Chemosphere*, 70(5), 942-947.
- Momberg, G. A., & Oellermann, R. A. (1992). The removal of phosphate by hydroxyapatite and struvite crystallisation in South Africa. *Water Science and Technology*, 26(5-6), 987-996.
- Moreno-Andrade, I., & Buitrón, G. (2004). Variation of the microbial activity during the acclimation phase of a SBR system degrading 4-chlorophenol. *Water Science and Technology*, 50(10), 251-258.
- Moreno, C. E. (2000). Métodos para medir la biodiversidad. Volumen I. Manuales y tesis SEA.
- Moreno I, Carrillo J, Field J. & Sierra R. (2019). Microbial reduction of antimony by anaerobic microorganisms in biological wastewater treatment. IWA world conference of anaerobic digestion. Neatherlands.
- Moreno I., Sierra R., Espadas A. & Thalasso F. (2018). Inhibitory effect of antimony on the microorganism's activity. IWA world conference of anaerobic digestion. Japan.
- Mubarak, H., Chai, L. Y., Mirza, N., Yang, Z. H., Pervez, A., Tariq, M., ... & Mahmood, Q. (2015). Antimony (Sb)–pollution and removal techniques–critical assessment of technologies. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 97(10), 1296-1318.
- Nagpal, S., Chuichulcherm, S., Peeva, L., & Livingston, A. (2000). Microbial sulfate reduction in a liquid–solid fluidized bed reactor. *Biotechnology and bioengineering*, 70(4), 370-380.
- Nguyen, V. K., Park, Y., & Lee, T. (2019). Microbial antimonate reduction with a solid-state electrode as the sole electron donor: A novel approach for antimony bioremediation. *Journal of hazardous materials*, 377, 179-185.

- 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*, 75(7), 889-893.
- Neculita, C. M., Zagury, G. J., & Bussière, B. (2007). Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate-reducing bacteria. *Journal of Environmental Quality*, 36(1), 1-16.
- Nguyen, V. K., & Lee, J. U. (2014). Isolation and characterization of antimony-reducing bacteria from sediments collected in the vicinity of an antimony factory. *Geomicrobiology Journal*, 31(10), 855-861.
- NOM-201-SSA-2015. (2015). NORMA Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias. Diario oficial, Secretaría de Salud.
- Obiakor, M. O., Tighe, M., Pereg, L., & Wilson, S. C. (2017). Bioaccumulation, trophodynamics and ecotoxicity of antimony in environmental freshwater food webs. *Critical reviews in environmental science and technology*, 47(22), 2208-2258.
- O'Flaherty V. & Colleran E. (1998). Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. I: process disturbance and remediation. *Bioresource Technology*. (68), pp. 101-107.
- Oude Elferink S.J. W.H., Visser A., Hulsoff Pol. L. y Stams A.J.M. (1994). Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiol. Rev.* 15, 119–136.
- Pacyna, J. M., & Pacyna, E. G. (2001). An assessment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic sources worldwide. *Environmental reviews*, 9(4), 269-298.
- Palmquist, H. and Hanæus, J (2005). Hazardous substances in separately collected grey and blackwater from ordinary Swedish households, *Science of the Total Environment*, 348,1-3, 151-163.
- Parawira, W., Murto, M., Zvauya, R., & Mattiasson, B. (2006). Comparative performance of a UASB reactor and an anaerobic packed-bed reactor when treating potato waste leachate. *Renewable energy*, 31(6), 893-903.
- Pardo, R., Herguedas, M., Barrado, E., & Vega, M. (2003). Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 376(1), 26-32.
- Paredes, J. F. M., & Ramos, M. R. (2014). Reactores discontinuos secuenciales: Una tecnología versátil en el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 24(1), 49-66.
- Parker, C. L., Livshits, E., & McKeon, K. (1979). Antimony removal technology for mining industry wastewaters (Vol. 1). Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, [Office of Energy, Minerals, and Industry], Industrial Environmental Research Laboratory.
- Patidar S.K. & Tare V. (2005). Anaerobic degradation of sulfate laden organics employing different reactor system configurations. *J. Environ. Eng.* 131(2), pp. 216-224.
- Patriarca, M., Menditto, A., Rossi, B., Lyon, T. D. B. and Fell, G. S. (1999). Environmental exposure to metals of newborns, infants and young children, IXth Italian-Hungarian Conference in Spectrochemistry - Analytical Techniques in Environmental Chemistry, Siena, Italy, 351-361.
- Peet, R. K. 1974. The measurement of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5: 285-307
- Phelps, T. J., & Zeikus, J. G. (1984). Influence of pH on terminal carbon metabolism in anoxic sediments from a mildly acidic lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(6), 1088-1095.
- Picado, A. B., & Alvarez, M. (2011). *Química I: Introducción al estudio de la materia.*
- Pierart, A., Shahid, M., Sejalon-Delmas, N., & Dumat, C. (2015). Antimony bioavailability: knowledge and research perspectives for sustainable agricultures. *Journal of hazardous materials*, 289, 219-234.

- Pla, L. (2006). Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia*, 31(8), 583-590.
- Planer-Friedrich B, Scheinost AC (2011). Formation and structural characterization of thioantimony species and their natural occurrence in geothermal waters. *Environ Sci Technol* 45(16):6855–686.
- Postgate JR (1984) *The sulfate-reducing bacteria*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge
- Qureshi, N., Annous, B. A., Ezeji, T. C., Karcher, P., & Maddox, I. S. (2005). Biofilm reactors for industrial bioconversion processes: employing potential of enhanced reaction rates. *Microbial cell factories*, 4(1), 24.
- Ramos, C., Buitrón, G., Moreno-Andrade, I., & Chamy, R. (2012). Effect of the initial total solids concentration and initial pH on the bio-hydrogen production from cafeteria food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(18), 13288-13295.
- Ramos-Ruiz, A., Zeng, C., Sierra-Alvarez, R., Teixeira, L. H., Field, A. J., Microbial toxicity of ionic species leached from the II-VI semiconductor materials, cadmium telluride (CdTe) and cadmium selenide (CdSe). *Chemosphere*, 2016. 162: 131-138.
- Regidor E. (2017). Antimony microbial toxicity and reduction under anaerobic conditions. (Tesis de maestría) Universidad de Valladolid. España.
- Rodriguez-Freire, L., Sierra-Alvarez, R., Root, R., Chorover, J., & Field, J. A. (2014). Biomineralization of arsenate to arsenic sulfides is greatly enhanced at mildly acidic conditions. *Water research*, 66, 242-253.
- Rossello, E. (1987). Primera manifestación antimonífera en la provincia de San Luis Potosí y aportes sobre su control estructural. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 52 (1987), pp. 196-200
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 21 lipca 2016 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych [Regulation of the Minister of the Environment of 21 July 2016 on the method of classification of the state of uniform parts of surface waters and environmental quality standards for priority substances]. *Dz.U.* 2016 poz. 1187.
- Ritz, D., & Beckwith, J. (2001). Roles of thiol-redox pathways in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 21-48.
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Santiago S. (2013). Efectos de pico de concentración de compuestos fenólicos sobre biomasa granular aerobia. Maestría en Ingeniería Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico
- Scheinost, A. C., Rossberg, A., Vantelon, D., Xifra, I., Kretzschmar, R., Leuz, A. K., ... & Johnson, C. A. (2006). Quantitative antimony speciation in shooting-range soils by EXAFS spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70(13), 3299-3312.
- Schink, B., Phelps, T. J., Eichler, B., & Zeikus, J. G. (1985). Comparison of ethanol degradation pathways in anoxic freshwater environments. *Microbiology*, 131(3), 651-660.
- Sepúlveda, T. V. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. Instituto Nacional de Ecología.
- Shi, L. D., Wang, M., Han, Y. L., Lai, C. Y., Shapleigh, J. P., & Zhao, H. P. (2019). Multi-omics reveal various potential antimonate reductases from phylogenetically diverse microorganisms. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(21-22), 9119-9129.
- Shotyk, W., Cheburkin, A. K., Appleby, P. G., Fankhauser, A., & Kramers, J. D. (1996). Two thousand years of atmospheric arsenic, antimony, and lead deposition recorded in an ombrotrophic peat bog profile, Jura Mountains, Switzerland. *Earth and planetary science letters*, 145(1-4), E1-E7.

- Shumilin, E., Rodríguez Meza, G. D., Sapozhnikov, D., Lutsarev, S., & Murrillo de Nava, J. (2005). Arsenic concentrations in the surface sediments of the Magdalena–Almejas Lagoon complex, Baja California Peninsula, Mexico. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 74(3), 493-500.
- Simmons, S. F., Brown, K. L., Browne, P. R., & Rowland, J. V. (2016). Gold and silver resources in Taupo Volcanic Zone geothermal systems. *Geothermics*, 59, 205-214.
- Slooff, W. (1992). RIVM guidance document. Ecotoxicological effect assessment: deriving maximum tolerable concentrations (MTC) from single-species toxicity data. RIVM Rapport 719102018.
- Smichowski, P. (2008). Antimony in the environment as a global pollutant: a review on analytical methodologies for its determination in atmospheric aerosols. *Talanta*, 75(1), 2-14.
- Sorokin, D. Y., Tourova, T. P., Mußmann, M., & Muyzer, G. (2008). *Dethiobacter alkaliphilus* gen. nov. sp. nov., and *Desulfurivibrio alkaliphilus* gen. nov. sp. nov.: two novel representatives of reductive sulfur cycle from soda lakes. *Extremophiles*, 12(3), 431-439.
- Spycher, N. F., & Reed, M. H. (1989). As (III) and Sb (III) sulfide complexes: an evaluation of stoichiometry and stability from existing experimental data. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 53(9), 2185-2194.
- Sun, H. (Ed.). (2010). *Biological chemistry of arsenic, antimony and bismuth*. John Wiley & Sons.
- Sun, J., Dai, X., Wang, Q., Pan, Y., & Ni, B. J. (2016). Modelling methane production and sulfate reduction in anaerobic granular sludge reactor with ethanol as electron donor. *Scientific reports*, 6(1), 1-11.
- USEPA, (2009). National Primary Drinking Water Regulations, 2009. United States Environmental Protection Agency. EPA 816-F-09-004. <http://water.epa.gov/drink/contaminants/upload/mcl-2.pdf>.
- USEPA (1983). United States. Environmental Protection Agency. Office of Water Regulations., 1983. *Water quality standards handbook*. US Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards.
- Vidal y Martí, J. (2007). *Manual práctico para descubrir las minas y para explotarlas*. Universidad de California.
- Villa Gómez, D. K., & Denys, K. (2013). Simultaneous sulfate reduction and metal precipitation in an inverse fluidized bed reactor (Doctoral dissertation, PhD thesis, UNESCO-IHE Institute for Water Education, Delft, the Netherlands).
- Vitaliano, C. J., & Mason, B. (1952). Stibiconite and cervantite. *American Mineralogist: Journal of Earth and Planetary Materials*, 37(11-12), 982-999.
- Tian, H., Zhao, D., Cheng, K., Lu, L., He, M., & Hao, J. (2012). Anthropogenic atmospheric emissions of antimony and its spatial distribution characteristics in China. *Environmental science & technology*, 46(7), 3973-3980.
- Tian, H., Zhou, J., Zhu, C., Zhao, D., Gao, J., Hao, J., ... & Hua, S. (2014). A comprehensive global inventory of atmospheric antimony emissions from anthropogenic activities, 1995–2010. *Environmental science & technology*, 48(17), 10235-10241.
- Tjandraatmadja, G., Pollard, C., Sheedy, C., & Gozukara, Y. (2010). Sources of contaminants in domestic wastewater: nutrients and additional elements from household products. *Water for a Healthy Country Flagship Report: CSIRO*.
- Ungureanu, G., Santos, S., Boaventura, R., & Botelho, C. (2015). Arsenic and antimony in water and wastewater: overview of removal techniques with special reference to latest advances in adsorption. *Journal of environmental management*, 151, 326-342.
- U.S. Geological Survey, 2019, Mineral commodity summaries 2019: U.S. Geological Survey, 200 p., <https://doi.org/10.3133/70202434>.

- Valenzuela A. (2011). Bioprecipitación de cobre por sulfato-reducción en un reactor anaerobio de lodos granulares expandidos. Universidad de Sonora. México.
- Visser, A. (1995). The anaerobic treatment of sulfate containing wastewater, Doctoral Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen (Netherlands)1995, 139 p.
- Visser A., Hulshoff-Pol L.W. & Lettinga G. (1996). Competition of methanogenic and sulfidogenic bacteria. *Wat. Sci. Technol.* (33), pp. 99-110.
- Wang, H., Chen, F., Mu, S., Zhang, D., Pan, X., Lee, D. J., & Chang, J. S. (2013). Removal of antimony (Sb (V)) from Sb mine drainage: biological sulfate reduction and sulfide oxidation–precipitation. *Bioresource technology*, 146, 799-802.
- Wang, N., Zhang, S., & He, M. (2018a). Bacterial community profile of contaminated soils in a typical antimony mining site. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 141-152.
- Wang, L., Ye, L., Yu, Y., & Jing, C. (2018b). Antimony redox biotransformation in the subsurface: effect of indigenous Sb (V) respiring microbiota. *Environmental science & technology*, 52(3), 1200-1207.
- Wang, X., He, M., Lin, C., Gao, Y., & Zheng, L. (2012). Antimony (III) oxidation and antimony (V) adsorption reactions on synthetic manganite. *Chemie Der Erde-Geochemistry*, 72, 41-47.
- Wang, X., He, M., Xi, J., & Lu, X. (2011). Antimony distribution and mobility in rivers around the world's largest antimony mine of Xikuangshan, Hunan Province, China. *Microchemical Journal*, 97(1), 4-11.
- Wen, L. L., Zhang, Y., Pan, Y. W., Wu, W. Q., Meng, S. H., Zhou, C., ... & Zhao, H. P. (2015). The roles of methanogens and acetogens in dechlorination of trichloroethene using different electron donors. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 19039-19047.
- Whitaker, A., & Jeffery, J. W. (1970). The crystal structure of struvite, $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 26(10), 1429-1440.
- Widdel, F.; Kohring, G.-W.; Mayer, F. (1983). Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. III. Characterization of the filamentous gliding *Desulfonema limnicola* gen. nov., sp. nov., and *Desulfonema magnum* sp. nov. *Arch. Microbiol.* 1983, 134, 286–294.
- Wiggins, B.A., S.H. Jones and M. Alexander, 1987. Explanations for the acclimation period preceding the mineralization of organic chemicals in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 791-796.
- Williams Jones, A.E. and C. Normand (1997), Controls of mineral parageneses in the system FeSb-S-O. *Economic Geology*, 92(3), 308–324
- Wilson, S. C., Lockwood, P. V., Ashley, P. M., & Tighe, M. (2010). The chemistry and behaviour of antimony in the soil environment with comparisons to arsenic: a critical review. *Environmental pollution*, 158(5), 1169-1181.
- World Health Organization (WHO). (2011). Library Cataloguing-in-publication Data Guidelines for Drinking-water Quality, 4th ed., 2011.
- World Health Organization (WHO). (2017). Guidelines for Drinking-Water Quality, 4th ed.: Incorporating the First Addendum. WHO: Geneva, Switzerland, 2017.
- World Health Organization (WHO). (2008). Guidelines for drinking-water quality, third edition, incorporating first and second addenda World Health Organization, Geneva (2008)
- World Health Organization (WHO). (2003). Antimony in drinking-water, background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Switzerland, Geneva.
- Wu, D., Li, L., Zhao, X., Peng, Y., Yang, P., & Peng, X. (2019). Anaerobic digestion: a review on process monitoring. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 103, 1-12.

- Wu, F., Fu, Z., Liu, B., Mo, C., Chen, B., Corns, W., & Liao, H. (2011). Health risk associated with dietary co-exposure to high levels of antimony and arsenic in the world's largest antimony mine area. *Science of the Total Environment*, 409(18), 3344-3351.
- Wysocki, R., Chéry, C. C., Wawrzycka, D., Van Hulle, M., Cornelis, R., Thevelein, J. M., & Tamás, M. J. (2001). The glycerol channel Fps1p mediates the uptake of arsenite and antimonite in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular microbiology*, 40(6), 1391-1401.
- Xi, Y., Lan, S., Li, X., Wu, Y., Yuan, X., Zhang, C., ... & Wu, S. (2020). Bioremediation of antimony from wastewater by sulfate-reducing bacteria: Effect of the coexisting ferrous ion. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 148, 104912.
- Xiao, K., Xu, Q. Z., Ye, K. H., Liu, Z. Q., Fu, L. M., Li, N., ... & Su, Y. Z. (2013). Facile hydrothermal synthesis of Sb₂S₃ nanorods and their magnetic and electrochemical properties. *ECS Solid State Letters*, 2(6), P51-P54.
- Yang, H., Su, X., & Tang, A. (2007). Microwave synthesis of nanocrystalline Sb₂S₃ and its electrochemical properties. *Materials Research Bulletin*, 42(7), 1357-1363.
- Zamora, A. C., & Malaver, N. (2012). Methodological aspects for the culture and quantification of heterotrophic sulfate-reducing bacteria. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32(2), 121-125.
- Zhang, D., Pan, X., Zhao, L., & Mu, G. (2011). Biosorption of antimony (Sb) by the cyanobacterium *Synechocystis* sp. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5), 1353-1358.
- Zhang, G., Ouyang, X., Li, H., Fu, Z., & Chen, J. (2016). Bioremoval of antimony from contaminated waters by a mixed batch culture of sulfate-reducing bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 115, 148-155.
- Zhang, H., & Hu, X. (2019). Bioadsorption and microbe-mediated reduction of Sb(V) by a marine bacterium in the presence of sulfite/thiosulfate and the mechanism study. *Chemical Engineering Journal*, 359, 755-764.
- Zhang H, Sun B, Zhao X, Gao Z (2008) Effect of ferric chloride on fouling in membrane bioreactor. *Sep Purif Technol* 63(2):341–347
- Zheng, J., Ohata, M., & Furuta, N. (2000). Studies on the speciation of inorganic and organic antimony compounds in airborne particulate matter by HPLC-ICP-MS. *Analyst*, 125(6), 1025-1028.
- Zhou, J., Tian, H., Zhu, C., Hao, J., Gao, J., Wang, Y., ... & Wang, K. (2015). Future trends of global atmospheric antimony emissions from anthropogenic activities until 2050. *Atmospheric Environment*, 120, 385-392.
- Zhu, Y., Wu, M., Gao, N., Chu, W., An, N., Wang, Q., & Wang, S. (2018). Removal of antimonate from wastewater by dissimilatory bacterial reduction: Role of the coexisting sulfate. *Journal of hazardous materials*, 341, 36-45.
- Ziemiński, K., & Frąć, M. (2012). Methane fermentation process as anaerobic digestion of biomass: Transformations, stages and microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, 11(18), 4127-4139.
- Zotov, A. V., Shikina, N. D., & Akinfiev, N. N. (2003). Thermodynamic properties of the Sb (III) hydroxide complex Sb(OH)₃ (aq) at hydrothermal conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(10), 1821-1836.