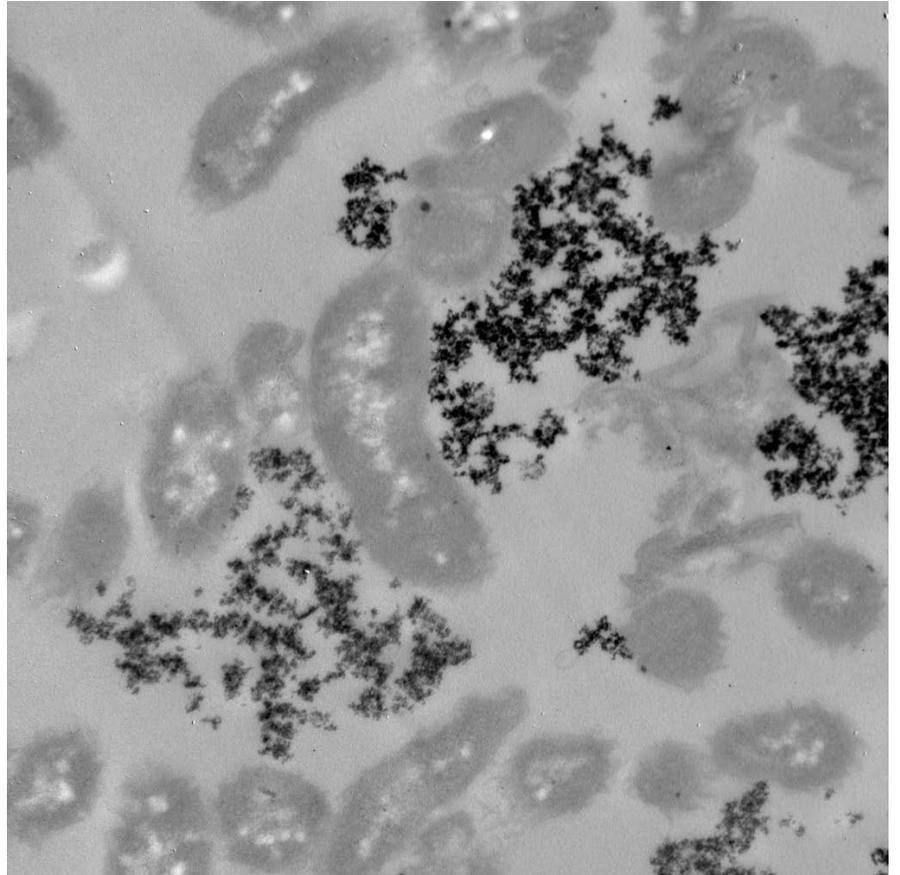


# Revisión de los procesos de remoción y recuperación de metales pesados a través de *Desulfovibrio alaskensis* 6SR, bacteria sulfato reductora

María Isabel Neria-González<sup>a</sup>, Ricardo Aguilar-López<sup>b</sup>,  
Leandro Rodrigo González-González<sup>a</sup>



## Acerca de los autores...

<sup>a</sup> División de Ingeniería Química y Bioquímica del Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec  
<sup>b</sup> Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV-IPN.

## RESUMEN

**E**l *Desulfovibrio alaskensis* 6SR es una bacteria sulfato reductora que exhibe una alta capacidad de resistencia metálica en comparación a otras especies sulfato reductoras y otros microorganismos. Su metabolismo sulfato reductor, la capacidad de producir expolisacáridos y de presentar otro tipo de mecanismos para abatir la presencia de iones metálicos, hacen a la cepa 6SR un agente biológico con cualidades importantes en el desarrollo de procesos para la eliminación y recuperación de metales. La presente revisión tiene por objetivo mostrar los resultados obtenidos por nuestro equipo de trabajo referente al estudio integral multidisciplinario del potencial biotecnológico de la cepa 6SR como un fuerte componente biológico en el diseño y desarrollo de procesos de remoción y recuperación de metales pesados considerados como altamente tóxicos.

**Palabras clave:** Bioprocesos, remoción metálica, sulfato reducción.

## ABSTRACT

*The Desulfovibrio alaskensis 6SR is a sulfate reducing bacterium that exhibits a high metallic resistance whit respect to other sulfate-reducing bacteria, included other microorganisms. Their reducing-sulfate metabolism, the ability to secrete extracellular polymeric substances and to present other type of metallic resistance mechanisms allows at D. alaskensis 6SR to be considering as an biological agent for the removal and recovery of metals. The objective of the present review is to show the results obtained by our work team, these derivate of a multidisciplinary study of the biotechnological potential of the 6SR strain as a strong biological component on the design and development of processes for the removal and recovery of heavy metals considered as highly toxic.*

**Key words:** Bioprocesses, metal remoral, sulfate reduction.

## INTRODUCCIÓN

El aumento de la contaminación de las aguas residuales domésticas e industriales por metales pesados, ha generado graves problemas de salud pública, ya que no son degradables y son altamente tóxicos, incluso en muy bajas concentraciones, debido a sus características mutagénicas y carcinogénicas, lo cual pone en riesgo cualquier forma de vida (EPA, 1998; Cheung & Gu, 2000). Los procesos de tratamiento por contaminación metálica se reducen a la movilización y/o inmovilización de los mismos. En la naturaleza, la movilización de los metales pesados está claramente expuesta dentro los ciclos biogeoquímicos, en donde se incluye la participación de los microorganismos. Este hecho es estudiado por la biotecnología ambiental que se enfoca a investigar el potencial de los microorganismos, principalmente bacterias y hongos, para el desarrollo de procesos de tratamiento de contaminantes metálicos. El uso de los microorganismos como agentes de remoción metálica es una alternativa a los procesos fisicoquímicos o bien un complemento de éstos para alcanzar los estándares ambientales de calidad más exigentes en el tratamiento de los residuos, especialmente para los efluentes.

En general, los procesos biológicos para la recuperación de ambientes contaminados presentan ciertas ventajas con respecto de las tecnologías tradicionales, ya que suelen ser más económicos, menos contaminantes y selectivos. Los procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales deben ser lo suficientemente flexibles a las fluctuaciones en la en cantidad y

composición del o los contaminantes presentes en el efluente, además de ser eficientes, confiables, operar de manera continua como en la mayoría de los procesos fisicoquímicos, y ser lo suficientemente robustos en sus sistemas de monitoreo, predicción, diagnóstico de fallas y control para la optimización del proceso.

Los microorganismos tienen la capacidad para degradar una gran variedad de contaminantes orgánicos e inorgánicos, pero en el caso de los metales, los microorganismos tienen la capacidad de modificar su estado de oxidación, ya sea por la excreción de un metabolito o bien por la acción enzimática, incluyendo la capacidad de acumular los iones metálicos en cuerpos de inclusión al interior de la célula y mediante procesos de absorción/adsorción a nivel de la membrana celular y de las envolturas extracelulares (Das *et al.*, 2008, Silver & Harmon, 2002).

Un ejemplo son las bacterias sulfato reductoras (BSR), que mediante la producción de  $H_2S$  y la presencia de iones metálicos reaccionan y se forman sulfuros metálicos insolubles y precipitan, además de ofrecer otros mecanismos de remoción metálica.

La presente revisión tiene como objetivo mostrar los resultados obtenidos por nuestro equipo de trabajo referente al estudio integral multidisciplinario del potencial biotecnológico de la cepa 6SR como un fuerte componente biológico en el diseño y desarrollo de procesos de remoción y recuperación de metales pesados considerados como altamente tóxicos. La construcción de modelos cinéticos para el proceso sulfato reductor de *D. alskensis* 6SR permitió evaluar el desempeño del proceso en la remoción de cadmio y cromo en plantas virtuales de tratamiento de aguas residuales, obteniéndose resultados muy satisfactorios.

## **Bacterias Sulfato Reductoras (BSR)**

Las BSR constituyen un grupo de **procariotes** anaerobios obligados con una diversidad morfológica y fisiológica; algunas BSR son capaces de sobrevivir en presencia de oxígeno, pero no se ha observado crecimiento (Dilling & Cypionka, 1990). Las características morfológicas de estas células varían considerablemente y se han descrito distintas formas celulares, entre las que se encuentran: bacilos, vibrios, cocos y espirilos. (Widdel & Bak, 1992). Fisiológicamente se clasifican en tres grupos: Eubacterias gram negativas, Eubacterias gram positivas y Arqueas.

La importancia de este grupo ha despertado un gran interés, ya que en la década pasada se dio un avance en la taxonomía y el análisis filogenético de las BSR basado en el gen 16S rRNA, clasificándolas en cuatro grupos filogenéticos: BSR mesofílicas gram negativas, BSR formadoras de esporas gram positivas, bacterias y arqueas termofílicas sulfato reductoras termofílicas (Castro *et al.*, 2000). El género *Desulfotomaculum* es el más representativo de las BSR Gram positivas, y las especies de éste género se caracterizan por formar esporas. Las BSR gram negativas pertenecen a la subdivisión  $\delta$ -Proteobacteria, en donde se existen dos familias relevantes de BSR: *Desulfovibrionaceae* y *Desulfobacteriaceae*. Los principales géneros de la familia *Desulfobacteriaceae* son: *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacterium*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema* y *Desulfotulus*. La familia *Desulfovibrionaceae* se constituye primordialmente por especies del género *Desulfovibrio* (Voordouw, 1995). La mayoría de las BSR se desarrollan a un intervalo de pH entre 7.0 y 7.8, pero algunas de ellas tienen la capacidad de tolerar ambientes ácidos (pH 4.0), así como especies que pueden crecer en pH alcalino (pH 9.5) (Barton & Tomei,

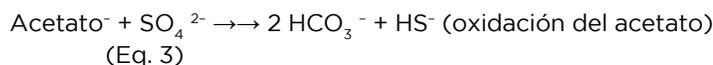
1995). Un factor muy importante es la temperatura óptima de crecimiento, puesto que la mayoría de las BSR son mesófilicas y se desarrollan entre los 25 y 40 °C (Characklis & Widerer, 1989).

## Metabolismo

Las capacidades oxidativas y metabólicas de las BSR varían de acuerdo al género. Las especies de este conjunto microbiano heterogéneo crecen quimiorganotróficamente, y utilizan una variedad de ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, hidrocarburos y compuestos aromáticos como fuente de carbono y de energía, reduciendo el sulfato a sulfuro de hidrógeno (Eq. 1) (Postgate, 1981; Widdel & Pfennig, 1984).



Algunas BSR crecen quimiolitotróficamente cuando utilizan como donador de electrones al  $\text{H}_2$  para reducir al sulfato, y otras crecen autotróficamente al utilizar  $\text{CO}_2$  como única fuente de carbono (Voordouw, 1995). Los polisacáridos y sustratos poliméricos no son utilizados por las BSR, asimismo la glucosa tampoco es consumida, pero ciertas especies del género *Desulfotomaculum* pueden fermentarla, aunque este hecho es muy raro en las BSR (Hamilton, 1998; Postgate, 1981; Widdel & Pfennig, 1984). Entre los compuestos orgánicos más utilizados se encuentran: lactato, acetato, piruvato, etanol y propanol (Gibson, 1990), también se caracterizan por la oxidación completa e incompleta de la fuente de carbono, produciendo en esta última acetato (Figura 4). Por otra parte, la mayoría de las BSR son capaces de crecer en presencia de acetato como única fuente de carbono. Las especies que utilizan al acetato lo oxidan hasta  $\text{CO}_2$  y reducen al sulfato a sulfito, como una reacción energética intermediaria, la oxidación la realizan por el ciclo de ácidos tricarbóxicos modificado o por la vía acetyl-CoA (Hamilton, 1998; Postgate, 1981).



Por otra parte, las BSR no sólo utilizan al sulfato como aceptor final de electrones, sino que además pueden reducir al sulfito, tiosulfato y azufre elemental (como es el caso de las *Desulfuromonas*), así como el nitrato, hierro III y otros iones metálicos (Hamilton, 1998; Postgate, 1981; Widdel & Pfennig, 1984). Por su naturaleza anaerobia, las BSR son muy sensibles a los medios aerobios, por lo que requieren de la ausencia del oxígeno para su crecimiento y de un bajo potencial redox (-100 mV) (Barton & Tomei, 1995; Gibson, 1990). En ambientes naturales se ha observado que la actividad metabólica de las BSR es máxima cuando se encuentran formando biopelículas (Gibson, 1990).

## Producción de sustancias expoliméricas y formación de biopelículas

La excreción de polímeros en las BSR es de gran importancia en especies de

vida libre, ya que son útiles como mecanismos de defensa y en la formación de biopelículas. La formación de la biopelícula está asociada a la producción de exopolímeros compuestos, principalmente de sacáridos (EPS), que actúan como un agente adherente a un sustrato sólido, asimismo la composición y estructura permiten la retención de agua y nutrientes. Sin embargo, el EPS juega un papel importante en la bioadsorción de metales pesados, debido a la presencia de grupos funcionales como carboxilos, aminos e hidroxilos capaces de secuestrar a los iones metálicos entre otras sustancias (Zhang *et al.*, 2006).

La secreción de EPS a partir de la acción de las BSR fue descrita por primera vez en cultivos por lote de *Desulfovibrio desulfuricans*, usando medios que contenían extracto de levadura, apreciándose una proliferación sésil de una sustancia viscosa amorfa a lo largo del recipiente de vidrio, y en ese momento se pensó en la producción de un polisacárido (Senez & Cattaneo-Lacombe, 1953). En 1955 Crossman y Postgate observaron que en cultivos viejos de *D. desulfuricans* y en cultivos en continuo de *Desulfovibrio vulgaris* se formaba esta capa pegajosa en mayor cantidad (Wingender *et al.*, 1999). En 1963, Ochynsky y Postgate realizaron un análisis de cromatografía en papel del polímero producido por estas BSR y determinaron la presencia de proteínas y polisacáridos, que no estaban relacionados a la composición química de la pared celular. Sin embargo, con este método sólo se logró detectar la presencia de un tipo de carbohidrato: manosa; por consiguiente, el polímero extraído fue descrito como un mucopolisacárido. De igual forma, se encontró que la producción del mucopolisacárido es mayor en especies marinas de *Desulfovibrio*. Treinta años más tarde, se observó la estructura del exopolisacárido y su relación en la formación de biopelículas de BSR sobre superficies de acero templado y acero inoxidable mediante el uso de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Microscopía Electrónica de Barrido Ambiental (ESEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) (Beech *et al.*, 1991; Coutinho *et al.*, 1993; Neria *et al.*, 2006).

Actualmente, una variedad de técnicas analíticas, tales como ensayos de calorimetría, cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), electroforesis en gel (SDS-PAGE), así como espectroscopia infrarroja (FTIR) han ayudado al análisis del EPS en diferentes cepas de BSR de agua dulce y marinas, tanto en cultivos suspendidos como en biopelículas (Beech & Gaylarde 1991). Estos estudios han demostrado que los polisacáridos producidos por diferentes especies de BSR contienen hexosas neutrales, amino azúcares y ácido urónico en mayor o menor concentración, además de la presencia de proteínas y ácidos nucleídos, como parte de la liberación del exopolímero en la fase líquida (EPS libre) o secretado por células sétiles (EPS origina una biopelícula). El análisis por cromatografía de gases espectrometría de masas ha detectado diferentes tipos de carbohidratos como glucosa, manosa, galactosa, ribosa, ramnosa, xilosa y alosa, los cuales están presentes en el EPS de *Desulfovibrio desulfuricans* y subespecies de ésta, así como en *Desulfovibrio* spp. (Braissant *et al.*, 2007).

## **Género *Desulfovibrio***

Las especies del género *Desulfovibrio* son las más estudiadas, y como se mencionó arriba, la primera de ellas fue descrita por Postgate. Las especies tienen forma de bacilos curvos (vibrios), algunas son espiroidales y ocasionalmente se presentan como bacilos rectos; la movilidad se debe a flagelos polares (lofotricos). La morfología depende de la edad del cultivo y de las condiciones ambientales; en cultivos jóvenes la morfología es constante, mientras que en cultivos viejos o en condiciones de estrés las células son polimórficas, i.e. Las células jóvenes de *D. africanus* son sigmoides bien definidas; las *D. salexigens* tiene forma de bacilos regordetes, y las *D. gigas* son un bacilo curvo muy largo.

Sin embargo, los cultivos viejos de *D. salaxigens* presentan una forma de cocoide y sufren plasmólisis, concentrándose el citoplasma en un sector de la esfera. Nutricionalmente son bacterias muy similares, los cultivos son enriquecidos fácilmente con lactato o CO<sub>2</sub>-hidrógeno, requieren de un agente reductor para su crecimiento y en algunos casos de vitaminas. La mayoría de las especies oxidan parcialmente el lactato a acetato (Eq. 2), pero en algunos casos el acetato y otras sustancias orgánicas pueden oxidarse completamente a CO<sub>2</sub>; los carbohidratos rara vez son utilizados como fuente de carbono. Algunas cepas presentan un crecimiento mixotrófico, debido a que son capaces de crecer en presencia de H<sub>2</sub> como fuente de energía y asimilar el acetato más el CO<sub>2</sub> o extracto de levadura como fuente de carbono. Otras especies y subespecies son halófilos moderados, crecen a temperatura entre los 25 y 35 °C, el límite superior es de 44 °C, aunque ciertas especies pueden crecer debajo de 0 °C; y otras especies son reportadas como termófilas. En general, las especies de *Desulfovibrio* crecen en medios de cultivos sencillos, como los descritos por Postgate, llamados B, C, D y E. (Postgate, 1981). La mayoría de las especies tienen la desulfoviridina-sulfito-reductasa (DSR) y contienen el único tetrámero de citocromo c<sub>3</sub>, por lo que presentan un metabolismo sulfato reductor, aunque pueden utilizar otros compuestos sulfurados (sulfito, tiosulfato, etcétera) como aceptores finales de electrones, reduciéndolos a sulfuro de hidrógeno, y en algunos casos pueden reducir el nitrato. Sólo algunos miembros del género presentan un metabolismo fermentativo. También, se ha reportado que las especies de *Desulfovibrio* tienen la capacidad de reducir algunos iones metálicos como el uranio (VI), el cromo (VI) y el hierro (III), así que tienen un potencial en procesos de biorremediación (Cabrera *et al.*, 2002).

### ***Desulfovibrio alaskensis* 6SR**

El *Desulfovibrio alaskensis* se aisló de un pozo de petróleo amargo en Purdu Bay, Alaska, y su descripción morfológica corresponde a vibrios gram negativos,

Características	<i>D. alaskensis</i> **	<i>D. alaskensis</i> 6SR
Tamaño de célula (µm)	0.5 × 1.5	0.45 × 1.7
Intervalo de temperatura (°C)	10-45 (37)	15-50 (45)
Intervalo de salinidad (% w/v, NaCl)	0-10 (2.5)	10-50 (30)
Intervalo de pH	6.5-8.5 (7)	5.5-9.0 (7)
Principal fuente de electrones y de carbono		
Lactato	+	+
Oxidación del lactato	Incompleta	Incompleta
Aceptores finales de electrones		
Sulfato	+	+
Sulfito	+	+
Tiosulfato	+	-
Fermentación en ausencia de sulfato		
Etanol	+	ND
Butanol	+	ND
Tasa de crecimiento (µ <sub>max</sub> · h <sup>-1</sup> )	0.133	0.360

**Tabla 1**

Características de crecimiento y metabólicas de *Desulfovibrio alaskensis* VS cepa 6SR.

móviles debido a que presentan un flagelo polar. El lactato es la principal fuente de carbono y energía, se considera una bacteria mesolítica y halofílica moderada (2.5% de NaCl) (Feio *et al.*, 2004). Filogenéticamente guarda una fuerte relación con el *Desulfovibrio vietnamensis*, sin embargo, la diferencia entre ambas especies radica en la hibridación de DNA-DNA y su perfil proteico. En trabajos posteriores se ha reportado que el *D. alaskensis* está presente en yacimientos petroleros mexicanos y se asocia a la formación de biopelículas en los ductos, causando biocorrosión metálica (Neria *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2004; Padilla *et al.*, 2006).

La cepa 6SR fue aislada de una biopelícula formada dentro de un oleoducto del Sureste de México y su caracterización filogenética la posiciona como *D. alaskensis* (Neria *et al.*, 2006). Las diferencias entre la cepa 6SR y *D. alaskensis* (cepa aislada en Alaska) se muestran en la Tabla 1.

Los valores óptimos están entre paréntesis. (+) Buen crecimiento, (ND) No determinado. \* La velocidad se determinó en medio Postgate C a 37 °C. \*\* Feio *et al.*, 2004.

La cepa *Desulfovibrio alaskensis* 6SR es capaz de crecer a una concentración óptima del 3.0% de NaCl, a pH de 7 y 45 °C, produciendo EPS para la formación de biopelículas en vida libre y en cultivos axénicos. En ambientes naturales, la formación de biopelículas le permite sobrevivir bajo condiciones de estrés, le confiere protección a los cambios ambientales y la presencia de sustancias tóxicas. En cultivos axénicos de *D. alaskensis* 6SR se determinó la producción de EPS bajo condiciones óptimas de crecimiento en medio de Postgate C (Postgate 1981), y se observó que la producción de EPS es mayor cuando se alcanza una concentración aproximada de 560 mg/L de H<sub>2</sub>S. El polímero es producido como un mecanismo de protección ante la generación y acumulación de H<sub>2</sub>S que es un compuesto tóxico y corrosivo, y que pese a la naturaleza sulfato reductora de *D. alaskensis* 6SR su crecimiento se ve inhibido por la presencia del sulfuro de hidrógeno (Jang *et al.*, 2005; Laspidou & Rittmann 2002; Sánchez Rosas, 2010). La caracterización química del EPS con base en la composición de monosacáridos se determinó por espectroscopía y corresponde a los azúcares reportados en otras especies del mismo género (Tabla 2) (Braissant *et al.*, 2007).

Monosacáridos	<i>Desulfobacterium autotrophicum</i> *	<i>Desulfovibrio</i> H0407*	<i>Desulfovibrio</i> LM1*	<i>Desulfovibrio alaskensis</i> 6SR <sup>†</sup>
Ramnosa	n.d.	46.2	n.d.	31.4
Xilosa	28.0	7.2	10.6	n.d.
Manosa	15.2	16.2	14.0	n.d.
Galactosa	9.0	1.3	19.3	5.2
Glucosa	47.8	29.1	56.1	14.8
Arabinosa	n.d.	n.d.	n.d.	48.6
Referencia	Braissant <i>et al.</i> , 2007			En este trabajo

**Tabla 2**

Composición de azúcares monoméricos en el EPS producido por BSR.

\*La composición se reporta en % peso. (n.d.) no determinado en este trabajo. \* Valores obtenidos de cultivos de 120 h. • Valores obtenidos de cultivos de 312 h.

Con base en los datos reportados, la cepa 6SR fue capaz de producir una mayor cantidad de EPS (780 mg/L) con respecto a *Desulfovibrio* H0407 (239 mg/L) y *Desulfovibrio* LM1 (169 mg/L), obteniéndose un rendimiento de 6.14 mg SPE/mg de proteína celular, y la producción de EPS se vio incrementada en la fase estacionaria (Braissant *et al.*, 2007, Neria *et al.*, 2012). Por otra parte, el EPS tienen un importante rol en la adsorción de los metales pesados por sus propiedades quelantes, lo que representa un factor importante en la remoción de metales (Neria *et al.*, 2006).

## ***Desulfovibrio alaskensis* 6SR y su resistencia a metales pesados**

Las BSR están siendo estudiadas como agentes de remoción de metales pesados en los efluentes contaminados, debido a los diferentes mecanismos de acción que presentan frente a los iones metálicos, los cuales pueden ser empleados para lograr una mayor eficiencia de remoción metálica. Sin embargo, las especies de BSR hasta ahora reportadas toleran concentraciones menores a 100 ppm, mientras que la *D. alaskensis* 6SR es capaz de tolerar concentraciones superiores a las reportadas a otras especies del mismo género (Tabla 3). En consecuencia, *D. alaskensis* 6SR puede ser una bacteria con alto potencial biotecnológico en procesos de remoción y recuperación de metales en forma de sulfuros metálicos, principalmente.

(Especies)	Cr <sup>+6</sup>	Cd <sup>+2</sup>	Zn <sup>+2</sup>	Pb <sup>+2</sup>
	(mg/L)			
<i>Desulfovibrio alaskensis</i> 6SR	18	200	130	200
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	5	20	20	80
<i>Desulfovibrio magneticus</i>	---	1.3	---	---
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	---	50	50	1.2
<i>Desulfovibrio sp.</i>	15 (Cr <sup>+3</sup> )	---	15	--

**Tabla 3**

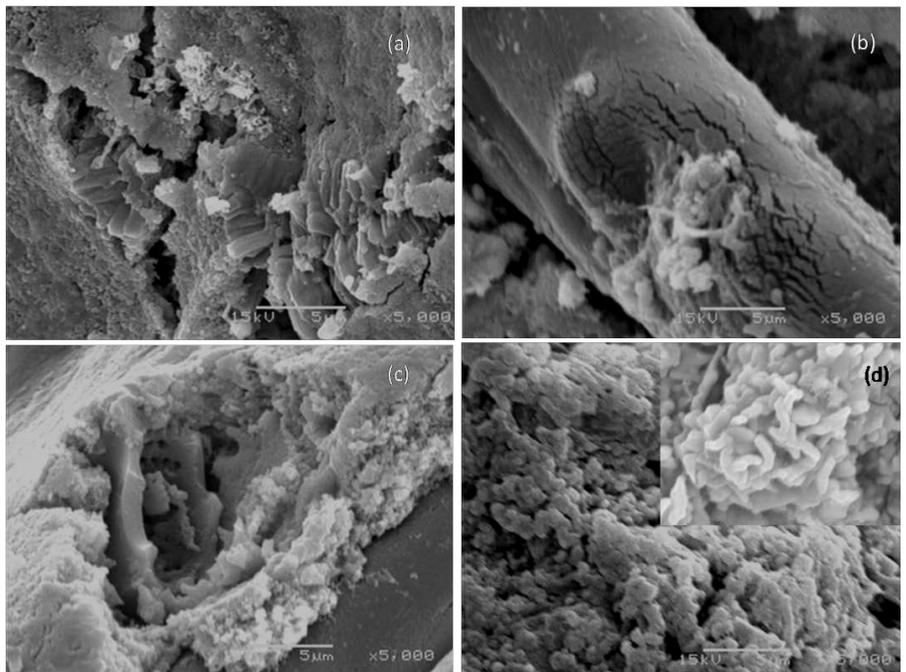
Concentraciones mínimas inhibitorias de iones metálicos para diferentes especies de *Desulfovibrio*.

## **Evaluación de la remoción de iones metálicos por *D. alaskensis* 6SR**

La mayoría de las sales metálicas son solubles en agua y forman soluciones acuosas, por consiguiente, no se pueden separar por sistemas físicos ordinarios. Los métodos fisicoquímico como la precipitación química, óxido-reducción,

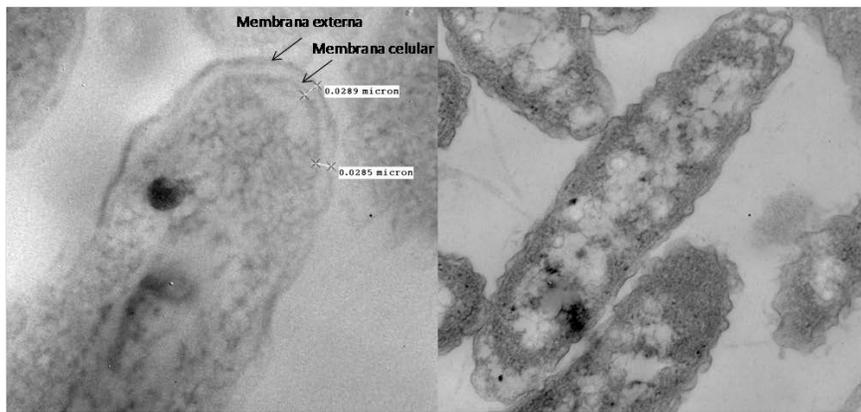
tratamientos electroquímicos, evaporación-recuperación, filtración, intercambio iónico y tecnología de membranas, han sido ampliamente utilizadas para eliminar iones en aguas residuales industriales (Igwe y Abia 2006; *et al.* 2008). Estos procesos pueden ser eficientes a concentraciones altas (>1000 mg/L), pero en soluciones del orden 1-100 mg de metal disuelto por litro llegan a ser ineficaces o costosos, o bien producen grandes cantidades de lodos residuales, que generalmente son desechados a cielo abierto o, en el mejor de los casos, incinerados y las cenizas son confinadas en sitios especiales (Das *et al.*, 2008). En los métodos por intercambiador de cationes se han sintetizado silicatos de polianilina  $\text{Sn}^{4+}$  para eliminar cadmio en soluciones diluidas; los análisis realizados en estos sistemas mostraron que sólo es posible extraer del 80 al 92% de cadmio a partir de concentraciones entre 200 a 1,000 mg/L de cadmio, respectivamente (Naushad *et al.*, 2013).

En cuanto a los métodos de eliminación de cromo hexavalente de las aguas residuales industriales, está la reducción química a  $\text{Cr}^{3+}$ , seguida de una precipitación en condiciones alcalinas, así como el intercambio iónico, la ósmosis inversa, el tratamiento electroquímico y la adsorción (Dabrowski *et al.*, 2004, Peña *et al.*, 2016), que demandan grandes cantidades de productos químicos y de energía, así como la generación de lodos tóxicos u otros residuos que son difíciles de manejar y tratar. En este contexto, la cepa *D. alaskensis* 6SR ha sido estudiada con el propósito de ser utilizada en procesos de remoción de metales, principalmente para los iones metálicos:  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$ . El análisis basado en espectroscopía de adsorción atómica mostró un porcentaje de remoción del 78.3% para 18 mg/L  $\text{Cr}^{6+}$  y para 150 mg/L  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  fue mayor del 98%. El principal mecanismo de remoción es la precipitación de los sulfuros metálicos correspondientes, seguido de una adsorción de éstos por la producción de EPS y una ligera acumulación metálica a nivel del espacio periplásmico, tal como se observó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) (Figuras 1 y 2) (Avilés Trejo & Salazar López; López-Pérez *et al.* 2015, Peña Caballero, 2012).



**Figura 1**

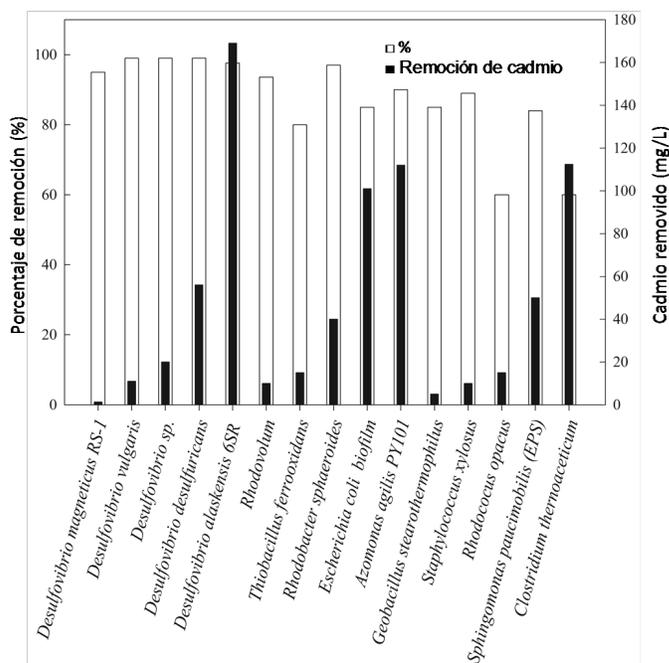
Micrografías del exo-polisacárido (EPS) obtenidas del crecimiento de *D. alaskensis* 6SR en presencia de iones metálicos. (a) Adsorción de cadmio en el EPS, (b) Adsorción de zinc en el EPS; (c) Adsorción de plomo en el EPS; (d) Biopelícula de *D. alaskensis* 6SR sin iones metálicos. Las micrografías fueron obtenidas por TEM en la Central de Microscopía de la ENCB-IPN.



**Figura 2**

Micrografías de las células de *Desulfovibrio alaskensis* 6SR. La imagen de la derecha corresponde a células expuestas a cromo hexavalente, las células no fueron contrastadas con acetato de plomo, así que el contraste de las estructuras externas indica la acumulación de cromo a nivel de membrana externa y membrana celular al compararlas con células con contraste y crecidas en ausencia de cromo.

Los mecanismos de remoción para los iones de zinc, plomo y cadmio se relacionan con la producción de  $H_2S$ , generado de la respiración anaerobia de la bacteria, reaccionando con el ion metálico y formando los sulfuros de zinc, plomo y cadmio; estos sulfuros metálicos en solución acuosa son insolubles, permitiendo métodos de recuperación sencillos. La cepa *D. alaskensis* 6SR presenta una gran capacidad de remoción de cadmio (170 mg/L), en comparación con algunos métodos fisicoquímicos y otros microorganismos, que requieren condiciones especiales y grandes extensiones de área, como el caso de las microalgas o los hongos que generan gran cantidad de biomasa; especies del mismo género como *Desulfovibrio sp.* (20 mg/L), *D. vulgaris* (11 mg/L), *D. magneticus* (1.3 mg/L), *D. desulfuricans* (56 mg/L) presentan una menor capacidad de remoción de cadmio (Figura 3) (Arakaki *et al.*, 2002, Naz *et al.*, 2005). Aunque la *D. alaskensis* 6SR es una bacteria anaerobia, podría pensarse que las condiciones de cultivo y manipulación son una desventaja, sin embargo es todo lo contrario. El crecimiento bacteriano bajo condiciones anaerobias produce menos biomasa y su simple mecanismo de remoción metálica permite una fácil recuperación del CdS, el cual tiene un valor agregado en la manufactura de células solares y puede obtenerse sin contaminación de óxidos (López-Pérez *et al.* 2015; Pan *et al.*, 1997).



**Figura 3**

Comparación del porcentaje de remoción de cadmio con *Desulfovibrio Alaskensis* 6SR y otros microorganismos no sulfato reductores.

La síntesis directa de nanopartículas de CdS empleando un sistema sulfato reductor de *D. alaskensis* 6SR fue estudiado como un método alternativo a las síntesis químicas que evitan la contaminación por la formación de óxidos y en particular el procesamiento celular. Los resultados indicaron con éxito que dicho método puede producir nanocristales de CdS con fases cúbicas y hexagonales; el tamaño del nanocristal tiene una estrecha distribución de tamaños con poca dependencia de la concentración de cadmio, pero la presencia de la fase cristalográfica cúbica como el orden cristalino, disminuye a medida que aumenta la concentración de cadmio. Los resultados obtenidos a través de la difracción de rayos X indicaron que el método promueve la formación de nanocristales de alta calidad estructural cuando se usan bajas concentraciones de cadmio (Rangel-Chávez *et al.*, 2015). La metodología añade valor al proceso de remoción del cadmio mediante la producción de un material semiconductor con un potencial de uso en la industria fotovoltaica y sería fácilmente escalable.

En el caso del cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ) algunas especies del género *Desulfovibrio*, tienen la capacidad de reducir el  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  por medio de un mecanismo de oxidación-reducción dado por la acción de una deshidrogenasa y la presencia del citocromo  $c_3$ , como se ha reportado para *D. vulgaris* (Avilés Trejo & Salazar López). Subsecuentes estudios derivados de su gran tolerancia al cromo hexavalente, fueron realizados para demostrar si *D. alaskensis* 6SR es capaz de reducir el  $\text{Cr}^{6+}$  vía enzimática. Los resultados revelaron que la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  se debe a la producción de  $\text{H}_2\text{S}$ , aun cuando los experimentos realizados incluyeron células lavadas libres de  $\text{H}_2\text{S}$ , tal como lo sugiere Klonowska y colaboradores (2008). Estos autores observaron que al inocular más cromo en un medio de cultivo con células lavadas obtenidas de un cultivo fresco de *D. vulgaris* Hildenborough, la sulfato reducción se inhibe por 20 horas y durante este periodo se registró la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  vía enzimática; seguido de este tiempo, inició la sulfato reducción y el crecimiento celular. Sin embargo, este hecho no se observó en *D. alaskensis* 6SR, además ni la sulfato reducción y ni el crecimiento celular se vio afectada por el cromo. Esto también fue corroborado por la ausencia de una enzima cromo-reductasa a través de los genes relacionados, en donde no se obtuvo un resultado favorable. Sin embargo, se encontraron elementos genéticos relacionados con los mecanismos de resistencia al cromo que ayudan a explicar su gran resistencia metálica (Fukuda *et al.*, 2008, Morón Vázquez, 2015).

Por otra parte, el tipo de mecanismo de reducción del cromo hexavalente presentado por la cepa 6SR fue incluido a un proceso de tratamiento de aguas residuales con alto contenido de cromo (>1500 mg/L), en donde el primer paso en la eliminación de éste incluye un método electroquímico que disminuye la carga de  $\text{Cr}^{6+}$  a una concentración menor de 20 mg/L; en este punto, el proceso electroquímico se vuelve inconveniente, ya que el sistema requiere de mayor energía y es costoso para llevar la concentración de 0.5 mg/L de cromo, tal como lo exigen las normas ambientales. Entonces, el segundo paso es acoplar un sistema sulfato reductor en donde se genera  $\text{H}_2\text{S}$ , y éste es arrastrado por una corriente de  $\text{N}_2$  a un sistema final de depuración del cromo remanente en el agua tratada, previamente por el proceso electroquímico. Bajo ese sistema de tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de  $\text{Cr}^{6+}$  se logró alcanzar los niveles impuestos por las normatividades ambientales (Peña, 2012, Peña *et al.*, 2016)

## Modelado y control del proceso sulfato reductor

Dada la importancia de la sulfato reducción en la biotecnología ambiental en el desarrollo de procesos de eliminación de contaminantes, como es el caso de los metales pesados en solución, la bacteria *Desulfovibrio alaskensis* 6SR tiene las cualidades y capacidades para ser un excelente agente biológico en la remoción y recuperación de metales pesados, tal como se ha expuesto en esta revisión. En consecuencia, el proceso sulfato reductor de la bacteria y la remoción de metales se ha expuesto en diferentes modelos cinéticos que permiten predecir las condiciones de operación y monitoreo del proceso global, lo cual ha sido posible por la capacidad de predicción de los modelos propuestos. Debido a la importancia de realizar el monitoreo en línea del proceso sulfato reductor, se han desarrollado algoritmos denominados observadores de estados, que son técnicas basadas en modelos donde a través de la retroalimentación de variables medibles, es posible inferir aquellas variables que no son medibles previo al análisis de observabilidad del proceso bajo estudio. La disponibilidad de variables medibles y estimadas permite posteriormente la implementación de controladores retroalimentados con los que se logra mantener la operación del proceso en regiones de alto desempeño.

El análisis cinético del proceso sulfato reductor de la cepa *Desulfovibrio alaskensis* 6SR fue evaluado en cinco modelos cinéticos no estructurados de tipo inhibición por producto, considerando una expresión de ley de potencias para la producción del exopolisacárido que se genera al alcanzar la máxima producción de sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Cada modelo consideró las variables de estado de consumo de sulfato y lactato, producción de sulfuro de hidrógeno, acetato y biomasa. Los modelos considerados fueron

validados por comparación con los datos experimentales generados, obteniéndose coeficientes de correlación satisfactorios (Tabla 4). El resultado de las simulaciones sugirió que el modelo de Levenspiel es la mejor representación matemática del crecimiento bacteriano y del proceso sulfato reductor al combinarse con el modelo de la ley de potencias para el EPS (Figuroa *et al.*, 2013).

Modelo Cinético	Ecuación general	Referencia
Haldane-Boulton	$\mu = \left[ \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + \left[ \frac{(S)^2}{K_i} \right]} \right] \left[ \frac{K_P}{K_P + P} \right]$	Haldane, 1965; Boulton, 1980
Haldane-Levenspiel	$\mu = \left[ \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + \left[ \frac{(S)^2}{K_i} \right]} \right] \left[ 1 - \frac{P}{K_P} \right]^m$	Haldane, 1965; Levenspiel, 1980
Haldane-Luong	$\mu = \left[ \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + \left[ \frac{(S)^2}{K_i} \right]} \right] \left[ 1 - \left( \frac{P}{K_P} \right)^m \right]$	Haldane, 1965; Luong, 1985
Moser-Bulton	$\mu = \left[ \frac{\mu_{\max} S^n}{K_S + S^n} \right] \left[ \frac{K_P}{K_P + P} \right]$	Moser, 1958; Boulton, 1980
Levenspiel	$\mu = \mu_{\max}^n \left[ 1 - \frac{P}{K_P} \right] \left[ \frac{S}{K_S + S} \right]$	Levenspiel, 1980

**Tabla 4**

Modelos cinéticos que representan el proceso sulfato reductor de *D. alaskensis* 6SR.

El análisis cinético del proceso sulfato reductor ha permitido estudiar el comportamiento dinámico de la cepa 6SR mediante la estimación de la concentración de biomasa y la producción del sulfuro a través de la concentración sulfato (sustrato). El proceso de estimación fue aplicado a cultivos en lote, discontinuos y continuos de *Desulfovibrio alaskensis* 6SR, utilizando el modelo Levenspiel, que considera la inhibición por producto (H<sub>2</sub>S), el cual fue previamente sintonizado con datos experimentales (Figuroa *et al.* 2013; Neria *et al.*, 2011).

El diseño del observador de estado adaptable tomó en consideración la estructura del modelo cinético del sistema y una retroalimentación con una ganancia adaptable que contiene una tangente hiperbólica del error de estimación, para esto se planteó un marco teórico a fin de mostrar algunas de las características de la convergencia del observador propuesto. El observador permitió inferir las concentraciones de biomasa y H<sub>2</sub>S suponiendo sólo las mediciones de la concentración de sustrato (Neria *et al.*, 2011). Los resultados han permitido analizar el efecto de las incertidumbres del modelo y las mediciones de ruido para diseñar metodologías de estimación robustas.

En el caso de las aplicaciones del sistema sulfato reductor en la remoción de metales pesados, particularmente para el cromo y cadmio, considerados dentro de los más tóxicos por la EPA, también fueron construidos modelos que

representan el proceso global de la remoción de estos metales, tomando como base modelos de tipo inhibición por producto, más un término que representa la remoción metálica. El modelo propuesto para la remoción del cadmio incluye cuatro procesos: 1) el proceso sulfato reductor; 2) el consumo de fuente de carbono (lactato); 3) formación de la biopelícula, y 4) la remoción de cadmio. La construcción del modelo se basó en relacionar los cuatro procesos dentro de los balances de masa, y el proceso sulfato reductor considerando el efecto inhibitorio del  $H_2S$  y del cadmio sobre el crecimiento de la bacteria, por lo que fue representado por el modelo de Levenspiel con ciertas modificaciones; la producción de acetato fue una relación directa del consumo de lactato y la generación de biomasa a través de la combinación de los modelos de Moser-Boulton; la formación de la biopelícula fue descrita por la ecuación de Mood-Lounge relacionando las concentraciones de la biomasa y el lactato, y la eliminación de cadmio fue dado por un modelo de Levenspiel-Haldane modificado, considerando las concentraciones de la biomasa y de la biopelícula (López Pérez et al., 2013a, López Pérez et al., 2013b).

Una vez validado el modelo con datos experimentales, éste fue utilizado en una planta virtual para estudiar la remoción de cadmio en solución. En donde se asignó un esquema de control para estabilizar la concentración de cadmio en un biorreactor continuo a través de la concentración de sulfuro, como la variable de estado medible del sistema. Lo anterior requirió la implementación de un controlador no lineal que responde a una retroalimentación sigmoide del error de control, el cual regula la concentración de sulfuro de hidrógeno a un valor adecuado para alcanzar una concentración mínima de cadmio a la salida. La concentración de sulfuro de hidrógeno requerida para obtener una concentración de cadmio a los niveles establecidos por las regulaciones ambientales (menor a 0.5 mg/L de  $Cd^{2+}$ ) fue estimada alrededor de 475 mg/L. Por lo tanto, los experimentos numéricos demostraron un desempeño satisfactorio de la metodología propuesta, en comparación con los controladores estándar de modo deslizante y lineal PI (López Pérez et al., 2013b, López Pérez et al., 2016).

Con respecto al cromo, se construyó un modelo fenomenológico, en donde los principales componentes a eliminar son el sulfato y el cromo hexavalente a través de un sistema de dos reactores. En un reactor biológico (RB) se lleva a cabo la reducción del sulfato a sulfuro de hidrógeno mediante el crecimiento de la cepa 6SR; y en un reactor químico (RQ) se reduce el  $Cr^{6+}$  por la alimentación del sulfuro de hidrógeno generado en el RB. El modelo cinético del sistema de reducción del sulfato y del  $Cr^{6+}$  relaciona el crecimiento de *D. alaskensis* 6SR y la generación  $H_2S$  siguiendo el modelo de Levenspiel (Figueroa et al., 2013, Peña-Caballero et al., 2012). Mientras que el modelo correspondiente a la reducción  $Cr^{6+}$ , relaciona el balance de masa para el  $Cr^{6+}$  y el  $H_2S$  alimentado en el RQ, mismo que corresponde a la fase gaseosa del espacio de cabeza del RB. Entonces se asumió que el sulfuro de hidrógeno se encuentra en equilibrio entre la fase gaseosa y la fase líquida, y en los balances de masa para el  $H_2S$  generado en el RB y el alimentado al RQ fueron consideradas las fracciones molares correspondientes. Otro punto importante dentro del balance de masa fue la solubilidad del  $H_2S$  en el reactor químico, ya que éste es el que reacciona con el  $Cr^{6+}$  soluble, por lo que el  $H_2S$  soluble fue representado por la ley de Henry y el coeficiente de transferencia de masa ( $k_{La} H_2S$ ) (Peña-Caballero et al., 2016). El modelo cinético del proceso de sulfato de reducción y la reducción de  $Cr^{6+}$  fue validado experimentalmente y se extendió a una operación en continuo vía simulaciones *in silico*. También con el modelo se abordó un estudio para el tratamiento de aguas residuales, en donde los principales componentes a reducir son el sulfato y el cromo hexavalente a través de simulaciones numéricas para lograr varias condiciones de funcionamiento posibles bajo las limitaciones

del sistema. Los resultados indicaron un excelente desempeño del sistema, ya que a concentraciones entre 15 a 90 mg/L de  $\text{Cr}^{6+}$  se logró una eliminación de 99%, obteniéndose una concentración final menor a 0.5 mg/L de cromo hexavalente, y con respecto al sulfato se alcanzó una remoción de 75% del sulfato presente en el agua residual (Peña-Caballero *et al.*, 2016).

## CONCLUSIÓN

Las bacterias sulfato reductoras son de gran importancia biotecnológica debido a su capacidad sulfato reductora, y están asociadas a procesos de biocorrosión metálica. Sin embargo, en procesos de remediación tiene grandes aplicaciones en la degradación de la materia orgánica en ambientes anaerobios con alto contenido de sulfato, y en la remoción de metales pesados directa o indirectamente a su crecimiento. La *Desulfovibrio alaskensis* 6SR es una bacteria sulfato reductora que exhibe una alta capacidad de resistencia metálica, en comparación con otras especies sulfato reductoras, pero su capacidad de reducir el sulfato a sulfuro de hidrógeno puede inhibir su crecimiento, pese a su naturaleza, por consiguiente, su crecimiento puede ser representado por modelos cinéticos que expresan un término de inhibición por producto, como el modelo de Levenspiel.

Por otra parte, el sulfuro de hidrógeno derivado de la respiración anaerobia, es un excelente agente químico para la remoción de metales pesados presentes en efluentes. Además, la reacción química entre el sulfuro y el ion metálico abate la concentración de sulfuro de hidrógeno que se pudiera liberar el ambiente, generando problemas de contaminación. Los sulfuros metálicos producidos pueden tener un valor agregado en la industria de materiales fotovoltaicos, como es el caso del CdS, aunque falta por explorar los sulfuros de plomo y zinc, entre otros. También, la posibilidad de implementar procesos que separan la sulfato reducción bacteriana de la eliminación del metal, representa una enorme ventaja en el sentido de que no hay un tratamiento de la biomasa-metal, como en la mayoría de los casos de biorremediación con otro tipo de microorganismos, implementando otros métodos más simples para la recuperación de los metales.

Finalmente, los modelos cinéticos obtenidos para la remoción del cadmio y el cromo acoplado el proceso sulfato reductor de *D. alaskensis* 6SR son de gran interés en la ingeniería de procesos, ya que permiten realizar estudios *in silico*, ahorrando tiempo y dinero en experimentos que conlleven a obtener las condiciones adecuadas de operación para el diseño de bioprocesos más eficientes en la remoción de metales.

## REFERENCIAS

- Arakaki A.**, H. Takeyama H, T. Tanaka & T. Matsunaga (2002) Cadmium recovery by a sulfate-reducing magnetotactic bacterium, *Desulfovibrio magnetotacticus* RS-1, using magnetic separation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **98-100**:833-840.
- Avilés Trejo M.**, M. del C. Salazar López, V. Peña Caballero, L. R. González González, M. I. Neria González (2013) Reducción de Cr (VI) a Cr (III) por vía celular utilizando como modelo biológico a *Desulfovibrio alaskensis* 6SR. XXXIV Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, Mazatlán, Sinaloa. México.
- Barton L.L.** & F.A Tomei (1995) Characteristics and activities of sulfate reducing bacteria In: Sulfate Reducing Bacteria (Ed: Baron I.L.), Plenum Press, New York, p.p. 1-32.
- Beech I.B.** & C.C. Gaylarde (1991) Microbial polysaccharides and corrosion. *International Biodeterioration*, **27**: 95-107.
- Braissant A.W.**, C. Decho, C. Dupraz, M. Glunx, K.M. Przekop & P.T. Visscher (2007) Exopolymeric substances of sulfate reducing bacteria: Interactions with calcium at alkaline pH and implication for formation of carbonate minerals. *Geobiology*, **5**: 401-411.
- Boulton R** (1980) The prediction of fermentation behavior by a kinetic model. *American Journal of Enology and Viticulture*. **31**: 40-45.
- Cabrera S.R.**, E. Sosa, M.T. Oropeza & I. González (2002) Electrochemical study on carbon steel corrosion process in alkaline sour media. *Electrochimica Acta*, **47**: 13-14.
- Castro H.F.**, N.H. Williams & A. Ogram (2000) Phylogeny of sulfate reducing bacteria. *FEMS Microbiology and Ecology*, **31**: 1-9.
- Cheung K.H.** & J.-D. Gu (2002) Bacterial color response to hexavalent chromium,  $\text{Cr}^{6+}$ , *J. Microbiol.* **40**: 234-236.
- Characklis W. G.** & P.A. Widerer (1989) Structure and function of biofilms. *Structure and function of biofilms*. Editorial Wiley.
- Dabrowski A.**, Z. Hubicki, P. Podkosielnny, E. Robens (2004) Selective removal of the heavy metal ions from waters and industrial wastewaters by ion-exchange method. *Chemosphere* **56**: 91-106.
- Das N.**, R. Vimala & P. Kartika (2008) Biosorption of heavy metals— an overview. *Indian Journal of Biotechnology*. **7**:159-169
- Dilling W.** & H. Cypionka, (1990) Aerobic respiration in sulfate reducing bacteria *FEMS Microbiology Letters* **71**: 123-128.
- Figueroa J. C.**, Ricardo Aguilar and M. Isabel Neria (2013) Analysis of Unstructured Kinetic Modeling for a Sulfate Reducing Process Using *Desulfovibrio alaskensis* 6SR. *BioTecnología*, **17**, No. 2.
- Feio M.J.**, Vitaly Zinkevich, Iwona B. Beech, Enric Llobet Brossa, Peter Eaton, Jürgen Schmitt & Jean Guezennec (2004) *Desulfovibrio*

- alaskensis* sp. nov., a sulphate reducing bacterium from a soured oil reservoir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 1747-1752.
- Fukuda T.**, Y. Ishino, A. Ogawa, K. Tsutsumi & H. Morita (2008) Cr(VI) reduction from contaminated soils by *Aspergillus* sp. N2 and *Penicillium* sp. N3 isolated from chromium deposits. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 54:295-303
- Gibson G.R.** (1990) Physiology and ecology of the sulphate reducing bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* **69**: 769-797.
- Haldane J.B.S.** (1930) Enzymes. London: Longmans, Green & Co.
- Hamilton W.A.** (1998) Bioenergetics of sulphate-reducing bacteria in relation to their environment impact. *Biodegradation*, **9**:201-212.
- Hernández Gayoso M.J.**, G. Zavala Olivares, N. Ruiz Ordaz, C. Juárez Ramírez, R. García Esquivel & A. Padilla Viveros (2004) Microbial consortium influence upon steel corrosion rate, using polarization resistance and electrochemical noise techniques. *Electrochimica Acta*, **49**: 4295-4302.
- Igwe J.C.** & A.A. Abia (2006) A bioseparation process for removing heavy metals from waste water using biosorbents. *African Journal of Biotechnology*. **5**:1167-1179
- Jang N.**, X. Ren, K. Choi & I.S. Kim (2005) Comparison of membrane biofouling in nitrification and denitrification for the membrane bioreactor (MBR), in: Proceedings of IWA Aspire. Singapore, **202**: 1-3
- Klonowska A.**, M.E. Clark, S.B. Thieman, B.J. Giles, J.D. Wall & M.W. Fields (2008) Hexavalent chromium reduction in *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough causes transitory inhibition of sulfate reduction and cell growth. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **78**:1007-1016
- Laspidou C.S.** & B.E. Rittmann (2002) A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products and active and inert biomass. *Water Research*, **36**: 2711-2720.
- Levenspiel O.** (1980) The Monod equation: a revisit and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnology and Bioengineering Journal*. **22**: 1671-1687.
- López-Pérez P.A.**, M.I. Neria González, M.R. Pérez García, R. Aguilar López (2016) Concentrations monitoring via software sensor for bioreactors under model parametric uncertainty: Application to cadmium removal in an anaerobic process. *Alexandria Engineering Journal* **55**: 1893-1902. ISSN: 1110-0168.
- López-Pérez P. A.**, R. Aguilar López & M. I. Neria González (2015) Cadmium removal at high concentration in aqueous medium: mediated by *Desulfovibrio alaskensis*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, **12**: 1975-1986.
- López-Pérez P. A.**, M. I. Neria-González, L. B. Flores-Cotera & R. Aguilar-López (2013a) A mathematical model for cadmium removal using a sulfate reducing bacterium: *Desulfovibrio alaskensis* 6SR. *International Journal of Environmental Research*, 7:501-512.
- López-Pérez P. A.**, M. I. Neria González & R. Aguilar-López (2013b) Cadmium concentration stabilization in a continuous sulfate reducing bioreactor via sulfide concentration control. *Chemical Papers* **67**: 326-335.
- Luong J.H.T.** (1985) Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. *Biotechnology and Bioengineering Journal*. **27**: 280-285.
- Morón Vázquez M.A.** (2015) Identificación de genes de resistencia metálica en la bacteria sulfato reductora *Desulfovibrio alaskensis* 6SR. *Tesis Maestría en Ciencias*.
- Moser H.** (1958) The dynamics of bacterial populations in the chemostat. *Carnegie Inst Publ.* 614.
- Naz N.**, H.K. Young, N. Ahmed & G.M. Gadd (2005) Cadmium accumulation and DNA homology with metal resistance genes in sulfate-reducing bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **71**:4610-4618.
- Naushad M.**, Z.A. A. L-Othman & M. Islam (2013) Adsorption of cadmium ion using a new composite cation exchanger polyaniline Sn(IV) silicate: kinetics, thermodynamic and isotherm studies. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 10:567-578.
- Neria-González M.I.**, B. Rosales Acosta, P. A. López Pérez, R. Aguilar López & L. G Rangel Chávez (2012) Prediction and analysis of extracellular polymeric substance by *Desulfovibrio alaskensis* 6SR, significance in biotechnology. *XXXV Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química*, San José del Cabo, BCS. Mexico.
- Neria-González M.I.**, J.C. Figueroa-Estrada, M.R. Cruz-Díaz & R. Aguilar-López (2011) Adaptive smooth observer design for state estimation in *Desulfovibrio alaskensis* 6SR cultures. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, **10**: 137-146.
- Neria González I.**, E.T. Wang, F. Ramírez, J.M. Romero & C. Hernández Rodríguez (2006) Characterization of Bacterial Community Associated to Biofilms of Corroded Oil Pipelines from the Southeast of Mexico. *Anaerobe*, **12**: 122-133.
- Padilla Viveros A.**, E. Garcia Ochoa & D. Alazard (2006) Comparative electrochemical noise study of the corrosion process of carbon steel by the sulfate reducing bacterium *Desulfovibrio alaskensis* under nutritionally rich and oligotrophic culture conditions. *Electrochimica Acta*, **51**: 3841-3847.
- Pan ZY.** G.J. Shen, L.G. Zhang, Z.H. Lu & J. Z. Liu (1997) Preparation of oriented cadmium sulfide nanocrystals. *Journal of Materials Chemistry*. **7**:531-535.
- Peña-Caballero V.**, R. Aguilar-López, P. A. López-Pérez, & M. I. Neria-González (2016) Reduction of Cr(VI) utilizing biogenic sulfide: an experimental and mathematical modeling approach. *Desalination and Water Treatment*. **57**: 13056-13065.
- Peña-Caballero V.**, R. (2013) Diseño de un sistema híbrido de reactores aplicado a la reducción de cromo hexavalente: modelado, simulación, identificación y control. *Tesis Doctorado*.
- Postgate J.R.** (1981) Sulfate reducing bacteria, p.p. 201. Cambridge University Press, New York, USA.
- Rangel-Chávez L.G.**, M.I. Neria-González, A. Márquez-Herrera, M. Zapata-Torres, E. Campos-González, O. Zelaya-Angel, A. Guillen-Cervantes, J.L. Fernandez-Muñoz, & M. Melendez-Lira (2015) Synthesis of CdS nanocrystals by employing the by-products of the anaerobic respiratory process of *Desulfovibrio alaskensis* 6SR bacteria. *Journal of Nanomaterials*, 2015:1-7.
- Sánchez Rosas Etna Mariana** (2010) Crecimiento de *Desulfovibrio alaskensis* 6SR, tolerante a una alta concentración de Cr VI. Tesis de licenciatura, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Mexico. *Tesis Licenciatura*.
- Senez J.C.**, & J. Cattaneo Lacombe (1956) *Comp. Rend. Acad. Sci. Hebd. Seances*, **242**: 941.
- Voordouw G.** (1995) The genus *Desulfovibrio*: the centennial. *Applied and Environmental Microbiology*. **61**: 2813-2819.
- Silver S.** & T. Misra (1988) Plasmid-mediated heavy metal resistance. *Annual Review of Microbiology*. **42**: 717-743.
- Utgikar V.P.** & S. M. Harmon (2002) Inhibition of sulphate-reducing bacteria by metal sulphide formation in bioremediation of acid mine drainage. *Environmental Toxicology*. **17**: 40-48.
- Wingender J.**, T.R. Neu & H.C. Flemming (1999) Microbial Extracellular Polymeric Substances: Characterization, Structures and Function. *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg Chapter 3.
- Widdel F.** & N. Pfennig (1984) Section 7. Dissimilatory sulfate or sulfur-reducing bacteria, p. 663-679. *In* N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Widdel F.**, Bak F. (1992). Gram negative mesophilic sulfate reducing bacteria. *In*: The Prokaryote, IV (Eds: Balows A., Truper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K-H.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 3352-3378.
- Zhang N.**, V. Scott, T.H. Al Samarrai, Y.Y. Tan, M.J. Spiering, L.K. McMillan, G.A. Lane D.B. Scott, M. Christensen & J. Schmid (2006) Transformation of the ryegrass endophyte *Neotyphodium lolii* can alter its in planta mycelial morphology. *Mycological Research*, **110**: 601-611.