# Ensayo de Investigación

# Precipitación de cobre disuelto en agua utilizando un consorcio con bacterias sulfato-reductoras en un reactor con sedimento Precipitation of water-dissolved copper using a consortium with sulfate-reducing bacteria in a sediment reactor

Guadalupe Itzamarait Sánchez-Escamilla<sup>1</sup>, Carlos Leopoldo Fernández-Rendón<sup>1\*</sup> Patricia Ramírez-Romero<sup>1</sup>, Guadalupe Barrera-Escorcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Hidrobiología Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa Autor de correspondencia: \*carlosfdz07@gmail.com

Recibido: 19-09-2023 Aceptado: 10-06-2024 (Artículo Arbitrado)

# Resumen

El agua contaminada con metales por actividades industriales puede ser tratada en reactores que precipitan los metales por la actividad metabólica de las bacterias sulfato-reductoras. El objetivo de este estudio fue proponer un sistema con un consorcio microbiano para la precipitación de cobre disuelto en agua. Se probaron dos sistemas, uno sin bacterias (control) y otro con un consorcio microbiano (experimental). A estos sistemas se les adicionó agua residual sintética con 10 y 50 mg/l de cobre. Se determinó el tiempo de retención hidráulica (TRH) y se tomaron muestras en la entrada y en la salida de los sistemas para medir el potencial redox, la concentración de cobre y de sulfato. El porcentaje de remoción de cobre en el sistema experimental fue del 92 % para el agua con 50 mg/l de Cu. En contraste, en el sistema control la remoción de cobre fue del 15 %. En el sistema experimental se removió el 19 % de sulfato, mientras que en el sistema control no se removió el sulfato. El sistema experimental logró una alta eficiencia en la remoción de cobre y se podría probar este sistema para remover metales de efluentes industriales y disminuir la contaminación por metales en ecosistemas

**Palabras clave:** Remoción de metales, tratamiento de agua, aguas residuales industriales.

# **Abstract**

Water contaminated with metals from industrial activities can be treated in reactors that precipitate metals due to the metabolic activity of sulfate-reducing bacteria. The aim of this study was to propose a system with a microbial consortium for the precipitation of copper dissolved in water. Two systems were tested, one without bacteria (control) and another with a microbial consortium (experimental). Synthetic wastewater with 10 and 50 mg/l of copper was added to these systems. The hydraulic retention time (HRT) was determined, and samples were taken at the inlet and outlet of the systems to measure the redox potential, copper, and sulfate concentration. The percentage of copper removal in the experimental system was 92 % for water with 50 mg/l of Cu. In contrast, in the control system, the copper removal was 15 %. In the experimental system, 19 % of sulfate was removed, while in the control system, sulfate was not removed. The experimental system achieved high efficiency in copper removal, and this system could be tested to remove metals from industrial effluents and reduce metal pollution in aquatic ecosystems.

**Keywords:** Metal removal, water treatment, industrial wastewater.

# Introducción

# Contaminación por metales

El agua puede recibir diferentes contaminantes como resultado de diversas actividades humanas. La contaminación por metales proviene de industrias como la minería y la metalurgia (Bilgin & Jaffé, 2019; Kumar & Pakshirajan, 2021). Algunos metales como el cobre (Cu<sup>2+</sup>), el hierro (Fe<sup>3+</sup>), el zinc (Zn<sup>2+</sup>), el níquel (Ni<sup>2+</sup>), el plomo (Pb<sup>2+</sup>) y el cadmio (Cd<sup>2+</sup>),

son tóxicos porque producen efectos adversos en la salud y el ambiente; por lo tanto, es necesario aplicar un tratamiento para removerlos del agua (Kumar & Pakshirajan, 2021).

El cobre es un micronutriente necesario para muchas enzimas y coenzimas en bajas concentraciones, pero en concentraciones altas inhibe los procesos metabólicos microbianos (Bilgin & Jaffé, 2019) y tiene efectos negativos en la salud humana (Karim, 2018).

# Tratamiento de aguas residuales industriales

El agua contaminada que se produce en las actividades industriales requiere de un tratamiento para eliminar los metales antes de su descarga al ambiente. Existen diferentes alternativas para la remoción de metales como la precipitación química, la filtración por membrana, la ósmosis inversa, los tratamientos electroquímicos, la adsorción y la evaporación, pero estos son costosos e insuficientes en el tratamiento de metales pesados altamente diluidos (Bilgin & Jaffé, 2019). Una alternativa más económica es el tratamiento biológico, a través del cual se consigue la precipitación de los metales por el metabolismo de las bacterias sulfato-reductoras (Kumar & Pakshirajan, 2021).

#### Bacterias sulfato-reductoras

Las bacterias sulfato-reductoras permiten la precipitación de los metales en dos fases: En la primera fase, las bacterias utilizan los compuestos orgánicos (etanol, formiato, lactato, piruvato, malato, succinato, aminoácidos y algunos carbohidratos) como donadores de electrones y al sulfato como aceptor final de electrones. En la respiración anaerobia el sulfato se reduce y se produce sulfuro en forma de ácido sulfhídrico (ecuación (1)), en un proceso denominado sulfurogénesis (Barton & Hamilton, 2007; Muyzer & Stams, 2008). En la segunda fase, el ácido sulfhídrico reacciona con el metal y forma sulfuro metálico que se precipita (ecuación (2)) (Bilgin & Jaffé, 2019; Kumar, Nandi & Pakshirajan, 2021; Hidalgo-Ulloa, Buisman & Weijma, 2022).

$$2CH_2O + SO_4^{2-} \rightarrow H_2S + 2HCO_3^{-}$$
 (1)

$$H_2S + \text{Metal}^{2+} \rightarrow \text{Metal}S \downarrow +2H^+$$
 (2)

Así, el proceso de precipitación de metales basado en sistemas con bacterias sulfato-reductoras es una opción para el tratamiento de efluentes contaminados con metales y sulfatos (Kumar et al., 2021). Se han desarrollado diferentes sistemas que aprovechan la sulfurogénesis para precipitar los metales y removerlos del agua (Tabla 1). Estos sistemas se están aplicando con mayor frecuencia para el tratamiento de aguas subterráneas, aguas residuales y en los drenajes ácidos de minas (Muyzer & Stams, 2008; Gelvez, Laverde, & Escalante, 2008), con la ventaja adicional de que los metales se pueden recuperar y reutilizar (Muyzer & Stams, 2008; Kumar & Pakshirajan, 2021).

La fisiología de las bacterias sulfato-reductoras influye en su distribución en el entorno natural (Muyzer & Stams, 2008). Es común encontrar estas bacterias en los sedimentos marinos, ya que, el agua del océano es rica en sulfatos, con una concentración de 30 milimolar (mM) pero también están presentes en los sedimentos de agua dulce, donde la concentración de sulfato es inferior a 1 mM (Holmer & Storkholm, 2001). La columna de Winogradsky es una columna de sedimento, enriquecido con nutrientes que permite el desarrollo de un consocio microbiano complejo con la presencia de bacterias sulfato-reductoras (Rogan, Lemke, Levandowsky & Gorrell, 2005; Rundell, Banta, Ward, Watts, Birren & Esteban, 2014). A partir de esta columna de sedimento se pueden desarrollar consorcios microbianos para conseguir la precipitación de metales en aguas contaminadas (Gutierrez-Rojas, Terrazas-Siles & Álvarez-Aliaga, 2009) y elaborar sistemas similares a los reactores anaerobios con flujo de agua residual ascendente (CONAGUA, 2015; Bilgin & Jaffé, 2019).

El objetivo de este trabajo fue proponer un sistema basado en una columna de Winogradsky con flujo continuo, para lograr la precipitación de cobre disuelto en una muestra de agua residual sintética, a través de un consorcio microbiano con bacterias sulfato-reductoras.

# Materiales y Métodos

El consorcio microbiano se desarrolló en una columna de Winogradsky (Rogan et al., 2005) a partir de una muestra de sedimento del estuario de Tecolutla, Veracruz (obtenido en las coordenadas 20°28'15.10" N y 97°00'21.88" O). A la columna de sedimento se le agregó sulfato de magnesio, papel y carbonato de calcio al 1 % respecto al peso del sedimento. Se incubó a temperatura ambiente con exposición a la luz por 45 días. Posteriormente se elaboró una columna de Winogradsky con sulfato de magnesio, lactato y carbonato de calcio al 1 % peso/peso, para favorecer el desarrollo de bacterias sulfato-reductoras (Fernández-Rendón, 2022).

El reactor consistió en una columna con una capacidad de 250 ml, con 140 g de sedimento y 140 ml de solución. La entrada de agua residual sintética se

Tabla 1. Reactores, condiciones de operación y eficiencias de remoción de sulfato y cobre.

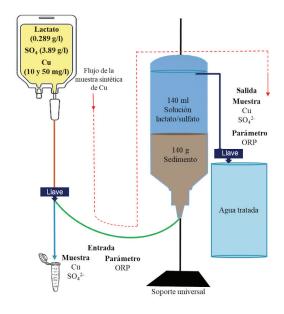
Sistema	Bacterias sulfa- to-reductoras	Fuente de carbono	TRH (hrs)	T (°C)	рН	Potencial redox (mV)	% Remoción Cobre*	% Remoción Sulfato*	Referencia
Reactor de lecho fluidizado inverso	NE	Lactato	24 y 9	25	E: 6.6 ± 0.2 S: 7.1 ± 0.1 E: 7.0 ± 0.1 S: 7.5 ± 0.2	NE	97.1 ± 2.9 96.7 ± 3.3	76 ± 15 17 ± 11	(Villa-Gomez et al., 2011)
Reactor anaero- bio de lecho compacto	Bacterias en forma de vibrio Desulfovibrio desulfuricans	Lactato de sodio	16.16	25	E: 4.56 S: 7.31	E: +221.2 S: -202.1	97.5	>80	(Jong & Parry, 2003)
Reactor anaero- bio de lecho múltiple	NE	Lactato	24	25	E: 2.75 S: 6.2	NE	99.9	61	(Bai et al., 2013b)
Frascos de suero de 100 ml	Desulfovibrio vietnamensis, D. gigas, D. gabonensis, D. indonesiensis	Lactato	NE	30	E: 7	NE	98.9 93.8	92.5 72.6	(Kiran et al., 2017)
Reactor	NE	Lactato de sodio y Sulfato	36	25	E: 4 S: 7	NE	95	95	(Bai et al., 2013a)
Reactor de flujo ascendente continuo de dos etapas	NE	Desechos orgánicos	2.53 y 7.3	NE	E: 7.5 ± 0.1 S: 8	NE	100	78	(Bilgin & Jaffé, 2019)
Reactor de lecho fluidizado inverso	Desulfovibrio	Lactato	24	25-27	E: 7 S: 6.5-7.5 E: 3 S: 6.2-7	NE	95 90	54-65 52-58	(Kumar & Pakshirajan, 2021)
Columnas de vidrio (Lotes)	NE	Lactato de sodio Etanol	NE	30 ± 2	E: 4.6 S: 7.4 E: 4.5 S: 7.2	E: 273 S: -286 E: 273 S: -275	100 100	86.3 84.1	(Zhang & Wang, 2013)
Columnas de vidrio	NE	Lactato de sodio Etanol	NE	30 ± 2	E: 5.1 S: 7.7 E: 5.1 S: 7.3	E: -150 S: -285 E: -120 S: -206	91 91	90 90	(Zhang & Wang, 2013)

Nota. TRH: tiempo de retención hidráulica; T: temperatura; \*Se reporta el mayor porcentaje de remoción de cobre y de sulfato; E: entrada; S: salida; NE: no especificado. Fuente: Elaboración propia.

localizó en la zona inferior de la columna y la salida del agua tratada en la zona superior (Figura 1). La columna, el sedimento y la solución se esterilizaron en autoclave a 121°C, que equivale a 15 psi (1.05 Kg/cm²) de presión.

El agua residual sintética se preparó en bolsas de suero de 3000 ml con solución de cloruro de sodio al 0.9 %. Al suero se le adicionó una solución estéril concentrada de sulfato de magnesio (MgSO $_4$ ·7H $_2$ O) y lactato de calcio ((C $_3$ H $_5$ O $_3$ ) $_2$ Ca·5H $_2$ O) para obtener una concentración final de 3.89 g/l de sulfato y 0.289 g/l de lactato. También se adicionó una solución estéril con sulfato de cobre a cada bolsa de suero para obtener una concentración final de 10 y 50 mg/l de cobre.

Se elaboraron dos sistemas de flujo continuo, el primer sistema sin consorcio microbiano (control) y el segundo con consorcio microbiano (experimental) para demostrar la eficiencia de remoción de cobre disuelto en una muestra de agua sintética.



**Figura 1**. Sistema experimental para la remoción de cobre disuelto en agua sintética mediante un consorcio microbiano con bacterias sulfato-reductoras.

Fuente: Elaboración propia.

Se establecieron tres fases experimentales:

**Fase 1)** Preparación del sistema. En la columna de sedimento se adicionó sulfato de magnesio al 1 % peso/peso y lactato de calcio al 1 % peso/peso. El sistema experimental se inoculó con el consorcio microbiano con bacterias sulfato-reductoras y se incubó durante 12 días para permitir el crecimiento de los microorganismos en la columna.

**Fase 2)** Adición del agua residual sintética con sulfato, lactato y 10 mg/l de cobre por 3 días.

**Fase 3)** Adición del agua residual sintética con sulfato, lactato y 50 mg/l de cobre por 5 días.

La adición del agua residual sintética se realizó en dos fases como en otros trabajos (Kiran, Pakshirajan & Das, 2017; Kumar & Pakshirajan, 2021) para preparar al consorcio microbiano a mayores concentraciones de cobre (Martins, Faleiro, Barros, Veríssimo, Barreiros & Costa, 2009).

El flujo de agua en el reactor se controló con el equipo de venoclisis y se calculó el tiempo de retención hidráulica (TRH) del sistema con la fórmula: TRH = volumen del reactor (m³) dividido por el gasto del afluente (m³/h) (CONAGUA, 2015). Se midió el potencial redox con un medidor ORP (marca: Oumefar) y el pH con un potenciómetro (marca: BLANDSTRS) del agua en la entrada y en la salida del sistema, durante las fases 2 y 3 del experimento. En la fase 2, de la adición de agua residual sintética con 10 mg/l de cobre, se tomaron muestras cada 12 horas en la entrada y en la salida del sistema. En la fase 3, de agua residual sintética con 50 mg/l de cobre, se tomaron muestras cada 24 horas. Se determinó la concentración de cobre y sulfato con la finalidad de calcular el porcentaje de remoción. Los valores de remoción se calcularon como la diferencia entre la concentración de cobre y sulfato en la entrada y en la salida del sistema.

Para determinar la concentración de cobre se tomaron muestras de agua de 10 ml, se fijaron con HNO<sub>3</sub> 33 % y se utilizó el método de bicinconinato con lectura de absorbancia a 560 nm (HACH, 2000).

Para determinar la concentración de sulfato se tomaron muestras de agua de 1.5 ml y se utilizó un método turbidimétrico con lectura de absorbancias a 420 nm (Kolmert, Wikström & Hallberg, 2000). Se utilizó el espectrofotómetro HACH, DR-2500 y se realizó la curva de calibración y los cálculos matemáticos para expresar la concentración de sulfato y cobre en mg/ml.

# Resultados

Ambos sistemas (control y experimental) se operaron con un TRH de  $8 \pm 2.4$  horas. En la Figura 2, los valores del eje x (tiempo) incluyen las tres fases del experimento:

- 1) Preparación del sistema y el desarrollo del consorcio microbiano en los primeros 12 días (no incluido en la figura 2).
- 2) La adición del agua residual con 10 mg/l de cobre en los días 13 al 15.
- 3) La adición del agua residual con 50 mg/l de cobre en los días 16 al 20.

El potencial redox mostró valores positivos (control >205 mV y experimental >190 mV) en el agua residual sintética antes de entrar a la columna. Al salir del tratamiento, el potencial redox del agua tratada se mantuvo sin cambios aparentes (>193 mV) en el reactor control, mientras que en el reactor experimental se registraron valores negativos. Durante la adición del agua con 50 mg/l de cobre se registró un aumento del potencial redox llegando a un valor positivo (139 mV) esto asociado con un TRH de 6 h; y posteriormente se registraron valores negativos. Se registró un pH más bajo en el agua a la entrada del reactor  $6.84 \pm 0.46$  y más alto a la salida  $7.54 \pm 0.31$ .

En el sistema control, la remoción de cobre fue baja con un valor de 14.59 % y 14.87 %, al adicionar el agua con 10 mg/l y 50 mg/l de cobre, respectivamente. En cambio, en el sistema experimental (con el consorcio microbiano), se logró una remoción de 62.44 % en la fase de 10 mg/l de cobre y hasta 92.84 % en la fase de 50 mg/l de cobre (Figura 3; Tabla 2).

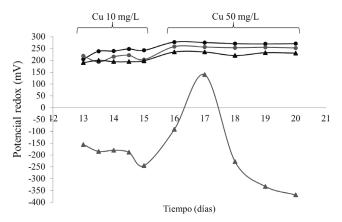
**Tabla 2**. Porcentaje de remoción de cobre en el sistema control y el sistema experimental durante la adición de agua residual sintética con 10 mg/l y 50 mg/l de cobre. Se incluyen valores similares reportados en otras investigaciones.

Agua residual sintética	Porcentaje de remoción						
Agua residuai sintetica	Sistema Control (%)	Sistema Experimental (%)	Valores reportados en otras investigaciones (%)				
Cu 10 mg/L	14.59	62.44	96.7 a 97.1	(Villa-Gomez et al., 2011)			
Cu 50 mg/L	14.87	92.84	91.1 a 93.8 90 a 95	(Kiran et al., 2017) (Kumar & Pakshirajan, 2021)			

Fuente: Elaboración propia.

La remoción de sulfato en el sistema control durante la adición de agua con 10 mg/l y 50 mg/l de cobre fue de 0 % ya que se detectó la misma concentración de sulfato en la entrada y en la salida del reactor

(esto no se muestra en las figuras). En contraste, en el sistema experimental la remoción de sulfato fue del 19 % durante la adición del agua residual sintética con 10 mg/l y 50 mg/l de cobre (Figura 4).



→ Entrada Control → Salida Control → Entrada Experimental → Salida Experimental

**Figura 2.** Potencial redox en el agua residual sintética antes y después del tratamiento en el sistema control y el sistema experimental con consorcio microbiano.

Fuente: Elaboración propia.

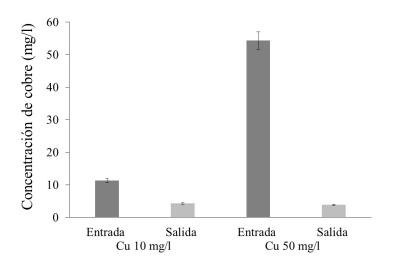
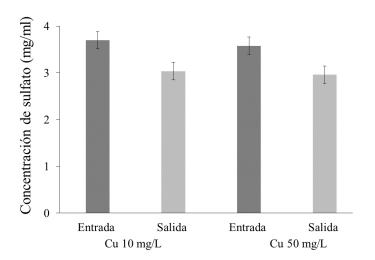


Figura 3. Concentración de cobre en la entrada y en la salida del sistema experimental en la fase de adición de agua residual sintética con 10 mg/l de cobre y con 50 mg/l de cobre. Fuente: Elaboración propia.



**Figura 4**. Concentración de sulfato en la entrada y en la salida del sistema experimental en la fase de adición de agua residual sintética con 10 mg/l de cobre y con 50 mg/l de cobre. **Fuente:** Elaboración propia.

# Discusión

#### **Potencial Redox**

Las bacterias sulfato-reductoras necesitan un ambiente anóxico con un potencial redox inferior a -100 mV (Postgate, 1984; Jong & Parry, 2003). En el sistema control no se generó un ambiente reductor porque no se adicionó el consorcio microbiano y los valores de potencial redox se mantuvieron positivos en la salida del reactor. En contraste, en el sistema experimental se registraron potenciales redox negativos en el agua tratada, lo que indica la generación de un ambiente anaerobio favorable para las bacterias sulfato-reductoras en el sedimento (Figura 2). En esta figura se observa una disminución de los valores de potencial redox, de -156 a -245 mV, durante la adición de agua con 10 mg/l de cobre. Con la adición de agua con 50 mg/l de cobre, se detectó un aumento de potencial redox de -92 y 139 mV; y posteriormente una disminución de este parámetro, hasta alcanzar -228 a -369 mV. Es posible que la disminución del potencial redox se relacione con la aclimatación de las bacterias al cobre (Jong & Parry, 2003).

#### Remoción de cobre

Un potencial redox muy negativo indica condiciones en las que el sulfato es reducido a ácido sulfhídrico y este puede reaccionar con el cobre y precipitar como sulfuro de cobre. Es necesario que la concentración de ácido sulfhídrico sea suficiente para lograr la precipitación del metal (Hidalgo-Ulloa et al., 2022). Gelvez et al., (2008) reportan que la precipitación de hierro requiere una concentración de ácido sulfhídrico por encima de 0.006 mol/l. En el presente estudio, con la cantidad de ácido sulfhídrico generado por las bacterias sulfato-reductoras del consorcio microbiano, se logró la precipitación de cobre con eficiencias de remoción de 62.44 % y 92.84 % durante la adición de agua con 10 y 50 mg/l de cobre, respectivamente. Se observó que, a mayor concentración de cobre, mayor fue la eficiencia de remoción. La precipitación del cobre se representa en las ecuaciones (3) y (4).

$$C_3H_5O_3 + \frac{1}{2}SO_4^{2-} \rightarrow \frac{1}{2}H_2S + HCO_3^- + CH_3COO$$
 (3)

$$H_2S + Cu^{2+} \rightarrow CuS \downarrow +2H^+ \tag{4}$$

#### Remoción de sulfato

La remoción de sulfato fue baja (19 %), esto podría estar relacionado con una limitación de la fuente de carbono orgánico ya que la concentración de lactato en el agua residual sintética fue de 0.289 g/l. Se ha reportado que en una razón másica lactato/sulfato de 0.35, el lactato es el factor limitante para el crecimiento de bacterias sulfato-reductoras (Dar, Kleerebezem, Stams, Kuenen & Muyzer, 2008). Una mayor concentración de lactato podría favorecer la reducción del sulfato, logrando así una mayor remoción de sulfato y, por tanto, una mayor precipitación de cobre.

# Tiempo de Retención Hidráulica

El valor mínimo de TRH para un sistema con bacterias sulfato-reductoras depende de la cantidad de H<sub>2</sub>S que debe producirse para conseguir la precipitación del metal. Es importante considerar la concentración de sulfato del afluente, el flujo de agua, el área de superficie del medio y la duración de la operación (Bilgin & Jaffé, 2019). Un TRH muy corto, puede limitar la precipitación de metales e inhibir la actividad bacteriana. Por otro lado, con un TRH muy largo, gran parte del H<sub>2</sub>S no reaccionará con los metales y saldrá del reactor sin ser utilizado en la precipitación de los metales (Dvorak, Hedin, Edenborn & McIntire, 1992). Se ha demostrado que un aumento del TRH de 12 horas a 10 días solo aumenta la reducción de sulfato en un 8 % adicional (Isa, Grusenmeyer & Vestraete, 1986), por lo que un tiempo de retención mayor al utilizado no es necesario.

Por consiguiente, es deseable un TRH de algunas horas para que las bacterias sulfato-reductoras puedan reducir una cantidad significativa de sulfato y se consiga la precipitación del metal al tratar la corriente de agua contaminada. De acuerdo a Bilgin & Jaffé (2019) el TRH mínimo para reducir suficiente sulfato es 2.53 horas. Sin embargo, al añadir agua con 50 mg/l de cobre y disminuir el TRH a 6 h, se observó un aumento del potencial redox. Esto pudo afectar el proceso de sulfato-reducción y la precipitación de cobre. Con este valor de TRH se obtuvo un porcentaje de remoción de 70 %. Mientras que un TRH mayor a 8 h permitió una remoción del 90 %. Por lo tanto, un TRH entre 9 y 12 horas fue adecuado para la remoción del metal en el agua con 50 mg/l de cobre. Estos valores de TRH son similares a los reportados en otras investigaciones (Tabla 1).

# Potencial de Hidrógeno (pH)

El pH es importante para que las bacterias sulfatoreductoras realicen la reducción de sulfato y se logre la precipitación de metales. Se reporta que estas bacterias necesitan un pH en el intervalo de 5 a 8 (Willow & Cohen, 2003). Los valores de pH en la salida del sistema experimental fueron de 7.3 a 7.7; esto indica que los valores registrados en el sistema fueron adecuados para el desarrollo de bacterias sulfato-reductoras del consorcio microbiano. Se registró un aumento de pH después del tratamiento, ya que el agua presentó un pH de  $6.95 \pm 0.47$  a la entrada del reactor y un valor de  $7.54 \pm 0.16$  a la salida del sistema. Este aumento podría estar relacionado con el proceso de sulfato-reducción ya que el efecto neto del metabolismo es un aumento en el pH (Bilgin & Jaffé, 2019); y coincide con lo reportado por otros investigadores (Tabla 1).

# Toxicidad del cobre en las bacterias sulfato-reductoras

Se ha reportado que concentraciones desde unos pocos mg/l hasta 100 mg/l de metales son tóxicas para especies individuales y consorcios de bacterias sulfato-reductoras (Utgikar, Tabak, Haines & Govind, 2003). La toxicidad está influenciada por muchos factores, como el tiempo, las propiedades químicas y fisicoquímicas del entorno, la composición de especies de la comunidad microbiana y la configuración del sistema (Kieu, Müller & Horn, 2011). Utgikar, Harmon, Chaudhary, Tabak, Govind & Haines (2002) reportan que una concentración de cobre mayor a 50 mg/l puede ser tóxica para las bacterias sulfatoreductoras generando una disminución en la tasa de remoción de cobre debido a efectos negativos en el crecimiento y la actividad microbiana. Hao et al. (1994) reportan que una concentración de 20 mg/l de Cu<sup>2+</sup> durante 45 horas fue tóxica para el consorcio de bacterias sulfato-reductoras en una prueba por lotes. Utgikar, Chen, Chaudhary, Tabak, Haines & Govind (2001) mencionan que una concentración de 12 mg/l de cobre inhibe en el 100 % la actividad metabólica de un consorcio de bacterias sulfato-reductoras en un tiempo de 7 días.

En el presente estudio, el consorcio obtenido del sedimento de Tecolutla podría presentar cierta resistencia a los metales, debido a la contaminación por metales en el río Tecolutla (Juárez-Santillán, MuñozLópez, Extocapan-Molina, Barragán-Díaz & Suárez-Jacobo, 2022). Se ha reportado una concentración de cobre en el agua de la desembocadura del río de 0.103 mg/l y un valor promedio en la zona de Tecolutla de 0.279 mg/l (Mares-Guzmán, 2019). Estos valores sobrepasan el límite máximo permisible de 0.01 mg/l para la protección de la vida acuática en aguas costeras y estuarios (CONAGUA, 2022). La exposición a diferentes concentraciones de metales en el ambiente puede conferir cierta tolerancia a los consorcios microbianos (Martins et al., 2009).

Por otro lado, el diseño experimental en dos fases. utilizando agua residual sintética con 10 mg/l de cobre al inicio, pudo preparar a las bacterias sulfato-reductoras para alcanzar una remoción del 92.84 % en la segunda fase con la concentración de 50 mg/l de cobre (Tabla 2). Es recomendable realizar bioensayos con los consorcios microbianos que se utilizarán en el reactor para determinar el efecto tóxico e inhibitorio de los metales que se desea precipitar (Gelvez et al., 2008). Esto cobra importancia si se desea aplicar un sistema de tratamiento a gran escala, ya que las concentraciones del contaminante, las dimensiones del reactor, las condiciones de operación y el consorcio deben definirse previamente. El afluente debe tener una concentración de metales menor a la concentración inhibitoria para mantener una tasa máxima de sulfurogénesis y por consecuencia una mayor eficiencia de remoción de cobre.

# Conclusiones

El reactor probado alcanzó una eficiencia en la remoción de cobre del 92.84 % en la segunda fase al tratar el agua con una concentración de 50 mg/l de cobre. La precipitación de cobre depende de la cantidad de ácido sulfhídrico generado durante la reducción de sulfato y es importante favorecer el proceso de sulfurogénesis con una concentración de lactato y sulfato adecuados. En el caso del sulfato se observó una baja remoción, que podría explicarse por la baja concentración de lactato (0.289 g/l) pero se podría favorecer la sulfurogénesis aumentando la concentración de la fuente de carbono. Las condiciones registradas con un potencial redox negativo (menor a - 100 mV), un pH cercano a 7 y un TRH entre 8 y 10 h favorecen el proceso de sulfato-reducción y la precipitación de cobre. El sistema probado permitió determinar las condiciones que se deben considerar para el tratamiento de aguas residuales con cobre y que podrían aplicarse para otros metales, para evitar la contaminación de los ambientes acuáticos.

# Referencias

- Bai, H., Kang, Y., Quan, H., Han, Y., Sun, J., & Feng, Y. (2013a). Biore-mediation of copper-containing wastewater by sulfate reducing bacteria coupled with iron. *Journal of Environmental Management*. 129. 350-356. doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.06.050
- Bai, H., Kang, Y., Quan, H., Han, Y., Sun, J., & Feng, Y. (2013b). Treatment of acid mine drainage by sulfate reducing bacteria with iron in bench scale runs. *Bioresource Technology*. 128. 818-822. doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.070
- Barton, L., & Hamilton, A. (2007). Sulphate-reducing bacteria: environmental and engineered systems. Cambridge University Press.
- Bilgin, A., & Jaffé, P. R. (2019). Precipitation of Copper (II) in a Two-Stage Continuous Treatment System Using Sulfate Reducing Bacteria. Waste and Biomass Valorization. 10(10). 2907-2914. doi. org/10.1007/s12649-018-0329-3
- CONAGUA Comisión Nacional del Agua (2015) Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento. Diseño de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales: Reactores Anaerobios de Flujo Ascendente. México: CONAGUA & SEMARNAT, 80 p.
- CONAGUA Comisión Nacional del Agua (2022) Ley Federal de Derechos. Disposiciones Aplicables en Materia de Aguas Nacionales 2022. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, 188 p.
- Dar, S. A., Kleerebezem, R., Stams, A. J. M., Kuenen, J. G. & Muyzer, G. (2008). Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 78(6). 1045-55. doi.org/10.1007/ s00253-008-1391-8
- 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. doi.org/10.1002/bit.260400508
- Fernández-Rendón, C.L., (2022). Uso de una columna de Winogradsky para la generación de potencial eléctrico a través de comunidades microbianas. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa.
- Gelvez, G. A., Laverde, D. A. & Escalante, H. (2008). Remoción de metales pesados de drenajes ácidos de minas de carbón usando bacterias sulfato reductoras. *Revista ION*. 21(1). 71-78.
- Gutierrez-Rojas, A. V., Terrazas-Siles, L. E. & Álvarez-Aliaga M. T. (2009). Cultivo a escala de laboratorio de bacterias sulfato reductoras acidófilas y su aplicación en procesos de biorremediación utilizadas para la precipitación de metales pesados. *BIOFARBO*. 17(1), 1-8.
- HACH. (2000). Manual de Análisis de Agua (2nd ed.). HACH Company.
  Hao, O., Huang, L., Chen, J. M., & Buglass, R. L. (1994). Effects of Metal Additions on Sulfate Reduction Activity in Wastewaters.
  Toxicological & Environmental Chemistry. 46(4). 197-212. doi. org/10.1080/02772249409358113

- Hidalgo-Ulloa, A., Buisman, C. & Weijma, J., 2022. Metal sulfide precipitation mediated by an elemental sulfur-reducing thermoacidophilic microbial culture from a fullscale anaerobic reactor. *Hydrometallurgy*. 213. 105950. doi.org/10.1016/j.hydromet.2022.105950
- Holmer, M., & Storkholm, P. (2001). Sulphate reduction and sulphur cycling in lake sediments: a review. Freshwater Biology. 46(4). 431-451. doi.org/10.1046/j.1365-2427.2001.00687.x
- Isa, Z., Grusenmeyer, S., & Vestraete, W. (1986). Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Technical aspects. *Applied and Environmental Microbiology*. 51(3). 572-579. doi.org/10.1128/aem.51.3.572-579.1986
- 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. doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00165-9
- Juárez-Santillán, L. F., Muñoz-López, S. I., Extocapan-Molina, J., Barragán-Díaz, J. & Suárez-Jacobo, R. C. (2022). El río Tecolutla, contaminación que fluye: Una revisión teórica. Revista Multi-disciplinaria de Ciencia Innovación y Desarrollo. 1(2). 9-18. doi. org/10.56382/tdis.remcid.2022.1.2.9.18
- Karim, N. (2018). Copper and Human Health- A Review. Journal of Bahria University Medical and Dental College. 8(2). 117-122. https://doi.org/10.51985/JBUMDC2018046
- Kieu, H. T. Q., 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. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.04.043
- Kiran, G. M., Pakshirajan, K., & Das, G. (2017). Heavy metal removal from multicomponent system by sulfate reducing bacteria: Mechanism and cell surface characterization. *Journal of Hazardous Materials*. 324. 62-70. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.042
- Kolmert, Å., Wikström, P., & Hallberg, K. B. (2000). A fast and simple turbidimetric method for the determination of sulfate in sulfatereducing bacterial cultures. *Journal of Microbiological Methods*. 41(3). 179-184. doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00154-8
- Kumar, M., Nandi, M. & Pakshirajan, K. (2021). Recent advances in heavy metal recovery from wastewater by biogenic sulfide precipitation. *Journal of Environmental Management*. 278 (part 2). 111555. doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111555
- Kumar, M., & Pakshirajan, K. (2021). Continuous removal and recovery of metals from wastewater using inverse fluidized bed sulfidogenic bioreactor. *Journal of Cleaner Production*. 284. 124769-124778. doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124769
- Mares-Guzmán, F.A. (2019). Toxicidad del cobre y cadmio vía trófica en *Crassostrea virginica* por medio de *Chlorella sp.* Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.
- Martins, M., Faleiro, M. L., Barros, R. J., Veríssimo, A. R., Barreiros, M. A. & Costa, M. C. (2009) Characterization and activity studies of highly heavy metal resistant sulphate-reducing bacteria to be used in acid mine drainage decontamination. *Journal of Hazardous Materials*. 166 (2–3). 706-713. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.11.088.
- Muyzer, G., & Stams, A. (2008). The ecology and biotechnology of sulphatereducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology*. 6(6). 441-454. doi.org/10.1038/nrmicro1892

- Postgate, J. (1984). The sulphate reducing bacteria (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Rogan, B., Lemke, M., Levandowsky, M. & Gorrell, T. (2005). Exploring the Sulfur Nutrient Cycle Using the Winogradsky Column. *The American Biology Teacher*. 67(6). 348-56. doi.org/10.1662/0002-7685(2005)067[0348:ETSNCU]2.0.CO;2.
- Rundell, E. A., Banta, L. M., Ward, D. V., Watts, C. D., Birren, B. & Esteban, D.J. (2014) 16S rRNA Gene Survey of Microbial Communities in Winogradsky Columns. *PLoS One*. 9. e104134. doi.org/10.1371/journal.pone.0104134
- Utgikar, V. P., Chen, B. Y., Chaudhary, N., Tabak, H. H., Haines, J. R., & Govind, R. (2001). Acute toxicity of heavy metals to acetateutilizing mixed cultures of sulfate-reducing bacteria: EC100 and EC50. Environmental Toxicology and Chemistry. 20(12). 2662-2669. doi.org/10.1002/etc.5620201202
- Utgikar, V. P., Harmon, S. M., Chaudhary, N., Tabak, H. H., Govind, R., & Haines, J. R. (2002). Inhibition of sulfate-reducing bacteria by metal sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage. *Environmental Toxicology*. 17(1). 40-48. doi.org/10.1002/tox.10031

- Utgikar, V. P., Tabak, H. H., Haines, J. R., & Govind, R. (2003). Quantification of toxic and inhibitory impact of copper and zinc on mixed cultures of sulfate-reducing bacteria. *Biotechnology and Bioengineering*. 82(3), 306-312. doi.org/10.1002/bit.10575
- Villa-Gomez, D., Ababneh, H., Papirio, S., Rousseau, D. P. L., & Lens, P. N. L. (2011). Effect of sulfide concentration on the location of the metal precipitates in inversed fluidized bed reactors. *Journal* of *Hazardous Materials*. 192(1). 200-207. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.05.002
- Willow, M. A., & Cohen, R. R. H. (2003). pH, Dissolved Oxygen, and Adsorption Effects on Metal Removal in Anaerobic Bioreactors. *Journal of Environment Quality*. 32(4). 1212. doi.org/10.2134/jeq2003.1212
- Zhang, M., & Wang, H. (2013). Simultaneous Removal of Copper, Zinc, and Sulfate from Coal Mine Waste in a Laboratory SRB Bioreactor Using Lactate or Ethanol as Carbon Sources. *Mine Water and the Environment*. 32(4). 314-320. doi.org/10.1007/s10230-013-0233-9