



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ESTUDIO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS-
ELECTROQUÍMICOS PARA EL TRATAMIENTO DE
EFLUENTES CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL

PRESENTA

KAREN GISELLE DEL VALLE LUGO

DIRIGIDA POR

Dr. GUSTAVO ACOSTA SANTOYO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ESTUDIO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS-
ELECTROQUÍMICOS PARA EL TRATAMIENTO DE
EFLUENTES CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL**

PRESENTA

KAREN GISELLE DEL VALLE LUGO

DIRIGIDA POR

Dr. GUSTAVO ACOSTA SANTOYO

SINODALES

Dr. Gustavo Acosta Santoyo

DIRECTOR

Dr. Josue Daniel Garcia Espinoza

SINODAL

Dr. Arturo Godínez Mora Tovar

SINODAL

Dr. José de Jesús Treviño Reséndez

SINODAL

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	1
I. ANTECEDENTES	2
I.1. Hidrocarburos	2
I.2. Hidrocarburos y su impacto ambiental	4
I.3. Hidrocarburos como contaminantes en México	6
I.4. Metodologías de remediación para hidrocarburos	7
I.5. Sistemas bioelectroquímicos	9
I.6. Transferencia de electrones en un BES	11
I.7. Sistemas bioelectroquímicos para el tratamiento de contaminantes	13
I.8. Mecanismos	14
I.9. Variables	16
II. HIPÓTESIS	18
III. OBJETIVOS	18
III.1. Objetivo general	18
III.2. Objetivos específicos	18
IV. METODOLOGÍA	19
IV.1. Materiales	19
IV.1.1. Materiales y equipo	19
IV.1.2. Reactivos	19
IV.2. Métodos	20
IV.2.1. Preparación de medios de cultivo	20
IV.2.1.1. Medio Luria-Bertani (LB)	20

IV.2.1.2.	Medio mínimo M9	20
IV.2.2.	Inoculación de los microorganismos	21
IV.2.2.1.	Preinoculación	21
IV.2.2.2.	Inoculación	21
IV.2.3.	Diseño de la C3M	22
IV.2.3.1.	Preparación de los electrodos	22
IV.2.3.2.	Celda electroquímica	22
IV.2.3.3.	Pruebas electroquímicas preliminares en la C3M para selección de condiciones del medio	22
IV.2.3.4.	Inoculación de la celda	23
IV.2.4.	Caracterización electroquímica y aclimatación de los microorganismos en la C3M	23
IV.2.4.1.	Descripción de los ciclos	23
IV.2.4.1.1.	Ciclos 1, 2 y 3	24
IV.2.4.1.2.	Ciclos 4,5,6,7 y 8	24
IV.2.4.1.3.	Ciclo 9	25
IV.2.5.	Evaluación de la efectividad de degradación del contaminante	25
IV.2.5.1.	Prueba del consorcio	25
IV.2.5.2.	Diseño experimental	26
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
V.1.	Evaluación electroquímica	27
V.1.1.	Condiciones óptimas para la celda electroquímica	27
V.1.2.	Caracterización electroquímica de la celda	30
V.1.2.1.	Voltametrías cíclicas	30
V.1.2.2.	Cronoamperometrías	33
V.2.	Evaluación de la efectividad de degradación del consorcio microbiano	35
V.2.1.	Respuesta del consorcio microbiano a diferentes concentraciones del contaminante	35
V.2.2.	Evaluación de la degradación del contaminante	36
V.2.3.	Cromatografía de gases	38

VI. CONCLUSIONES	41
VII. BIBLIOGRAFÍA	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Ciclos y condiciones de la CCM	23
2	Cronograma de muestreo	26
3	Mediciones de DDO para el estudio de la adaptación del consorcio microbiano a distintas concentraciones de contaminante.	35
4	DQO mediante el método de digestión para determinar la degradación del contaminante por el consorcio microbiano.	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Clasificación de los hidrocarburos	2
2	Fracción de petróleo por rangos de carbono	3
3	Fuentes de energía del transporte global	4
4	Diagrama esquemático de una MFC bicameral simple	10
5	Esquema de una celda de tres electrodos	11
6	Mecanismos de transferencia de electrones. I: transferencia electrónica directa (DET) activada por el crecimiento de nanocables; II: DET por la formación de una capa conductiva en la pared celular microbiana; III: transferencia de electrones mediada (MET) por mediadores secretados naturalmente; y IV: MET con mediadores redox añadidos.	12
7	Reacción de oxidación de un alcano.	15
8	Voltametrías cíclicas a velocidades de barrido de 10, 20, 50 y 100 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ en medio LB, con concentraciones de a) 10 mM, b) 100 mM y c) 100 mM adicionadas con buffer de fosfatos a pH 7.	27
9	PEIS en medio LB, a) 10 mM y b) 100 mM.	28
10	Voltametrías cíclicas a velocidad de barrido 100 mV s^{-1} de todos los ciclos	30
11	Cronoamperometrías de los ciclos: a) ciclo 1, b) ciclo 2, c) ciclo 3, d) ciclo 4, e) ciclo 5, f) ciclo 6, g) ciclo 7, h) ciclo 8 y i) ciclo 9.	33
12	Cromatografía de gases de las muestras tomadas en los días 0(t_0), 6(t_1) y 21(t_4).	38
13	Acercamiento del cromatograma de gases de las muestras tomadas los días 6(t_1) y 21(t_4).	39

RESUMEN

Los hidrocarburos derivados del petróleo son esenciales en la vida moderna ya que permiten una amplia gama de actividades cotidianas, desde el transporte, hasta la generación de energía y la producción de bienes de uso diario. La gasolina es un derivado del petróleo compuesto por una mezcla de hidrocarburos, aunque desempeña un papel fundamental en la vida cotidiana, constituye una importante amenaza ambiental significativa debido a su alto consumo y a las actividades asociadas a su extracción, transporte y almacenamiento. En este estudio se propone el uso de una celda de combustible microbiano (CCM) mediante el análisis de una biocelda electroquímica unicameral de tres electrodos. Se estudiaron la inoculación y la adaptación de un consorcio microbiano obtenido a partir de una muestra de suelo contaminado con hidrocarburos, con el propósito de analizar su comportamiento en el tratamiento de efluentes contaminados con gasolina comercial. Para evaluar la biocompatibilidad y el desempeño electroquímico del sistema, se realizaron voltamperometrías cíclicas y cronoamperometrías, cuyos resultados evidenciaron la formación de un biofilm en el electrodo de trabajo de la biocelda. La remoción del contaminante se evaluó mediante la medición de la demanda química de oxígeno (DQO) utilizando el método de digestión, registrando una disminución del 97%. Adicionalmente, se realizó un análisis cualitativo por cromatografía de gases, en el que se observó una reducción significativa de los picos correspondientes a los compuestos presentes en la gasolina, lo que confirmó su biodegradación. Los resultados obtenidos demostraron la viabilidad del consorcio microbiano para la degradación de gasolina y sugieren que la CCM es una alternativa adecuada para el desarrollo de microorganismos degradadores y su aplicación en procesos de biorremediación de hidrocarburos.

I. ANTECEDENTES

I.1. Hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos que contienen moléculas de hidrógeno y carbón en la fórmula C_xH_y , cuya clasificación se basa en el número de carbonos y estructura química. Pueden clasificarse en aromáticos (con al menos un anillo aromático) o alifáticos (cadena sin anillo aromático), que, a su vez, estos últimos se dividen según el tipo de enlace que tengan, saturados (enlaces simples) e insaturados (al menos un enlace doble), y pueden encontrarse en forma líquida, sólida o gaseosa.

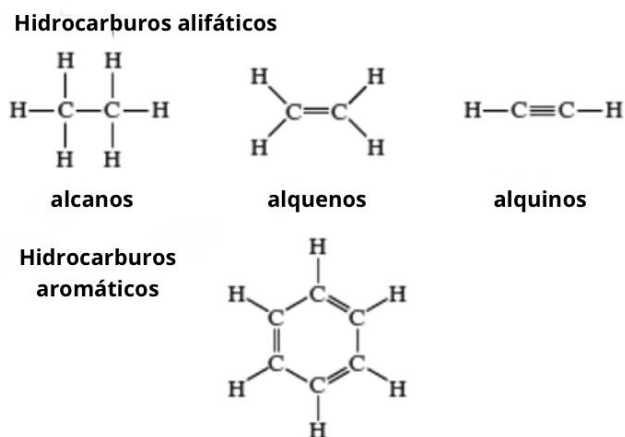


Figura 1. Clasificación de los hidrocarburos. Tomada de Carey, 2024.

Son compuestos químicos esenciales y su importancia reside en que desde hace muchos años son ampliamente utilizados en procesos físicos y químicos de combustión interna, siendo la mayor fuente de energía utilizada actualmente por la humanidad (Guo y col., 2020), al ser quemados, producen dióxido de carbono, agua y calor, y es gracias a esta reacción química, que los hidrocarburos representan aproximadamente el 85% de las fuentes de obtención de energía mundial, posicionándose como la fuente primaria de energía (Matthew, T., 2021). De igual forma

, estos compuestos también se utilizan como materia prima en múltiples industrias que producen artículos de primera necesidad, ya que son reactivos químicos necesarios para llevar a cabo operaciones y procesos industriales, así como para la producción de plásticos, fibras, solventes, explosivos, cauchos, etc. (Isahak y col., 2022).

Entre la enorme cantidad de hidrocarburos se encuentra el petróleo, que es una mezcla compleja de muchos compuestos químicos, conformado mayormente por hidrocarburos saturados, donde predominan los alcanos de cadena lineal y, en menor concentración, otros como los alcanos ramificados, cicloalcanos y aromáticos (Olah, 2003). El petróleo crudo es una sustancia química compleja que se utiliza para dar origen a una gran cantidad de subproductos conocidos como hidrocarburos totales de petróleo (TPH, por sus siglas en inglés), algunos ejemplos de ellos son los alcanos, entre los que encontramos al metano, butano, hexano, etc., y otros como, el benceno, naftaleno, diesel, keroseno, gasolina, aceites, asfaltos, entre otras sustancias de gran importancia y utilizadas con múltiples fines. Los TPH pueden categorizarse por su tamaño y sus propiedades químicas en TPH-g (rango gasolina), TPH-d (rango diésel) y TPH-o (rango aceite) (Hawaii State Department of Health, 2024), donde los TPH-g contienen hidrocarburos de seis a doce átomos de carbono, los TPH-d hidrocarburos de 10 a 28 átomos de carbono, y los TPH-o hidrocarburos de 20 a 35 átomos de carbono (Navy Closure Task Force, 2022).

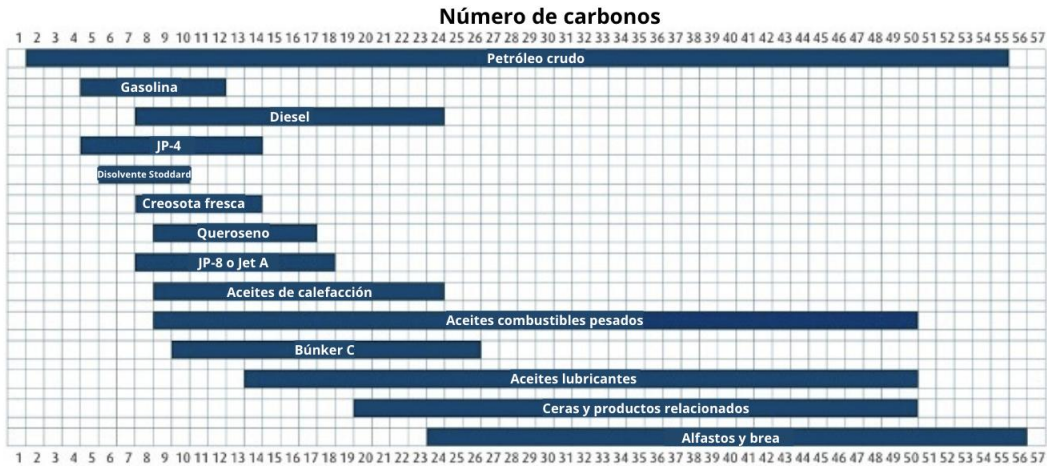


Figura 2. Fracción de petróleo por rangos de carbono. Tomada de ALS, 2022.

La gasolina es un derivado de petróleo que sirve como la principal fuente de combustión para motores, este compuesto químico contiene típicamente 150 distintos tipos de hidrocarburos, entre los cuales están el butano, pentano, isopentano y los compuestos BTEX (Illinois Department of Public Health, 2024), en una composición típica de 4-8% alcanos, 2-5% alquenos, 25-40 isoalcanos, 3-7% cicloalcanos, 1-4% cicloalquenos y 20-50% aromáticos (ATSDR, 1995), y sus características fisicoquímicas varían dependiendo de la composición del petróleo crudo y sus procesos de refinación.

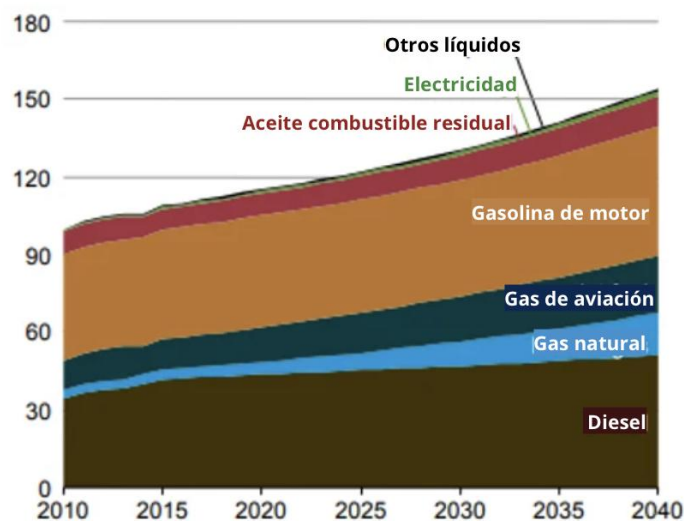


Figura 3. Fuentes de energía del transporte global. Tomada de U.S Energy Information Administration, 2016.

I.2. Hidrocarburos y su impacto ambiental

Los hidrocarburos pueden encontrarse de forma natural en la naturaleza y originarse de fuentes biológicas como plantas, animales, bacterias, macroalgas y microalgas (Saliot, 1981). Pueden generarse mediante procesos naturales como la degradación bacteriana y química de lípidos naturales que produce ésteres (Volman y col., 1990), la producción de n-pentadecano por cianobacterias marinas a partir de ácidos grasos (Love y col., 2021), y de fenómenos como las erupciones volcánicas e incendios forestales, que liberan al ambiente gases como el metano y el etano. Sin embargo,

las actividades antropogénicas son la principal fuente de contaminación por hidrocarburos en la actualidad, debido a las grandes cantidades de hidrocarburos que son generadas por actividades del hombre y expulsadas en diferentes matrices ambientales, provocando consecuencias negativas en el equilibrio ambiental y en la salud de los ecosistemas.

Las fuentes antropogénicas de emisión de hidrocarburos pueden clasificarse en cuatro tipos: industriales, móviles, domésticas y agrícolas (Ravindra y col., 2008), conformadas por actividades como la combustión, los derrames de petróleo, los procesos de manufactura, la operación de plantas de generación de energía, la incineración de residuos, el uso de sistemas de calefacción, entre otras muchas actividades muy variadas.

En el medio ambiente, los hidrocarburos sufren procesos de meteorización como la evaporación, la oxidación química y la degradación microbiana, además de procesos de transporte como la dispersión, disolución, emulsificación, lixiviación, sedimentación y el transporte por el viento (Speight, 2011), que influyen en los efectos de los hidrocarburos en el medio en el que fueron liberados. Los hidrocarburos de petróleo representan el contaminante ambiental más frecuente (Truskewycz y col., 2019); son contaminantes primarios cuya sobreexplotación y mal manejo han producido la contaminación de agua, suelo y aire debido a derrames, filtraciones accidentales, transporte incorrecto y el gran consumo de productos derivados de ellos. Uno de los mayores problemas ambientales relacionados con el uso y manejo de hidrocarburos en la actualidad, es la contaminación de diferentes matrices ambientales por el uso y derrame de hidrocarburos de petróleo.

Los hidrocarburos de petróleo representan una amenaza a las matrices ambientales, cuyas características físicas, químicas y biológicas se ven alteradas y deterioradas como consecuencia de la presencia de dichos contaminantes, en el suelo, se ven afectados la flora, la fauna, los microorganismos y distintos procesos necesarios para el equilibrio de dicha matriz (Madigan y col., 1999), teniendo como consecuencia afectaciones a la funcionalidad y fertilidad del ecosistema (Zamora y col., 2012), en

el agua, los hidrocarburos pueden encontrarse en emulsión, disueltos, flotando libremente, o en adsorción a sólidos suspendidos (Reeves, 2005), los hidrocarburos de petróleo forman una película impermeable sobre la superficie del agua que impide el intercambio del oxígeno entre el medio ambiente y el agua, causando daños en la flora y fauna de los ecosistemas acuáticos (Srivastava y col., 2019), el agua contaminada con hidrocarburos puede ser neurotóxica, carcinogénica y metanogénica para la biota (Das, y Chandran, 2011), cualquier especie animal que inhale o consuma alimento contaminado puede sufrir envenenamiento interno grave (Peterson y col., 2003), entre los múltiples casos donde el derrame de hidrocarburos afecta a un ecosistema acuático, se encuentran casos como el de las aves y las focas, donde las plumas o pelaje entran en contacto con los hidrocarburos de petróleo en el agua y pierden propiedades aislantes que conducen a dichas especies a morir de hipotermia (Badia, y Burres, 2010), las aves, además de perder su capacidad aislante, pierden la capacidad de vuelo.

I.3. Hidrocarburos como contaminantes en México

La industria petrolera es una de las más grandes e importantes del país, además de una de las mayores fuentes de contaminación por hidrocarburos en México. Es una industria conformada por pozos, baterías de separación, complejos procesadores de gas, centrales de almacenamiento y bombeo, redes de ductos y presas de confinamiento, con instalaciones que tienen riesgos inherentes de fugas por rompimiento de ductos, filtración de aguas o derrames por inundaciones (Ortinez y col., 2003).

El derrame de hidrocarburos es una gran problemática que se presenta en nuestro país, que tiene graves consecuencias en el medio ambiente, la salud, y la economía, es una de las mayores problemáticas ambientales en México, que causa contaminación en el suelo, agua y la atmósfera, como consecuencia de prácticas incorrectas e ineficientes en los procesos de explotación, refinación, distribución, mantenimiento y almacenamiento del petróleo y sus derivados (Vanclay, 2002).

En los últimos años, México ha presentado graves problemas económicos y ambientales relacionados con el robo de combustibles por la perforación de ductos y tuberías, este problema se presenta principalmente en los estados de Tamaulipas, Hidalgo, Veracruz, Nuevo León, Puebla, México, Jalisco, Michoacán y Guanajuato (Gobierno de México, 2023), aunque no hay cifras exactas ni confiables sobre el número de tomas clandestinas a lo largo del país, tan solo del 18 de noviembre de 2022 al 18 de mayo de 2023, 1,682 tomas clandestinas fueron clausuradas (Secretaría de la Defensa Nacional y Secretaría de Marina, 2023). El gobierno de México ha desarrollado y aplicado planes para combatir el robo de hidrocarburos, como la implementación del Plan contra el huachicoleo, donde con ayuda de la Secretaría de Marina, de la Defensa Nacional y la Policía Federal, se han implementado más de 1,534 elementos de seguridad para la vigilancia de 12 ductos de PEMEX (Secretaría de la Defensa Nacional y Secretaría de Marina, 2023), y se han logrado vincular a proceso a más de 175 individuos (Secretaría de Energía, 2019), sin embargo, aunque algunas de las principales causas de esta problemática están siendo controladas, las consecuencias y el impacto ambiental han sido ignorados, trayendo problemáticas que fueron dejadas de lado como la contaminación del suelo y cuerpos de agua del territorio mexicano.

Además de la amenaza que los hidrocarburos representan para las diferentes matrices ambientales donde pueden repercuten como especies contaminantes y que amenazan al ecosistema, se suman las repercusiones en el sector salud, ya que los hidrocarburos de petróleo son una amenaza para la salud humana, con efectos clínicos de la exposición a hidrocarburos que han sido reportados desde 1897, entre los cuales se presentan efectos neurológicos, cardíacos, renales, gastrointestinales y pulmonares (Tormoehlen y col., 2014).

I.4. Metodologías de remediación para hidrocarburos

El complejo proceso de la degradación de los hidrocarburos de petróleo depende de factores como su naturaleza, composición y concentración en la matriz contaminada

(Ambaye y col., 2022), existen distintas metodologías que pueden aplicarse al tratamiento de efluentes acuosos contaminados con hidrocarburos de petróleo, estas metodologías pueden clasificarse principalmente como tratamientos biológicos, químicos, fisicoquímicos, térmicos y de calor, eléctricos y electromagnéticos, acústicos y ultrasónicos (Ossai y col., 2019), entre estas clasificaciones, se encuentran metodologías como lo son los procesos de membrana, la electrocoagulación, adsorción, procesos de oxidación avanzada (POA) (Fatehbaszad y col., 2022), electrocoagulación, floculación, nanofiltración, osmosis reversa (Mohammadi, 2020), entre otras.

La coagulación y floculación son un ejemplo de técnicas físicas y químicas donde coagulantes son añadidos para desestabilizar las partículas de contaminantes suspendidos, provocando que se unan entre sí formando coágulos que posteriormente se sedimentarán (Bratby, 2016), gracias a estudios realizados en múltiples artículos, se ha evidenciado la efectividad de esta técnica, principalmente al utilizar coagulantes inorgánicos y floculantes orgánicos sintéticos para aguas residuales con hidrocarburos (Zhao y col., 2020), con eficiencias de remoción de hasta el 94% (Chen y col., 2007).

Los procesos de oxidación avanzada (POA) son un conjunto de técnicas que generan especies oxidativas reactivas que ayudan a la descomposición de contaminantes, algunas de estas técnicas son la oxidación fotocatalítica heterogénea, los procesos de ozonación, las reacciones de Fenton, y la oxidación electroquímica (Elmobarak y col., 2021), entre otras. Estas técnicas son efectivas para la degradación de hidrocarburos de petróleo totales (TPH) (Aljuboury y col., 2017), gasolina en aguas contaminadas (Radwan y col., 2019).

Aunque estas metodologías han demostrado ser efectivas para la remoción de una gran número de hidrocarburos, presentan distintas desventajas y limitaciones, tales como la generación de grandes cantidades de lodos peligrosos, una gran demanda de energía, un número elevado de obstrucciones en los equipos utilizados (Mohammadi, 2020), una efectividad limitada, y costos elevados (Nilanjana y col.,

2010). Los métodos mecánicos y químicos tienen una efectividad limitada y costos que resultan en la necesidad de desarrollar e implementar metodologías que ofrezcan mayores beneficios.

Una alternativa a las técnicas químicas y físicas comúnmente usadas, son las técnicas biológicas, que han demostrado efectividad como técnicas de biorremediación para efluentes acuosos contaminados con hidrocarburos. Entre algunas metodologías estudiadas, se ha encontrado la efectividad de los hongos *A. discolor* para la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Acevedo y col., 2010), de igual forma, se han encontrado distintas especies de microalgas y cianobacterias capaces de degradar contaminantes orgánicos, entre ellos hidrocarburos (Touliabah y col., 2022; Das y Deka, 2019) y también, microorganismos de una gran variedad de géneros como *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Cycloclasticus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, entre otros, para la degradación de hidrocarburos de los tipos alifático y aromático (Pandolfo y col., 2022).

1.5. Sistemas bioelectroquímicos

Los sistemas bioelectroquímicos (BES por sus siglas en inglés) son aquellos en los que bacterias electroquímicamente activas catalizan reacciones al interactuar con electrodos, formando una biopelícula en materiales conductores (electrodo) que actúan como aceptores o donadores de electrones (Hamelers y col 2010; Fernandez y col., 2023). Entre los BES más comunes se encuentran las celdas de combustible microbianas (CCM), celdas microbianas de tres electrodos (M3C), celdas microbianas desalinizadoras (MDC) y celdas microbianas solares (MSC) (Grattieri y col., 2016).

Una celda de combustible microbiana (CCM) es un biorreactor que convierte la energía de los enlaces químicos de compuestos orgánicos a energía eléctrica por medio de reacciones catalíticas de microorganismos bajo condiciones anaeróbicas (Du y col., 2007), generalmente, consisten de dos partes, un ánodo y un cátodo

separados por una membrana de intercambio de protones, la oxidación de sustancias orgánicas sucede en el compartimiento del ánodo, proceso durante el cual se liberan protones, electrones y dióxido de carbono (Pant y col., 2010). Los sistemas de aguas residuales basados en CCM emplean actividad catalítica bio-electroquímica para producir energía a partir de la oxidación de materia orgánica, en algunos casos inorgánica, sustratos presentes en aguas residuales urbanas, agrícolas, lácteas, alimenticias e industriales (Gude, 2016). Representando múltiples ventajas energéticas, ambientales, económicas y operacionales (Li y col., 2013).

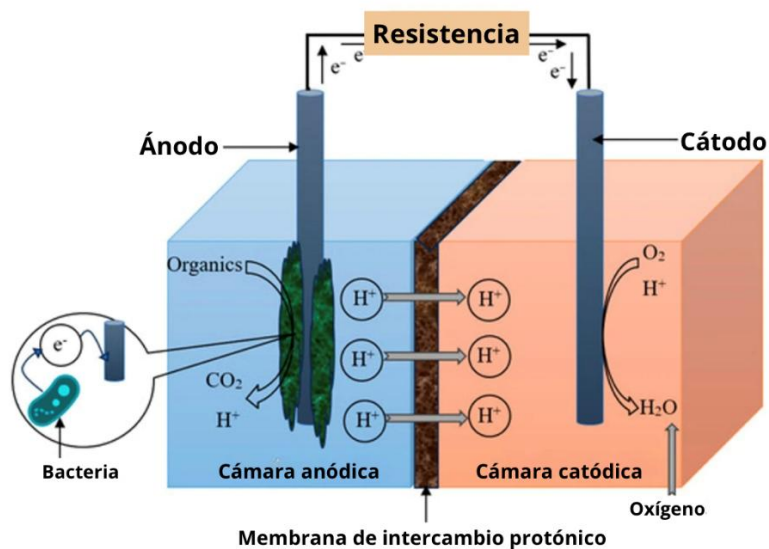


Figura 4. Diagrama esquemático de una MFC bicameral simple. Tomado de Rahman y col, 2025.

Las celdas microbianas de tres electrodos (M3C) están conformadas por un electrodo de trabajo que funciona como ánodo, un electrodo de referencia, y un contraelectrodo. A diferencia de una MFC, un electrodo de referencia es introducido al sistema y un potencial externo es aplicado a través de un potenciostato, logrando un mayor control en el potencial del electrodo de trabajo, donde se formará el biofilm (Prévost y Rabaey, 2017; Fernandez y col., 2023).

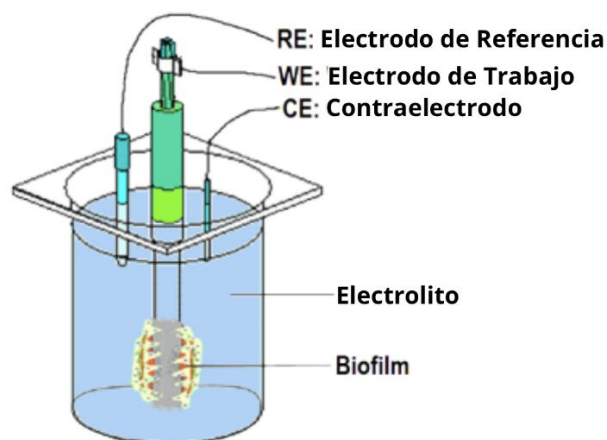


Figura 5. Esquema de una celda de tres electrodos. Tomada de Dominguez, 2007.

Una M3C es una configuración comúnmente utilizada para evaluar las propiedades y características de los electrodos, ya que permite aislar el potencial de cada electrodo y caracterizar su comportamiento electroquímico (Zhu y col., 2025). Las M3C permiten desarrollar biosensores y estudiar a las bacterias electroquímicamente activas, al ofrecer entornos electroquímicos más estables y definidos, gracias al electrodo de referencia, que disminuye las fluctuaciones de potencial e interferencias externas en el ánodo, y sirven como estudios preliminares de referencia para la construcción de una CCM (Li y col., 2016; Grattieri y col., 2016).

1.6. Transferencia de electrones en un BES

La transferencia de los electrones en un sistema bioelectroquímico ocurre por dos mecanismos principales, ya sea de forma directa entre la célula y el aceptor, o de manera indirecta con ayuda de mediadores. La transferencia directa de electrones requiere el contacto físico entre la superficie del electrodo y los centros redox de los microorganismos (Shi y col., 2016), se ha identificado que el transporte directo puede ocurrir mediante la formación de una capa conductiva en la superficie del electrodo, o mediante “nanocables” o “nanoconductores” formados por conductos proteicos denominados pili (Morris y Jin, 2008). Por el contrario, los microorganismos

electroquímicamente inactivos requieren mediadores redox para permitir las interacciones microorganismo-electrodo a través de un proceso conocido como transferencia de electrones mediada (MET), dichos mediadores redox pueden ser secretados naturalmente por los microorganismos o añadidos externamente al sistema (Hassan y col., 2021).

Los microorganismos podrían considerarse la parte fundamental de una CCM, es por esto que es necesario que su cultivo se realice de manera adecuada para poder obtener un funcionamiento correcto la celda, y que la degradación del contaminante de interés sea atribuible a la actividad biológica de los mismos. Existen distintos tipos de inoculación de los microorganismos a utilizar en un sistema biológico, ya sea cultivando una cepa específica (Bonizol y col., 2023; Varnava y col., 2024) o un consorcio de cepas de microorganismos distintos.

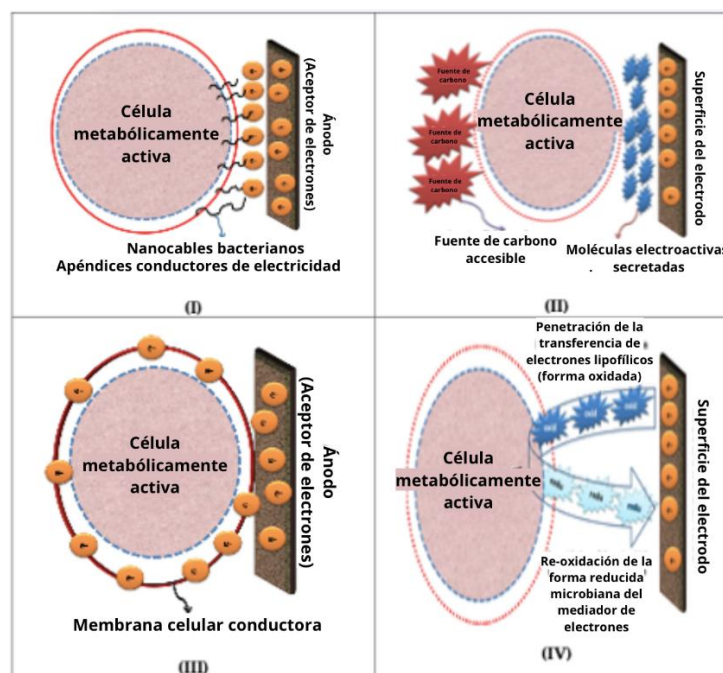


Figura 6. Mecanismos de transferencia de electrones. I: Transferencia electrónica directa (DET) activada por el crecimiento de nanocables, II: DET por la formación de una capa conductiva en la pared celular microbiana, III: transferencia de electrones mediada (MET) conducida por mediadores secretados naturalmente y IV: MET con mediadores redox añadidos. Tomada de Hassan y col., 2021.

I.7. Sistemas bioelectroquímicos para el tratamiento de contaminantes

El gran aumento de contaminantes en los cuerpos de agua nos lleva a la necesidad de desarrollar metodologías de tratamiento de aguas. Aunque existen varias metodologías ya establecidas, muchas de ellas requieren grandes cantidades de energía para funcionar y no resultan sustentables. Las CCM son utilizadas por muchos países desarrollados para biorremediación, remoción de materia orgánica y generación de energía de una manera más sustentable (Revelo y col., 2013).

Es necesario buscar alternativas que busquen solución a las limitaciones que presentan las metodologías convencionales mencionadas anteriormente, una muy prometedora a estas técnicas convencionales son los procesos biológicos, que involucran el uso de microorganismos para degradar los contaminantes de matrices como el agua y el suelo, con múltiples beneficios como la transformación de energía química en electricidad (Adelaja y col., 2014; Das y col., 2018), específicamente, los sistemas bioelectroquímicos muestran ventaja al ofrecer alta eficiencia en la degradación aunado a una baja generación de residuos secundarios (Fatehbasharзад, 2022).

Se ha demostrado en diferentes estudios que las celdas de combustible microbiano son capaces de degradar hidrocarburos derivados del petróleo (Wang y col., 2012; Kumari y col., 2018; Hao y col., 2020; Fatehbasharзад y col., 2022; de Souza y col., 2025). En estos estudios, las bacterias suelen ser los microorganismos seleccionados debido a que tienen una rápida tasa metabólica de degradación gracias a las numerosas vías de degradación y a su alta capacidad enzimática (Kumari y col., 2018), y se ha observado que los consorcios microbianos presentan un mejor desempeño en comparación con los monocultivos gracias a la cooperación entre las distintas especies (Sheppard y col., 2012).

En este contexto, las celdas microbianas de tres electrodos representan una herramienta útil para el estudio electroquímico de los sistemas bioelectroquímicos, ya que permiten controlar de manera precisa el potencial de electrodo del trabajo (ánodo donde se formará el biofilm de interés), y analizar el comportamiento de los

microorganismos electroactivos. Por ello, este tipo de configuración puede ser utilizada como un sistema de estudio previo al desarrollo y acondicionamiento de una celda de combustible microbiana (MFC).

En este sentido, el presente estudio se enfoca en el acondicionamiento de una M3C y en la evaluación de la comunidad microbiana para la degradación de la gasolina, con posible aplicación en una MFC.

1.8. Mecanismos

La biorremediación es un conjunto de metodologías en las que se introducen organismos vivos en sistemas contaminados con el fin de remover y degradar los contaminantes presentes. Entre estos organismos, se encuentran los microorganismos que producen diversas enzimas que permiten inmovilizar y transformar los contaminantes, utilizándolos como sustrato para su crecimiento y desarrollo, ya sea ganando masa de ellos y/o generando energía (Saravanan y col., 2023).

A diferencia de una cepa microbiana aislada, los consorcios microbianos tienen la capacidad enzimática intracelular y extracelular de transformar moléculas complejas y contaminantes recalcitrantes en subproductos más fáciles de asimilar gracias a mecanismos especiales que algunos microorganismos han desarrollado y a las interacciones sinérgicas entre diferentes cepas (Medina y col., 2014; Liu y col., 2025), donde cada hidrocarburo de petróleo puede ser metabolizado selectivamente por una cepa individual o por el consorcio en conjunto (Varjani y Upasani, 2016).

Durante la degradación microbiana de contaminantes, las principales reacciones enzimáticas se pueden caracterizar dentro de las siguientes categorías: hidrólisis, oxidación-reducción, deshalogenación, hidroxilación y ruptura de anillos aromáticos; en las que cada enzima se dirige a un tipo de enlace o grupo funcional específico (Liu y col., 2015; Varjani, S. 2017), en los hidrocarburos, la susceptibilidad de degradación sigue el siguiente orden: alcanos lineales, alcanos ramificados,

aromáticos pequeños, cicloalcanos e hidrocarburos aromáticos policíclicos (Das y Chandran, 2011).

La degradación de hidrocarburos puede ocurrir mediante vías aerobias o anaerobias, en ambos casos, el contaminante es transformado inicialmente por enzimas extracelulares que aumentan su biodisponibilidad al modificar sus estructuras complejas en estructuras más sencillas para facilitar su transporte a través de la membrana celular hacia el interior del microorganismo, donde las enzimas intracelulares continúan con la degradación (Cruz-Narváez y col., 2017). El primer ataque intracelular ocurre mediante oxidación y activación, en la que el oxígeno es esencial para la actividad de las enzimas oxidativas, mientras que las vías periféricas transforman los contaminantes orgánicos en intermedios del metabolismo central, que posteriormente se utilizan en la biosíntesis de biomasa celular. Los precursores necesarios para esta biosíntesis se generan mediante la gluconeogénesis (Al-Hawash y col., 2018).

En el caso de los alcanos, los más fáciles de degradar por los microorganismos, son oxidados por un sistema de oxigenasas y deshidrogenasas (Abbasian y col., 2015). La enzima encargada del proceso de oxidación de las moléculas orgánicas es la NADPH oxidasa, que cataliza la producción de superóxido a partir del oxígeno, que será utilizado para la oxidación de la molécula orgánica (Babior, 2004) de la siguiente manera:

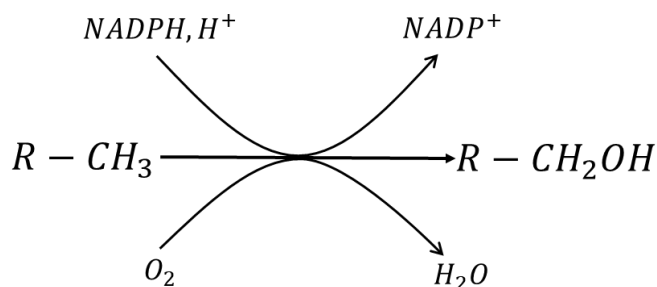
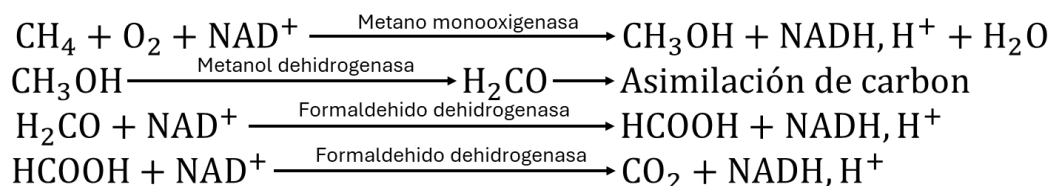


Figura 7. Reacción de oxidación de un alcano. Modificado de Abbasian y col., 2015.

Es importante mencionar que no todas las bacterias tienen los mismos sistemas o usan las mismas enzimas, pero siguen un mismo principio, teniendo una cadena de reacción parecida a la que se muestra a continuación para los alcanos (Abbasian y col., 2025):



I.9. Variables

La biodegradación de los hidrocarburos está relacionada con el área superficial que estos tengan en la forma en que se presenten. Un ejemplo de ello se presenta cuando se forman pequeñas emulsiones en el agua debido al viento u olas donde hay presencia de un hidrocarburo, este fenómeno incrementa el área superficial de contacto y genera que los microorganismos presentes en el medio tengan mayor facilidad de ataque. Sin embargo, cuando el contaminante está en masas de mayor volumen o compactas donde el área superficial se reduce, se provoca que las bacterias tengan mayor dificultad para degradar el contaminante (Fernandez y col., 2015; El-Sesy y col., 2025).

La temperatura tiene efecto en el porcentaje y velocidad de degradación, a bajas temperaturas la consistencia de los hidrocarburos se vuelve más viscosa y las bacterias disminuyen la velocidad de su metabolismo, estos dos factores provocan que la biodegradación disminuya en estas condiciones. La temperatura óptima para los procesos de biodegradación se sitúa entre 30 y 40 °C, ya que a mayores temperaturas la toxicidad de los hidrocarburos para las membranas aumenta (Tee y col., 2018; Tremouli y col., 2017).

El pH juega un rol importante, ya que influye en los procesos enzimáticos de las bacterias; algunas pueden llegar a dañarse hasta el punto de morir en valores de pH extremos (Tan y col., 2017). Las bacterias con la capacidad de biodegradar los

hidrocarburos de efluentes se caracterizan por ser neutrófilas, adaptadas para funcionar en ambientes neutros, a diferencia de las bacterias presentes en el suelo, que llegan a tener mucha más variación con el pH en valores de 2.5 a 11 (Fernández, 2022). Aun así, los procesos de biodegradación ocurren en un espectro de pH neutro con valores de 6-7 óptimos para estos procesos (Zhou y col., 2020).

Otro factor a considerar es la conductividad del medio: el aumento de la concentración de iones en medios acuosos es una estrategia para disminuir la resistencia interna del sistema. Los medios salinos facilitan la transferencia de electrones y como consecuencia, la biogeneración de corriente (Adelaja y col., 2015), una concentración media de sales mejora la densidad del biofilm sobre el electrodo (Askri y col., 2019), de igual forma, un exceso en la concentración de sales puede llegar a perjudicar el metabolismo bacteriano, disminuyendo la eficiencia del sistema (Tremouli y col., 2017).

II. HIPÓTESIS

La concentración de hidrocarburos en el efluente acuoso disminuirá significativamente como consecuencia de la actividad metabólica de comunidades microbianas electroactivas previamente aclimatadas en una biocelda electroquímica de tres electrodos (C3M), donde el conjunto entre procesos biológicos y electroquímicos promoverá la oxidación y la transformación eficiente de los contaminantes.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Estudiar, caracterizar y optimizar una celda de tres electrodos microbiana (C3M) para degradar hidrocarburos en efluentes acuosos.

III.2. Objetivos específicos

- Implementar una C3M en escala de laboratorio como estudio preliminar para una CCM funcional para la degradación de PAHs en efluentes contaminados artificialmente.
- Determinación de las condiciones de trabajo adecuadas para el funcionamiento de la C3M en diferentes condiciones de laboratorio utilizando muestras contaminadas con hidrocarburos.
- Inocular y adaptar un consorcio microbiano a partir de una muestra de suelo contaminado con hidrocarburos para la degradación de gasolina utilizando la C3M con las condiciones determinadas en el punto anterior.
- Determinar la eficiencia de la degradación de gasolina en el efluente tratado mediante la medición de la demanda química de oxígeno (DQO), y analizar cualitativamente la degradación del contaminante mediante cromatografía de gases para verificar la disminución de los compuestos contaminantes.

IV. METODOLOGÍA

IV.1. Materiales

IV.1.1. Materiales y equipo

- | | |
|--|-------------------------------------|
| - Incubadora Fisher Scientific | - Potenciómetro Hanna HI6221 pH/ORP |
| - Estufa Memmert UN30 | - Potenciostato Basi Épsilon |
| - Campana de Flujo Laminar Thermo Forma Class II | - Pipeta graduada 50 mL |
| - Tubos eppendorf 50 mL | - Vaso de precipitado 100 mL |
| - Vaso de precipitado 1 L | - Microespátula |
| - Crisol de porcelana | - Electrodo de platino |
| - Electrodo de referencia Ag/AgCl | - Electrodo de acero inoxidable |
| - Agitador orbital Dlab SK-0180-S | - Tubos de ensayo 30 mL |
| - Viales de digestión para DQO rango alto HACH | |

IV.1.2. Reactivos

- | | |
|---|--|
| - Extracto de levadura BD Bioxon | - Peptona de caseína BD Bioxon |
| - Peptona de caseína BD Bioxon | - NaCl 99%, Reactivos Química Meyer® |
| - K_2HPO_4 A.C.S. 99%, Reactivos Química Meyer® | - $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ A.C.S. 98%, Reactivos Química Meyer® |
| - KH_2PO_4 A.C.S. 99%, Reactivos Química Meyer® | - $CH_2OH(CHOH)_4CHO$ marca. Reactivos Química Meyer® |

- | | | | |
|----------------------------------|-----|---------|--|
| - NH ₄ Cl | 99% | marca | - C ₆ H ₁₂ O ₆ A.C.S. marca |
| Reactivos | | Química | Reactivos Química Meyer® |
| | | Meyer® | |
| - H ₂ SO ₄ | 98% | marca | - NaOH 97% marca Reactivos |
| Reactivos | | Química | Química Meyer® |
| | | Meyer® | |
| - | | | |

IV.2. Métodos

IV.2.1. Preparación de medios de cultivo

Se prepararon 2 medios de cultivo distintos: medio Luria-Bertani (LB) y medio mínimo salino (M9).

IV.2.1.1. Medio Luria-Bertani (LB)

El medio LB se preparó inicialmente con 5 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de peptona de caseína y 0.5 g/L de NaCl, aforándose a los mL requeridos de medio en un matraz Erlenmeyer en proporción 5:1 con respecto al medio de cultivo, cerrándolo con tapones de algodón y esterilizando durante 15 minutos en autoclave a 120 °C.

Posteriormente, dado que en el análisis con las técnicas electroquímicas aplicadas a la C3M en el punto 4.2.3.2.1., los microorganismos mostraron una respuesta favorable en medio LB adicionado con solución buffer de fosfatos pH 7.

IV.2.1.2. Medio mínimo M9

Para este medio se prepararon 3 soluciones:

- Solución A, sales M9

Preparada con 25.6 g/L de Na₂HPO₄, 6 g/L de KH₂PO₄, 1 g/L de NaCl y 2 g/L, aforados a la cantidad requerida de medio M9 según el ciclo de acondicionamiento del inóculo.

- Solución B, glucosa

Se preparó glucosa 200 mM añadiendo 36.032 g/L de glucosa, aforada en el volumen requerido de medio en un matraz Erlenmeyer, en volumen 5:1.

- Solución C, medio LB

Preparada con 5 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de peptona de caseína y 0.5 g/L de NaCl, aforados a los mL requeridos de medio en un matraz Erlenmeyer en proporción 5:1.

- Solución D, suspensión salina

Se prepararon 10 mL de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ con concentración de 246.48 g/L, aforados en un matraz Erlenmeyer en proporción 5:1.

Una vez preparadas las cuatro soluciones, se esterilizaron en autoclave a 120 °C durante 15 minutos.

IV.2.2. Inoculación de los microorganismos

IV.2.2.1. Preinoculación

Se tomó una muestra de suelo procedente de una zona contaminada con hidrocarburos, ubicada en el perímetro exterior de la Refinería Ing. Antonio M. Amor, ubicado en Salamanca, Guanajuato.

En un matraz de 250 mL se adicionaron 50 mL de medio LB, previamente esterilizado, y 5 g de la muestra de suelo; posteriormente, se incubó durante 24 horas a 30 °C y a 120 rpm.

IV.2.2.2. Inoculación

Se adicionó 1 mL del preinóculo a 50 mL de medio LB estéril en un matraz de 250 mL y se añadió 0.25 mL de contaminante; posteriormente, se incubó durante 24 horas a 30 °C y a 120 rpm.

IV.2.3. Diseño de la C3M

Con el fin de evaluar la respuesta de la comunidad bacteriana a un sistema bioelectroquímico, así como para su aclimatación al contaminante y la selección de las condiciones óptimas para el pH y la temperatura, se estudió un sistema bioelectroquímico sencillo que consistió en una C3M unicameral basada en los estudios realizados por Pérez-García *et al.*, 2023; Ross *et al.*, 2011, y Yang *et al.*, 2017 con algunas modificaciones.

IV.2.3.1. Preparación de los electrodos

Se cortó fieltro de carbono con dimensiones de 2 cm x 2 cm y, para eliminar la hidrofobicidad del material, se realizaron lavados con H_2SO_4 0.5 M, asegurando su inmersión completa en la solución hasta que ninguna burbuja de aire se desprendiera de su superficie. Se sonicaron los electrodos en la solución de H_2SO_4 0.5 M durante 30 minutos y, posteriormente, se enjuagaron con agua desionizada tres veces y se secaron en el horno durante 30 minutos a 150 °C.

IV.2.3.2. Celda electroquímica

Se utilizó una celda unicameral montada en un vaso de vidrio de 300 mL cerrado con un tapón de goma del #13 horadado con 3 orificios donde se colocaron los tres electrodos, como electrodo de trabajo, se utilizó el electrodo de fieltro de carbono preparado en el punto anterior, como electrodo de referencia se utilizó un electrodo Ag/AgCl, y por último, un contraelectrodo de acero inoxidable.

IV.2.3.3. Pruebas electroquímicas preliminares en la C3M para selección de condiciones del medio

Se montó el sistema electroquímico y se esterilizó en autoclave. Posteriormente, se abrió el sistema para añadir 50 mL de medio LB estéril,

y se montó colocando el tapón y sellando con Parafilm. Se nitrogenó la celda durante 5 minutos para disminuir el oxígeno en la C3M, comprobando que no hubiera burbujas de aire en la superficie del electrodo de trabajo que pudieran interferir con el rendimiento.

Se comenzó con la caracterización del electrodo de trabajo (fieltro de carbono), aplicando dos técnicas electroquímicas en un potenciostato: voltametría cíclica de barrido a diferentes velocidades (10, 20, 50 y 100 mV), y espectroscopia de impedancia electroquímica potenciostática (PEIS), por medio de las cuales se analizó el comportamiento del electrodo en el medio LB y el medio LB 10 mM y 100mM con solución buffer fosfatos adicionada, observando una mejor respuesta al medio con buffer adicionado.

IV.2.3.4. Inoculación de la celda

Una vez caracterizado el electrodo en el medio sin inocular, se tomó la celda electroquímica con medio LB+buffer y se le añadió 1 mL de inóculo, se tapó y selló nuevamente con Parafilm, se nitrogenó durante 5 minutos, y se conectó al potenciostato para realizar la caracterización electroquímica que se explicará a continuación.

IV.2.4. Caracterización electroquímica y aclimatación de los microorganismos en la C3M

IV.2.4.1. Descripción de los ciclos

La aplicación de las técnicas electroquímicas se realizó en ciclos que se describirán a continuación, en los que se emplearon 2 técnicas distintas: una voltametría cíclica de barrido a 100 mV s^{-1} y una cronoamperometría de 24-36 horas, según la respuesta observada. Esto, con el fin de lograr la formación y el estudio del biofilm y de su efecto en la respuesta electroquímica del electrodo de trabajo, mediante una serie de ciclos de aclimatación de los

microorganismos, desde un medio con alto contenido de nutrientes hasta uno más limitado, para su adaptación al contaminante.

Cuadro 1. Ciclos y condiciones de la C3M

#Ciclo	Condiciones
Ciclos 1, 2 y 3	50 mL medio LB pH 7 con inóculo
Ciclo 4	10 mL Medio LB pH 7, 25 mL Medio M9 + 25 mL glucosa (M9:glucosa proporción 1:1).
Ciclo 5	50 mL medio M9 + 25 mL glucosa (2:1).
Ciclo 6	50 mL medio M9 + 12.5 mL glucosa (3:1).
Ciclo 7 y 8	50 mL medio M9 + 6.25 mL glucosa (4:1).
Ciclo 9	50 mL medio M9 + 3 mL glucosa + 0.50 mL de contaminante.

Cada ciclo fue mantenido a 30°C durante todo el proceso.

IV.2.4.1.1. Ciclos 1, 2 y 3

Se realizaron los primeros tres ciclos en medio LB para favorecer el crecimiento de los microorganismos en la superficie del electrodo. El primer ciclo comenzó después de la inoculación de la celda en el punto IV.2.3.4., en la celda con el medio LB + buffer fosfatos pH 7 100 mM, a la cual se le aplicaron las técnicas electroquímicas mencionadas.

IV.2.4.1.2. Ciclos 4,5,6,7 y 8

Una vez analizado el cambio en la celda tras la colonización del electrodo, se preparó la nueva celda electroquímica correspondiente al ciclo 4, montada con 10 mL de medio LB, 25 mL de medio M9 y 25 mL de glucosa, para comenzar la serie de ciclos de aclimatación de los microorganismos mediante una reducción gradual de la disponibilidad de nutrientes, hasta llevarlos a condiciones restrictivas. En cada ciclo, bajo las condiciones

especificadas en el Cuadro 1, se aplicó la metodología correspondiente a las técnicas electroquímicas.

Los ciclos 7 y 8 se realizaron bajo las mismas condiciones de medio, con el objetivo de alcanzar una respuesta estable de las bacterias a un medio con disponibilidad limitada de carbono previo a la adición de contaminante.

IV.2.4.1.3. Ciclo 9

Una vez completados los ciclos de aclimatación, se realizó el último ciclo de la celda, adicionando 0.50 mL de contaminante y realizando la caracterización electroquímica.

IV.2.5. Evaluación de la efectividad de degradación del contaminante

IV.2.5.1. Prueba del consorcio

Con el fin de determinar la concentración de contaminante tolerada por los microorganismos, se realizó un estudio preliminar para evaluar su capacidad de respuesta a tres concentraciones diferentes de contaminante: 5, 7.5 y 10 mL/L. Para ello, se utilizaron tres bioceldas independientes, cada una correspondiente a una concentración específica del contaminante; cada condición se evaluó en triplicado. Las bioceldas fueron montadas en vasos de precipitado de 100 mL, al que se le añadieron 70 mL de medio M9, 3 mL de glucosa, y la concentración de contaminante correspondiente.

El experimento tuvo una duración de 26 días; durante este periodo se realizaron muestreos en intervalos de tiempo establecidos, y las muestras se analizaron mediante la determinación de DQO. Los resultados indicaron que los microorganismos presentaron una mejor respuesta a la concentración más alta del contaminante, lo que se tradujo en una disminución del 74% de la DQO. En comparación con las concentraciones baja y media, que presentaron una reducción del 59% y 61%, respectivamente.

IV.2.5.2. Diseño experimental

Para el estudio de la cinética de la degradación del contaminante, se empleó un diseño experimental por triplicado. El experimento estuvo conformado por 6 tubos de ensayo, cada uno con 25 mL de medio de cultivo M9 inoculado con microorganismos provenientes de un inóculo del ciclo 9 de la celda electroquímica, 1 mL de glucosa y 0.25 mL de gasolina.

Cada tubo se destinó a un intervalo de muestreo específico, desde el tiempo inicial t_0 hasta t_5 , con 6 puntos de muestreo en total. Los tiempos entre muestras se presentan a continuación en el Cuadro 2.

Adicionalmente, se incluyeron un blanco negativo (medio M9 con contaminante, sin inoculación microbiana) y un blanco positivo (medio M9 inoculado, en ausencia de contaminante).

Cuadro 2. Cronograma de muestreo.

Muestra	t_0	t_1	t_2	t_3	t_4	t_5
Día de muestreo	0	4	7	14	21	28
Intervalo de muestreo (días)	-	4	3	7	7	7

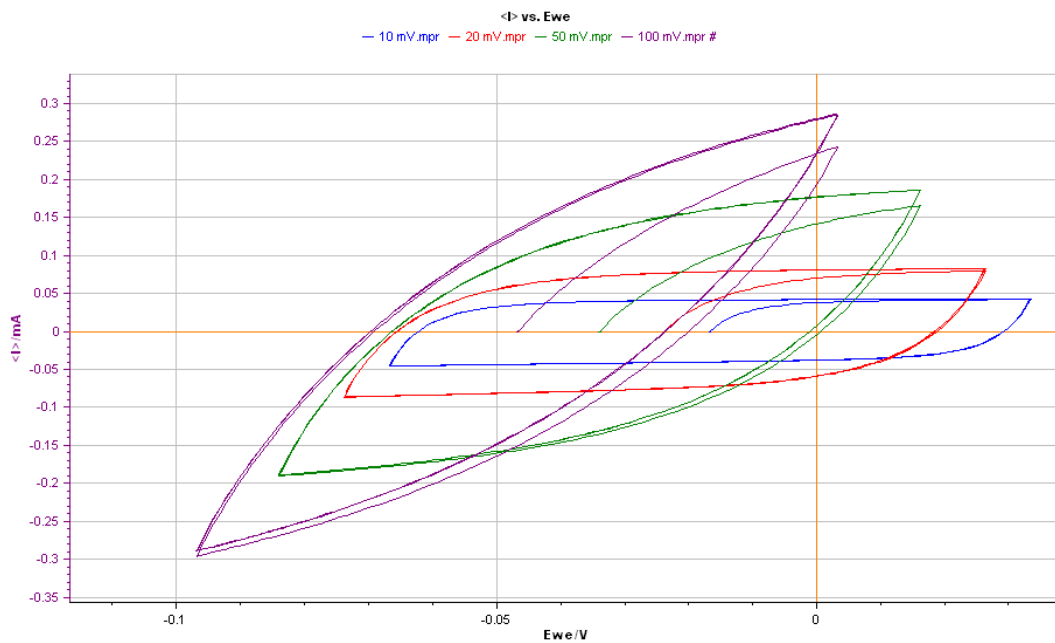
Para medir la degradación del contaminante, se determinó la demanda química de oxígeno (DQO) de cada muestra. En cada tiempo de análisis establecido, se retiró el conjunto de tubos correspondiente y se diluyó la muestra con agua destilada en una proporción de 1:10 antes del proceso de digestión.

Adicionalmente, para confirmar la degradación del compuesto, se llevó a cabo un análisis cualitativo mediante cromatografía de gases empleando un cromatógrafo Agilent modelo 7890 equipado con detector de ionización de flama (CG-FID), a partir de la fracción orgánica de las muestras que fue previamente extraída y separada con hexano.

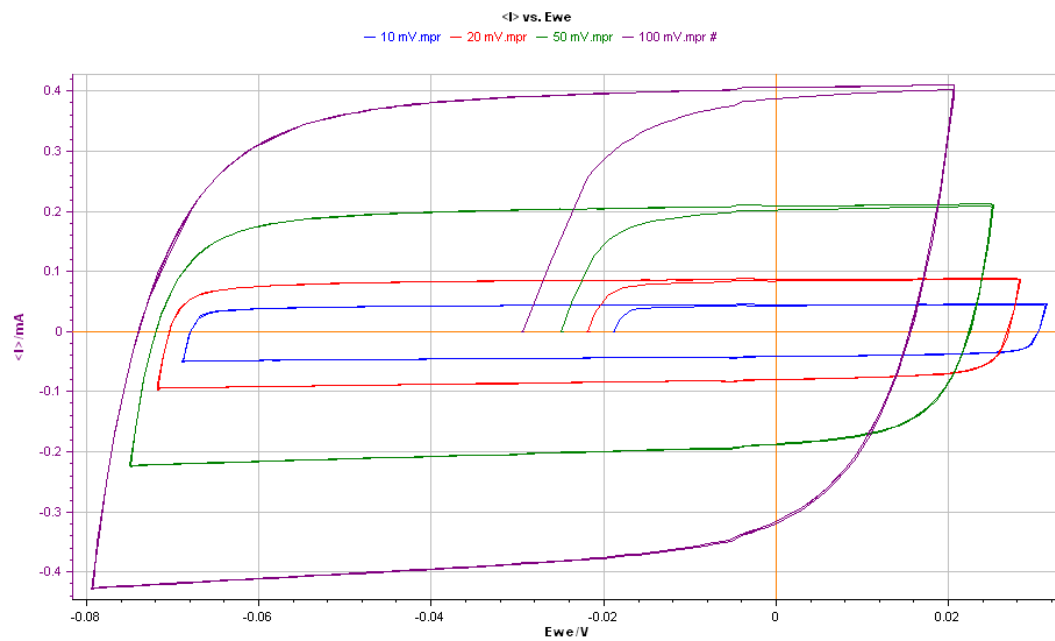
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1. Evaluación electroquímica

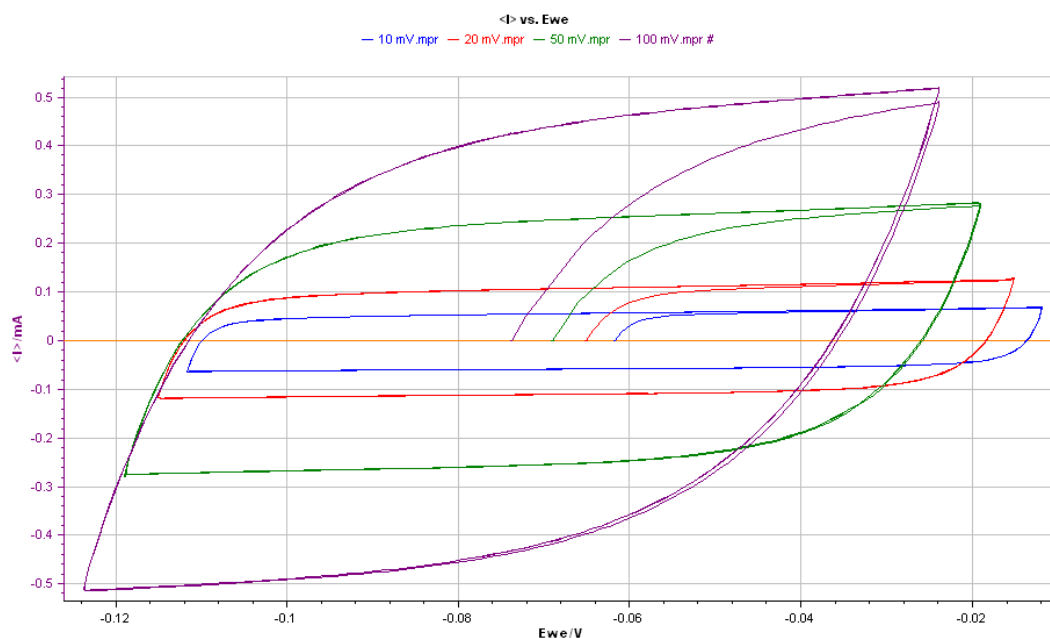
V.1.1. Condiciones óptimas para la celda electroquímica



a)



b)



c)

Figura 8. Voltametrías cíclicas a velocidades de barrido de 10, 20, 50 y 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ en medio LB en concentraciones de a) 10 mM, b) 100 mM y c) 100 mM adicionadas con buffer de fosfatos, pH 7.

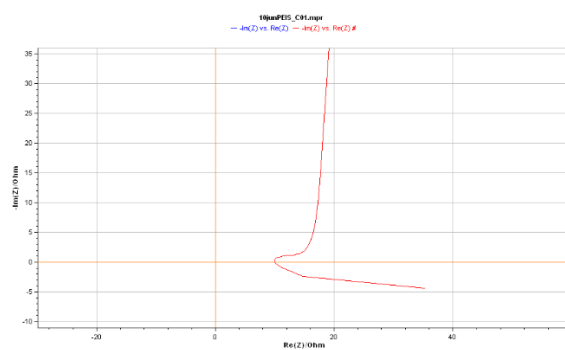
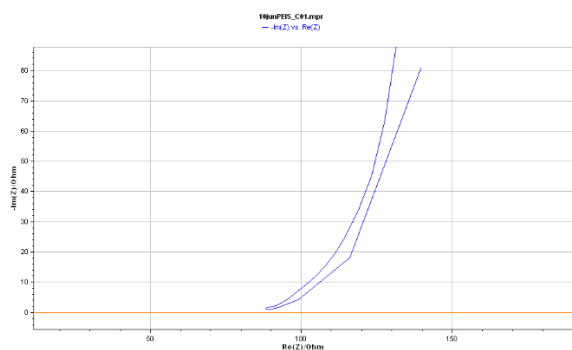


Figura 9. PEIS en medio LB, a) 10 mM y b) 100 mM.

Las voltametrías cíclicas demuestran que, el incremento en la concentración del medio favorece la respuesta electroquímica, que se refleja en un aumento de la conductividad del sistema, observada en la mayor intensidad de corriente

obtenida en la concentración de 100 mM, esta respuesta se explica debido a que concentraciones elevadas del medio incrementan su conductividad al favorecer la transferencia iónica, obteniendo como resultado, corrientes más altas y ciclos voltamétricos más estables asociados a una transferencia de carga más eficiente en la interfaz electrodo-electrolito (Elgrishi y col., 2018). Este comportamiento en la interfaz también se observa en la disminución de la resistencia en las PEIS, identificada en los espectros de impedancia donde se observa la modificación de la forma de los espectros que evidencía un cambio en la superficie del electrodo, y en la aparición de un semicírculo que indica una disminución en la resistencia de transferencia de carga, ambos consistentes con el establecimiento de una biopelícula sobre la superficie del electrodo, y en la disminución de la impedancia a 100 mV s^{-1} , respaldando la mejora cinética del sistema.

El conjunto del efecto favorable mostrado en el aumento de la concentración de medio LB 100 mM y la adición de buffer fosfatos para ajustar el sistema a pH 7 demostró una respuesta más estable en comparación al sistema sin buffer.

La adición de buffer no solo mejora las condiciones electroquímicas del sistema, sino que también beneficia la actividad microbiana al permitir mantener un entorno más estable y favorecer la conductividad iónica del medio. La estabilidad del pH en los sistemas bioelectroquímicos resulta crucial para evitar la acidificación del medio, que puede inhibir la actividad microbiana y limitar la transferencia de electrones, además de favorecer el crecimiento del biofilm en la superficie del electrodo (Zeppilli *et al.*, 2021).

Por estas razones, se seleccionó la concentración del medio LB en 100 mM, adicionado con buffer de fosfatos (pH 7), como condición de trabajo para los experimentos posteriores.

V.1.2. Caracterización electroquímica de la celda

V.1.2.1. Voltametrías cíclicas

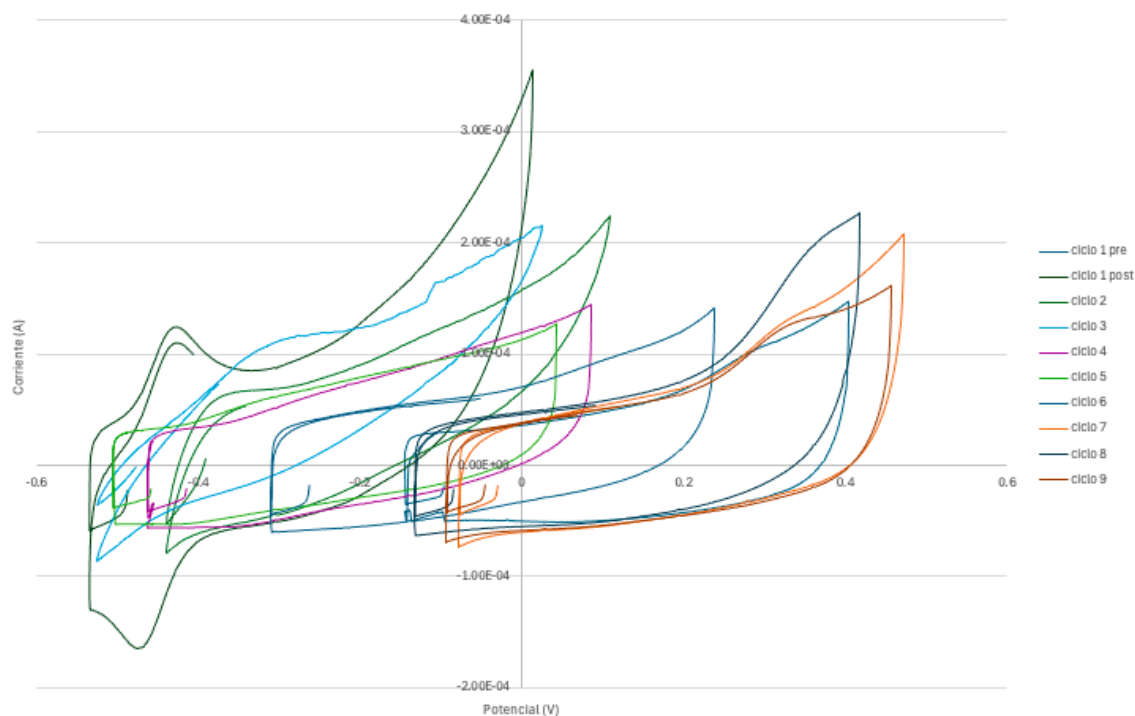


Figura 10. Voltametrías cíclicas a 100 mV s^{-1} de velocidad de barrido de todos los ciclos

La Figura 10 muestra los voltamperogramas obtenidos de las voltametrías cíclicas realizadas en cada ciclo de la experimentación, en ellos se muestra un incremento gradual de la corriente a medida que aumenta el potencial aplicado, sin picos de reducción-oxidación definidos. Se observan curvas sigmoidales, comúnmente reportadas en sistemas bioelectroquímicos con biofilms electroactivos (Richter y col., 2008), donde el aumento progresivo de la corriente puede atribuirse a corrientes catalíticas generadas por el biofilm, lo que explica, a su vez, la ausencia de picos redox. Este comportamiento ha sido descrito en biofilms electroactivos de bacterias como la *Geobacter sulfurreducens* en distintas ocasiones, donde las respuestas voltamétricas son dominadas por corrientes catalíticas más que por picos redox definidos (Richter y col., 2008; Torres y col., 2008; Srikant y col.,

2007), ya que no muestran dependencia a los mediadores redox para transferir electrones al electrodo (Strycharz y col., 2010).

Durante los primeros tres ciclos donde se operó la celda utilizando medio Luria-Bertani (LB), un medio rico en nutrientes y poco selectivo con el fin de favorecer el crecimiento óptimo de los microorganismos y el desarrollo del biofilm sobre la superficie del electrodo, se observó un crecimiento microbiano rápido y evidente, notable físicamente en el desarrollo del biofilm en la superficie del electrodo y el aumento de la turbidez en el sistema al final de la cronoamperometría de cada ciclo. En el análisis electroquímico, las voltametrías cíclicas mostradas en la Figura 10, permiten observar la CV del electrodo previo a la formación del biofilm, donde se observan corrientes bajas y un comportamiento capacitivo del electrodo sin actividad biológica, en contraste, posterior a la colonización (ciclo 1 post) se observa un notable incremento en la corriente, con una corriente máxima del doble en comparación con la voltametría previa a la colonización, demostrando que la transferencia electrónica microbiana comienza como resultado de la adaptación y crecimiento del biofilm en el electrodo.

Los ciclos 2 y 3 continuaron mostrando un incremento en la corriente, atribuible al desarrollo del biofilm electroactivo, que continuó colonizando el electrodo, generando un aumento de la electroactividad que sugiere una mayor transferencia electrónica extracelular y un incremento en la biomasa electroactiva, correspondiente a la maduración del biofilm. En los ciclos 4 y 5 se observan ligeras disminuciones en las corrientes, atribuidas al cambio del medio LB a uno con una mayor proporción de M9. Pese a que el sustrato en limitación restringe el crecimiento adicional del biofilm, se mantiene una actividad electroquímica constante, lo que sugiere la adaptación del biofilm a las nuevas condiciones del sistema. En el ciclo 6, la corriente incrementa nuevamente evidenciando la actividad electroactiva del biofilm, en los ciclos 7 y 8 se observa un mínimo aumento sugiriendo que el biofilm alcanzó un estado casi estacionario, finalmente, en el ciclo 9, donde el contaminante fue adicionado al sistema, se observa una ligera modificación en la forma de la curva y un aumento de corriente

en potenciales positivos, que sugiere la interacción electroquímica del contaminante y la modificación del metabolismo microbiano indicando que el contaminante tuvo interacción con el metabolismo microbiano y efecto en la respuesta electroquímica del sistema.

Es importante destacar dos aspectos relevantes observados en las CV, en primer lugar, se observaron ligeras inflexiones de corriente cercanos al potencial -0.45 V y 0.3 V , estas inflexiones son pequeños aumentos en la corriente en un rango de potenciales atribuidos a la presencia de múltiples componentes redox (Marsili y col., 2008a), que tienen como resultado ligeros aumentos más que picos bien definido, este comportamiento ha sido descrito en sistemas bioelectroquímicos con microorganismos, como es el caso de la *Geobacter sulfurreducens* que presenta el mismo comportamiento en el potencial cercano a -0.35 V a -0.1 V vs Ag/AgCl para mediadores redox atribuidos a citocromos tipo OmcB y OmcZ presentes en la membrana de la bacteria (Richter y col., 2008), en segundo lugar, en la Figura 10 se observa un desplazamiento del potencial hacia valores más positivos en los últimos ciclos de experimentación, un cambio que puede atribuirse a la maduración del biofilm, donde la densidad de proteínas redox en el biofilm se acumula y aumenta modificando los voltamperogramas cíclicos y sus características como el desplazamiento en el potencial y el aumento o disminución de la corriente (Fricke y col., 2008, Richter et al., 2009, Marsili, 2008b).

V.1.2.2. Cronoamperometrías

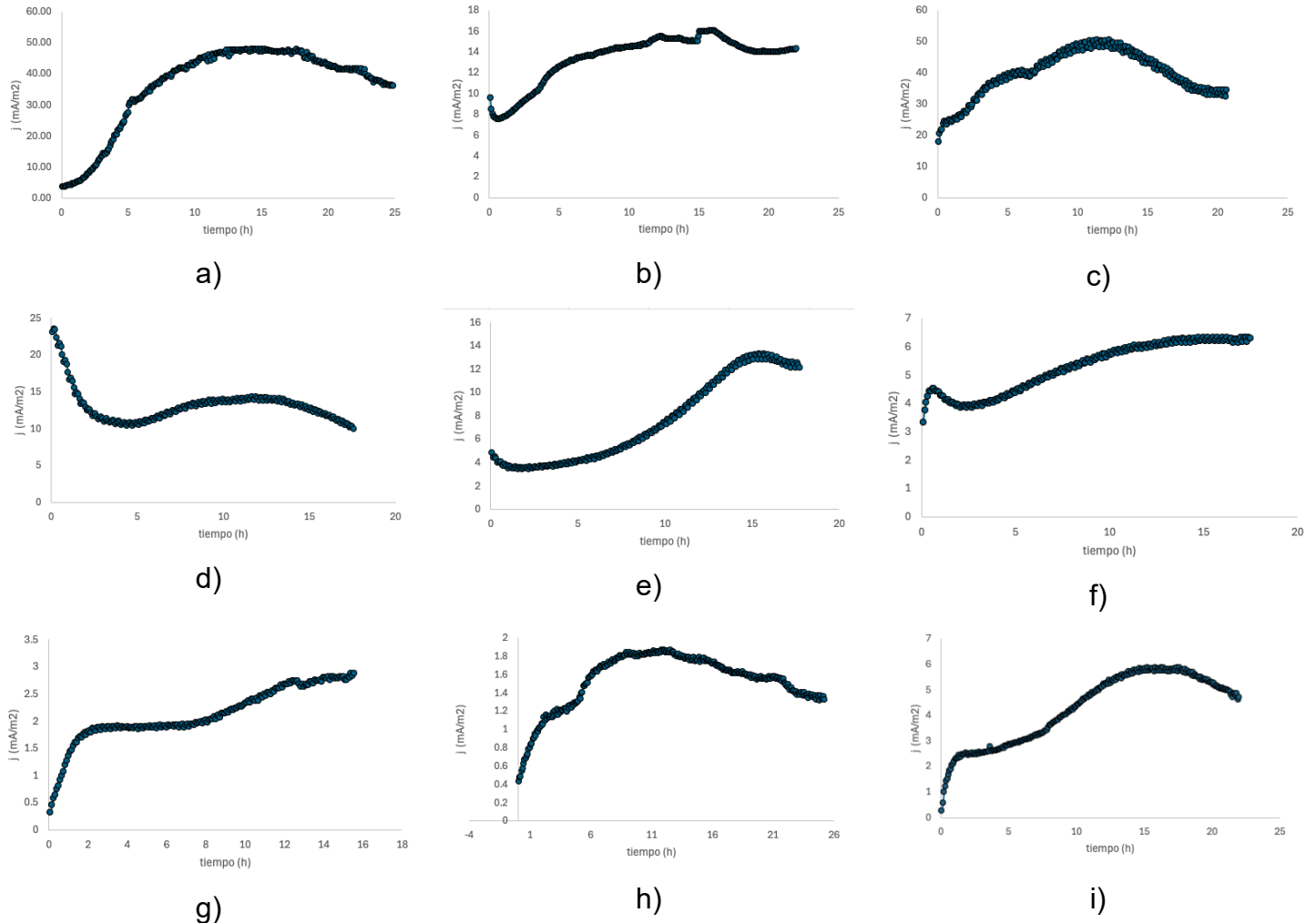


Figura 11. Cronoamperometrías de los ciclos a) ciclo1, b) ciclo 2, c) ciclo 3, d) ciclo 4, e) ciclo 5, f) ciclo 6, g) ciclo 7, h) ciclo 8 y i) ciclo 9.

En la figura 11 se observan cronoamperometrías que siguen una tendencia entre sí donde la corriente muestra un comportamiento de campana, donde alcanza un punto máximo y comienza a disminuir, este se divide en tres etapas: la primera, el aumento de la corriente debido a la activación del metabolismo microbiano y de los mecanismos de transferencia electrónica, la segunda, el pico de corriente que muestra el máximo flujo de electrones y la alta actividad del biofilm debido a la alta

disponibilidad del sustrato, y por último, la disminución de la corriente que se puede atribuir a distintos factores, ya sea el agotamiento del sustrato, la entrada del biofilm en su fase estacionaria, o estrés electroquímico (Parot *et al.*, 2008).

No obstante a que comparten la misma tendencia, cada una presenta variaciones en su comportamiento, reflejadas principalmente en los valores de densidad máxima alcanzados. Los ciclos 1, 2 y 3 revelan el mayor aumento en la densidad de corriente desde el punto inicial hasta el punto máximo, revelando el crecimiento electroactivo como consecuencia de la formación del biofilm en el electrodo, reflejando una transferencia de electrones activa y un metabolismo eficiente por parte de los microorganismos, en el ciclo 3 se observa la cronoamperometría con mayor densidad de corriente y estabilidad, acompañada con una menor caída de corriente, que sugiere a la estabilización del biofilm correspondiente al tercer ciclo en medio LB, etapa cuyo objetivo fue promover la formación de un biofilm desarrollado y estructuralmente estable previo a la limitación de nutrientes en los ciclos subsecuentes. En los ciclos posteriores, las corrientes mostraron una disminución en las corrientes iniciales y densidades de corriente máximas, asociado al cambio en el medio, donde se limitó el sustrato disponible para las bacterias, los ciclos 6-8 muestran una clara limitación metabólica y una disminución de la actividad electroquímica que generó un estrés metabólico. Este efecto se acentúa en el ciclo 8, como resultado de la adición del contaminante y del proceso de adaptación del biofilm a dicha condición que generó estrés metabólico. A pesar de esto, estas condiciones no provocaron la inhibición total del biofilm, ya que el sistema continuó mostrando actividad electroquímica, demostrando que continúa trabajando electroquímicamente, al generar corriente medible aun con las limitaciones impuestas en los distintos ciclos de la metodología. Además de esto, la respuesta a los cambios en el medio y a la adición del contaminante demuestra que el biofilm es adaptable y responde positivamente, mostrando una actividad metabólica dinámica.

Es importante mencionar que el inóculo tomado para el montaje del ciclo nuevo, era tomado en el punto máximo de la respuesta crono amperométrica del ciclo anterior, asociado a la máxima actividad metabólica electroactiva del consorcio microbiano,

buscando favorecer la transferencia electrónica del nuevo ciclo, ya que se ha comprobado que para un crecimiento más rápido del biofilm el reemplazo del medio se debe hacer justo después de la meseta de la corriente máxima (Grimkiewicz *et al.*, 2013).

V.2. Evaluación de la efectividad de degradación del consorcio microbiano

V.2.1. Respuesta del consorcio microbiano a diferentes concentraciones del contaminante

Cuadro 3. Mediciones de DQO para el estudio de la adaptación del consorcio microbiano a distintas concentraciones de contaminante.

Tiempo de muestreo	Dia 0	Dia 6	Dia 13	Dia 19	Dia 26	% disminución
DQO C1 (mg/L)	909	686	595.5	485.5	365.5	59.79
DQO C2 (mg/L)	975.5	786	633	538.5	376	61.45
DQO C3 (mg/L)	1296	878	641	558.5	414	68.05

Como prueba preliminar, se estudió la respuesta de la comunidad microbiana frente a tres concentraciones de contaminante, 5, 7.5 y 10 ml/L, con un tiempo de estudio de 26 días, donde se realizaron 5 muestreos en los días mostrados en el Cuadro 3. Para su análisis por DQO mediante digestión. Los resultados mostraron una mayor actividad degradativa en el sistema con la concentración más alta de contaminante, mostrando una disminución en el DQO de 68.05% con respecto a la concentración inicial. Debido a esto, se eligió una concentración de 10 ml/L de contaminante para la metodología experimental.

V.2.2. Evaluación de la degradación del contaminante

Cuadro 4. DQO mediante el método de digestión para determinar la degradación del contaminante por el consorcio microbiano.

Muestra	t ₀	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	% reducción DQO
Días entre cada muestreo	-	4	3	7	7	7	-
DQO Blanco positivo(mg/ L)	14790	14781	14780	14700	14700	14680	0.74%
DQO Blanco negativo (mg/L)	1630	1330	1190	760	420	310	80.97%
DQO Tratamiento (mg/L)	15296.3 8	14798.3 3	4746.6 6	3546.6 6	900	420	97%

Se estudió la degradación del contaminante por medio de la medición de DQO utilizando el método de digestión. Con el fin de confirmar que la disminución esperada en el DQO del sistema se atribuyera a la degradación del contaminante y no a otros factores, se añadieron dos blancos que fueron estudiados durante todo el periodo de experimentación, el blanco positivo, conformado por medio M9 adicionado con el contaminante, y el blanco negativo, conformado por medio M9 inoculado con los microorganismos sin presencia de contaminante.

El punto inicial de las mediciones (t₀) se realizó inmediatamente después de la preparación simultánea de todos los tubos de ensayo que conformaron el experimento, mientras que los muestreos posteriores se llevaron a cabo de

acuerdo a los tiempos establecidos en el cuadro 4. En el blanco negativo, se aprecia una disminución en el DQO que se atribuye al consumo de la pequeña cantidad de glucosa que existía en el medio al iniciar la experimentación que fue utilizada como fuente de carbono para el mantenimiento y crecimiento inicial del consorcio microbiano, esta mínima disminución, muestra que la glucosa era la fuente de carbono más fácilmente accesible para los microorganismos inoculados. En el blanco positivo, el valor de la DQO aumenta en gran magnitud con respecto al blanco negativo, debido a la presencia del contaminante, sin embargo, este DQO no muestra ninguna disminución significativa a lo largo del periodo experimental debido a que no hay microorganismos presentes en el medio, comprobando que el medio y el contaminante no tienen ninguna interacción entre si que cause la disminución de la DQO, ni tampoco algun proceso de degradación abiótica como la oxidación espontánea en las condiciones del sistema a lo largo del tiempo de estudio. Ambos blancos indican de manera consistente, que cualquier disminución del DQO en el sistema biológico se debe a la interacción entre microorganismos y contaminante.

En el tratamiento experimental, las mediciones de DQO mostraron una disminución del 97% desde el t_0 hasta el t_5 , con valores de 15196.38 mg/L y 420 mg/L respectivamente, evidenciando una alta remoción de la materia orgánica (contaminante) presente en el medio. Esta reducción indica que los microorganismos aceptaron la gasolina como fuente de carbono y energía, logrando una degradación eficiente del contaminante en el sistema a lo largo de los 28 días de estudio. Se observa una caída fuerte en las mediciones de DQO entre el t_1 y t_2 , la cual representa un 65% de la disminución total del tratamiento, sugiriendo una fase exponencial de biodegradación, que se podría atribuir al rápido consumo y degradación de las fracciones del contaminante más fácilmente asimilables por el consorcio microbiano, y por ende, más susceptibles a los procesos de biodegradación.

La alta eficiencia en la degradación de la gasolina, demuestra que el consorcio microbiano tiene un alto potencial de biodegradación para el contaminante

evaluado, sugiriendo la metodología como una posible alternativa para los procesos de biorremediación de hidrocarburos, específicamente en gasolina regular de automóvil.

V.2.3. Cromatografía de gases

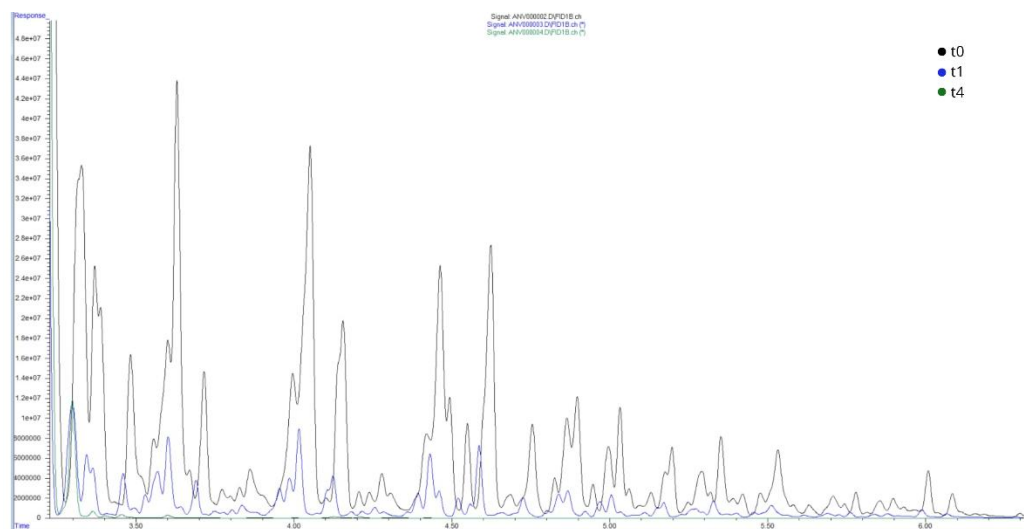


Figura 12. Cromatografía de gases de muestras tomadas en el día 0 (t_0), 6 (t_1) y 21 (t_4).

Se realizó el análisis de la fracción orgánica de las muestras por cromatografía de gases de forma cualitativa debido a la ausencia de estándares, esta metodología resulta útil para realizar una comparación cualitativa entre los tiempos de análisis. Los cromatogramas obtenidos de los tiempos t_0 , t_1 y t_4 (Figura 12), mostraron un perfil complejo con múltiples picos, adecuado para la cromatografía de una sustancia con una naturaleza tan compleja como lo es la gasolina. Se aprecia de manera evidente una disminución en la intensidad de los picos a través de los tiempos de estudio, sugiriendo una reducción significativa de los compuestos orgánicos volátiles de la muestra, respaldando los datos obtenidos en el análisis DQO.

Se observa una disminución de la intensidad de los picos del t_0 al t_1 , y para el t_4 , se puede ver que la gran mayoría de los picos han disminuido por completo y solo algunos cuantos siguen mostrando señales de baja intensidad. Al relacionar estas observaciones con el valor de DQO obtenido en el t_4 donde se mostraba una reducción del 94%, se fortalece la evidencia de que hasta el t_4 , la degradación del contaminante ha ocurrido de manera significativa y casi por completo.

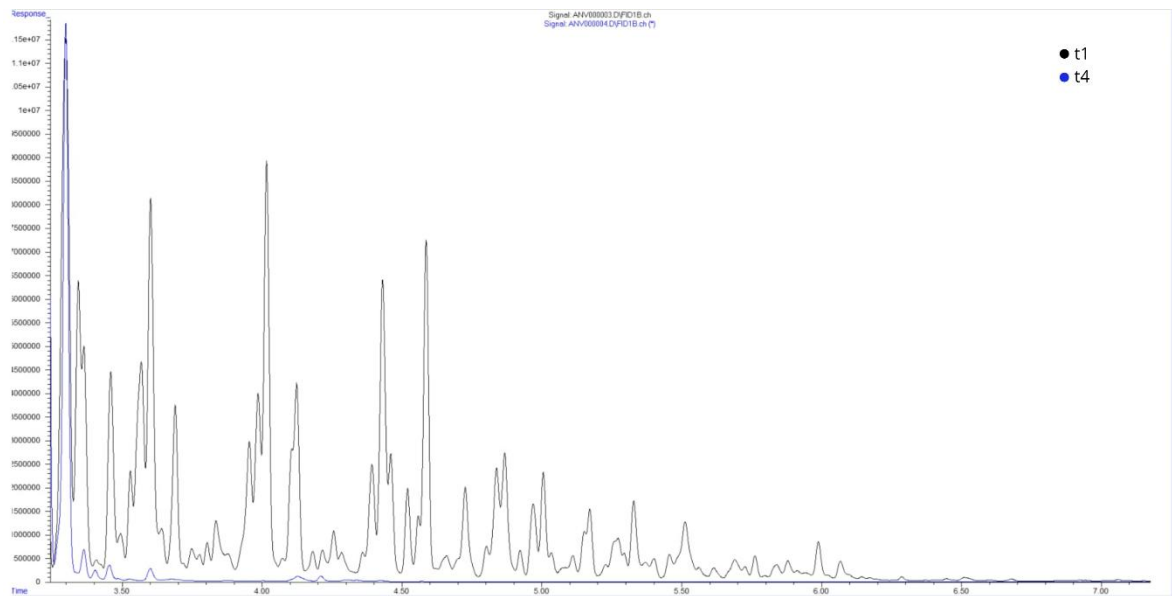


Figura 13. Acercamiento de la cromatografía de gases de las muestras tomadas los días 6 (t_1) y 21 (t_4) durante la experimentación.

En la Figura 13 se observa con mayor claridad que existe cierta selectividad de los microorganismos hacia las especies químicas presentes, con una disminución muy marcada de la mayoría de los picos, a excepción del primer pico del cromatograma, que disminuyó del t_0 al t_1 , pero del t_1 al t_4 permaneció prácticamente igual. Sería interesante alargar el tiempo de estudio para observar el comportamiento del compuesto asociado a dicho pico para lograr observar si su lenta biodegradación se debe a que es un compuesto menos accesible para los microorganismos y es por ello que su degradación ocurre en un proceso que toma más tiempo,

Este comportamiento de estabilidad relativa podría ser estar asociado a diferentes factores. Por un lado, el compuesto podría ser menos accesible para los microorganismos y por ello su degradación ocurre en un proceso que toma más tiempo, asimismo, el compuesto podría estar siendo degradado al mismo tiempo que esta siendo formado como un subproducto de la degradación de otros compuestos presentes, o simplemente, la llegada del sistema a un límite en el proceso de degradación.

VI. CONCLUSIONES

Este estudio muestra que los sistemas bioelectroquímicos son una alternativa eficiente y aplicable para la degradación de la gasolina. La C3M fue una configuración apta para el desarrollo y estabilización de los microorganismos, mostrando una respuesta electroquímica favorable tras la colonización de electrodo.

A partir de las cronoamperometrías se observó un incremento en la densidad de corriente derivado de la actividad electroactiva del biofilm demostrando el establecimiento de procesos de transferencia electrónica asociados al biofilm microbiano formado en la superficie del electrodo, con una densidad de corriente máxima de 50 mA/m^2 en los ciclos de colonización con medio LB y con una respuesta máxima de 6 mA/m^2 , debido a la limitación de nutrientes y al estrés metabólico, pero mostrando que el biofilm se mantuvo activo tras la adición del contaminante, demostrando su adaptabilidad y resistencia al contaminante y sugiriendo la participación del bioelectrodo en procesos de interacción con el contaminante.

La modificación en la forma de las curvas voltamétricas tras la colonización se caracterizó por el cambio a curvas más amplias y con un comportamiento faradáico con inflexiones de corriente que sugieren la participación de distintos centros redox presentes en los microorganismos del biofilm, reflejando la complejidad y variedad de los mecanismos de transferencia electrónica desarrollados en el sistema.

Por otro lado, la comunidad microbiana desarrollada en el sistema bioelectroquímico demostró una elevada capacidad de degradación del contaminante alcanzando una reducción del 97% de la demanda química de oxígeno (DQO) tras 26 días de operación. Esta disminución fue consistente con los cromatogramas obtenidos a partir de una cromatografía de gases cualitativa, donde se observó una reducción notable de los picos de las señales cromatográficas de las muestras.

En conjunto, los resultados obtenidos resaltan el papel fundamental de la interacción entre el biofilm microbiano y la superficie del electrodo en el desempeño de los sistemas bioelectroquímicos. El establecimiento del biofilm favoreció la transferencia de electrones entre los microorganismos y el electrodo, además de mostrar una respuesta favorable al contaminante al responder a su adición al sistema.

Esto destaca el potencial de los sistemas bioelectroquímicos para su estudio y aplicación como una alternativa para los procesos de biorremediación de efluentes contaminados con hidrocarburos, particularmente la gasolina.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Abbasian, F., Lockington, R., Mallavarapu, M., & Naidu, R. (2015) A Comprehensive Review of Aliphatic Hydrocarbon Biodegradation by Bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(3), 670-699. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5>

Acevedo, F. (2010) Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by white-rot fungus *Anthracoxyllum discolor* Sp4 and nanoclay-immobilized manganese peroxidase. [Tesis de doctorado] Universidad de La Frontera Biblioteca Digital.

Adelaja, O., Keshavarz, T., & Kyazze, G. (2015). The effect of salinity, redox mediators and temperature on anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in microbial fuel cells. *Journal of Hazardous Materials*, 283, 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.08.066>

Al-Hawash, A., Dragh, M., Li, S., Alhujaily, A., Haydee, A., Xiaoyu, Z., Fuying, M. (2018) Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(2) 71-76 <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.06.001>

Aljuboury, D.; Palaniandy, P.; Abdul Aziz, H. y Feroz, S. Treatment of petroleum wastewater by conventional and new technologies- A review. *Global NEST Journal*, 19(3), 439–452.

Ambaye, T., Chebbi, A., Formicola, F., Prasad, S., Gomez, F., Franzetti, A. y Vaccari, M. (2022) Remediation of soil polluted with petroleum hydrocarbons and its reuse for agriculture: Recent progress, challenges, and perspectives. *Chemosphere*, 293, 133572. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133572>

ASTDR (1995) TOXICOLOGICAL PROFILE FOR GASOLINE. U.S. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp72.pdf>

ASTDR (2014) ToxFAQs™ for Total Petroleum Hydrocarbons (TPH). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxFAQs/ToxFAQsDetails.aspx?faqid=423&toxid=75>

Australian Laboratory Services (2022) Petroleum Fractions by Carbon Range. ALS global. <https://www.alsglobal.com/-/media/ALSGlobal/Resources-Grid/PetroleumHydrocarbon-Ranges.pdf>

Babior, B. M. (2004) NADPH oxidase. *Current Opinion in Immunology*, 16(1), 42-47. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2003.12.001>

Badia, A. y Burres, E. (2010) A Citizen Monitor's Guide to Hydrocarbons. The Clean Water Team Guidance Compendium for Watershed Monitoring and Assessment State Water Resources Control Board IP3.8.4. https://www.waterboards.ca.gov/water_issues/programs/swamp/docs/cwt/guidance/384.pdf

Bratby, J. (2016) Coagulation and Flocculation in Water and Wastewater Treatment. IWA Publishing, 3(15). <https://doi.org/10.2166/9781780407500>

Bonizol, A, Rodrigues, E., Rueda, J., Pedrino, M., Guazzaroni, M., Guedes, E., Rodrigues, A., Reginatto, V. (2023) Electrobiochemical skills of *Pseudomonas aeruginosa* species that produce procyanin or pyoverdine for glycerol oxidation in a microbial fuel cell. *Chemosphere*, 335. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139073>

Chen, X., Chen, G. y Yue, P. (2000) Separation of pollutants from restaurant wastewater by electrocoagulation. *Separation and Purification Technology*, 19, 65-75. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(99\)00072-6](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(99)00072-6)

Choudhury, P., Prasad, U. S., Bandyopadhyay, T. K., Narayan, R. y Bhunia, B. (2017) Performance improvement of microbial fuel cell (MFC) using suitable electrode and Bioengineered organism: A review. *Bioengineered*, 8(5), 471-487. <https://doi.org/10.1080/21655979.2016.1267883>

Cruz-Narváez, Y., Rico-Arzate, R., CAsto, J., Guajardo, L., Almeraya, S. (2017) Degradación de hidrocarburos del petróleo utilizando un microbioma agrícola. *AGRO Productividad*, 10(4), 92-99. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1009>

Das, N. y Chandran, P. (2011) Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International*, 941810, 1-13. <https://doi.org/10.4061/2011/941810>

Das, B. y Deka, S. (2019) A cost-effective and environmentally sustainable process for phycoremediation of oil field formation water for its safe disposal and reuse. *Scientific reports*, 9(1), 15232. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51806->

De Souza, J., Bonizol, A., Silva, P., dos Santos, A., Umbuzeiro, G., Valente, A., Leite, F., Reginatto, V., Rodrigues, A. (2025) High-Performance Microbial Fuel Cell for Aromatic Hydrocarbon Bioremediation: Leveraging a Unique Mangrove-Derived Electrogenic Consortium. *ACS Omega*, 10(43), 51074-51087. <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c05703>

Dessie, Y., Tadesse, S., Eswaramoorthy, R., Abebe, B. (2019) Recent Developments in Manganese Oxide Based Nanomaterials with Oxygen Reduction Reaction Functionalities for Energy Conversion and Storage Application: A Review. *Journal Science Adv. Mater. Devices*, 4, 353-369. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2019.07.001>

Dominguez, X. (2007) Biocomplexity and Bioelectrochemical Influence of Biofilms in Carbon Steel Deterioration. A Transmission Lines Approach for Electrochemical Impedance Analysis. Tesis doctoral, Mexican Petroleum Institute.

Du, Z., Li, H. y Gu, T. (2007). A state-of-the-art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology advances*, 25(5), 464-482. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.05.004>

El-Sesy, M., Ibrahim, S., Yang, F., Hegazy, A. (2025) Synergeistic remediation of oil-water mixtures: integration of nanoparticles and oil-degrading bacteria in a novel approach. *Front. Microbiol.*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1590636>

El-Sheekh, M.M.; Ismail, M.M. y El-Kassas, H. (2022) A Review of Microalgae- and Cyanobacteria-Based Biodegradation of Organic Pollutants. *Molecules*, 27(3),1141. <https://doi.org/10.3390/molecules27031141>

Elgrishi, N., Rountree, K., McCarthy, B., Rountree, E., Eisenhart, T., Dempsey, J. (2018) A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry, Journal of Chemical Education, 95(2), 197-206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>

Fatehbashar zad, P., Aliasghari, S., Tabrizi, I., Khan, J. y Boczkaj, G. (2022) Microbial fuel cell applications for removal of petroleum hydrocarbon pollutants: A review. Water Resources and Industry, 28, 100178. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2022.100178>

Fernandez, M., Sanchez, X., Puigagut, J. (2023) Exploring the biocapacitance in M3C-based biosensors for the assessment of microbial activity and organic matter. Science of The Total Environment, 904. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166510>

Fernandez, V., Stocker, R., Juarez, G. (2022) A tradeoff between physical encounters and consumption determines an optimal droplet microbial degradation of dispersed oil. Sci. Rep., 18(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08581-7>

Fricke, K., Harnisch, F., & Schroder, U. (2008) On the use of cyclic voltammetry for the study of anodic electron transfer in microbial fuel cells. Energy & Environmental Science, 1, 144-147. <https://doi.org/10.1039/B802363H>

Gnanaswar, V. (2016) Wastewater treatment in microbial fuel cells - an overview. Journal of Cleaner Production, 122(1), 287-307. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.022>

Gobierno de México (2023) INFORME DE SEGURIDAD. Miércoles 22 de marzo 2023. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/810901/CPM_Informe_de_Seguridad_22mar23.pdf

Grattieri, M., Hasan, K., Minteer, S. (2016) Bio-Electrochemical Systems as A Multipurpose Biosensing Tool: Perspective and Future Outlook. ChemElectroChem, 1. <http://dx.doi.org/10.1002/celec.201600507>

Gude, V (2016) Wastewater treatment in microbial fuel cells- an overview. Journal of Cleaner Production, 122, 287-307. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.022>

Guo, H., Tang, S., Xie, S, Wang, P., Huang, C., Geng, X., Jia, X., Huo, H., Li, X., Zhang, J., Zhang, Z. y Fang, J., (2020) The oil removal and the characteristics of changes in the composition of bacteria based on the oily sludge bioelectrochemical system. Scientific reports, 10, 15474. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72405-9>

Hamelers, H., Heijne, A., SLeutels, T., Jeremiasse, A., Strik, D., Buisman, C. (2010) New applications and performance of bioelectrochemical systems. Appl. Microbiol. Biotechnol., 85(6), 1673-1685. [10.1007/s00253-009-2357-1](https://doi.org/10.1007/s00253-009-2357-1)

Hao, D., Li, X., Xiao, P. & Wang, L. (2020) The Utility of Electrochemical Systems in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Discourse, Diversity and Design. Sec. Microbiotechnology, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.557400>

Hassan, R., Febbraio, F., Andreescu, S: (2021) Microbial Electrochemical Systems: Principles, Construction and Biosensing Applications. Sensor, 21, 1279. <https://doi.org/10.3390/s21041279>

Harnisch, F. & Freguia, S. (2012) A Basic Tutorial on Cyclic Voltammetry for the Investigation of Electroactive Microbial Biofilms. Chemistry An Asian Journal, 7, <https://doi.org/10.1002/asia.201100740>

Idris, M., Kim, H., Yaqoob, A. y Ibrahim, M. (2022) Exploring the effectiveness of microbial fuel cells for the degradation of organic pollutants coupled with bio-energy generation. Sustainable Energy Technologies and Assessments, 52(B), 102183. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2022.102183>

Illinois Department of Public Health (2024) Gasolina. Illinois.gov. <https://dph.illinois.gov/topics-services/environmental-healthprotection/toxicology/hazardous-substances/gasoline.html>

- Isahak, W., Shaker, L y Al-Amiery, A. (2022) Oxygenated Hydrocarbons from Catalytic Hydrogenation of Carbon Dioxide. *Catalysts*, 13(1), 115. <https://doi.org/10.3390/catal13010115>
- Sheppard, P., Kadali, K., Simons, K., & Ball, A. (2012) Mineralization of weathered crude oil by a hydrocarbon plastic consortium in marine microcosms. *Water Air Soil Pollut*, 223, 4283-4295. <https://doi.org/10.4014/jmb.1201.01049>
- Kumari, B., Singh G., Sinai, G:, Singh, D. (2020) Microbial Remediation of Crude Oil-Contaminated Sites. *Environmental Concerns and Sustainable Development*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5889-0_17
- Leon-Fernandez, L.F., Medina-Díaz, H.L., Pérez, O.G., Romero, L.R., Villaseñor, J. y Fernández-Morales, F.J. (2021), Acid mine drainage treatment and sequential metal recovery by means of bioelectrochemical technology. *Journal of Chemical Technology & Biotechnol*y, 96(6), 1543-1552. <https://doi.org/10.1002/jctb.6669>
- Li, W.-W., Yu, H.-Q. y He, Z. (2013). Towards sustainable wastewater treatment by using microbial fuel cells4 centered technologies. *Energy Environmental Science*, 7(3), 911-924. <http://doi.org/10.1039/C3EE43106A>
- Li, F:, Zheng, Z:, Yang, B., Zhang, X., Li, Z., Lei, L. (2016) A laminar-flow based microfluidic microbial three-electrode cell for bio sensing. *Electrochemical Acta*, 199, 45-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2016.03.138>
- Liu, P., Wen, S., Zhu, S., Hu, X., Wang, Y. (2025) Microbial Degradation of Soil Organic Pollutants: Mechanisms, Challenges, and Advances in Forest Ecosystem Management. *Processes*, 13, 919. <https://doi.org/10.3390/pr13030916>
- Love, C.R., Arrington, E.C., Gosselin, K.M., Reddy, C., Van Mooy, B.A., Nelson, R. y Valentine, D. (2021) Microbial production and consumption of hydrocarbons in the global ocean. *Nature Microbiology*, 6(4), 489–498. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-00859-8>

Madigan, M. T., J. M. Martinko, y J. Parker. 1999. Brock: Biología de los Microorganismos. Prentice Hall. Octava Edición. 1064 p.

Marsili, E., Rollefson, J., Baron, D., Hozalski, R., Bond, D. (2008a) Microbial Biofilm Voltammetry: Direct Electrochemical Characterization of Catalytic Electrode-Attached Biofilms. Applied And Environmental Microbiology, 74(23), 7329-7337 <https://doi.org/10.1128/aem.00177-08>

Marsili, E., Baron, D., Shikhare, I., Coursolle, D., Gralnick, J., & Bond, D: (2008b) Shewanella secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. Proc Natl. Academy Sci., 105 (10), 3968.3973. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710525105>

Medina, J., García, F., Paricaguán, B. (2014) Biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos en suelos contaminados provenientes de la bahía de Amuay del Estado Falcón. Revista INGENIERÍA UC, 21 (1), 62.69. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=70732642007>

Mohammadi, L., Rahdar, A., Bazrafshan, E., Dahmardeh, H., Hasan, A. y Kyzas, G. (2020) Petroleum Hydrocarbon Removal from Wastewaters: A Review. Processes, 8(4), 447. <https://doi.org/10.3390/pr8040447>

Monzon, O., Yang, y., Yu, C., Li, Q. y Álvarez, P. (2015) Microbial fuel cells under extreme salinity: performance and microbial analysis. Environmental Chemistry, 12, 293-299. <https://doi.org/10.1071/EN13243>

Morris, J. y Jin, S. (2008) Feasibility of using microbial fuel cell technology for bioremediation of hydrocarbons in groundwater. Journal of Environmental Science and Health, Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 43(1), 18-23. <https://doi.org/10.1080/10934520701750389>

Nandy, A., Radovic, J., Novotnik, B., Sharma, M., Larter, S. y Thangadurai, V. (2020) Investigation of crude oil degradation using metal oxide anode-based microbial fuel cell. Bioresource Technology Reports, 11, 100449, <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100449>

Navy Closure Task Force (2022) Total Petroleum Hydrocarbons. https://jbphhsafewaters.org/public/Fact_Sheet_TPH_03072024.pdf

Olah, G. (1999) Hydrocarbons for the 21st Century - Thew Work of the Locker Hydrocarbon Research Institute. Nobel Prize organization. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1994/olah/article/>

Olah, G., & Molnar, A. (2003) Hydrocarbon Chemistry, Editorial Wiley-Interscience. <http://dx.doi.org/10.1002/0471433489>

Ortinez, O., Ize, I., Gavilán, A. (2003) La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México. Gaceta Ecológica, 69(1), 83.92. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <https://www.redalyc.org/pdf/539/53906906.pdf>

Ossai, I., Ahmed, A., Hassan, A. y Hamid, F. (2020) Remediation of oil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. Environmental Technology & Innovation, 17, 100526. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100526>

O'Malley, G. y O'Malley, F. (2022) Envenenamiento con hidrocarburos. MANUAL MSD Versión para profesionales. <https://www.msmanuals.com/es/professional/lesiones-y-envenenamientos/intoxicaci%C3%B3n/envenenamiento-con-hidrocarburos>

Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, K. y Vanbroekhoven, K. (2010) A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. Bioresource Technology, 101(6), 1553-1543. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.017>

Pandolfo, E., Barra Caracciolo, A. y Rolando, L. (2023) Recent Advances in Bacterial Degradation of Hydrocarbons. Water, 15(2), 375. <https://doi.org/10.3390/w15020375>

Parot, S., Délia, M., Bergel, A. (2008) Forming electrochemically active biofilms from garden compost under chronoamperometry. Bioresource technology, 99(11), 4809-4816. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.047>

- Peterson, C. H., Rice, S. D., Short, J. W., Esler, D., Bodkin, J. L., Ballachey, B. E. y Irons, D. (2003). Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill. *Science*, 302, 2082–2086. <https://doi.org/10.1126/science.1084282>
- PrévotEAU, A., Rabaey, K. (2017) Electroactive Biofilms for Sensing: Reflection and Perspectives. *ACS Sensors*, 2(8), 1072-1085. <https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00418>
- Radwan, M., Alalm, M.G. y El-Etriby, H.K. (2019) Application of electro-Fenton process for treatment of water contaminated with benzene, toluene, and p-xylene (BTX) using affordable electrodes. *Science*, 302(5653), 2082-1086. <https://doi.org/10.1126/science.1084282>
- Rahman, S., Mourshed, M., Kibria, G., Shabani, B. (2025) The Potential of Microbial Fuel Cells as a Dual Solution for Sustainable Wastewater Treatment and Energy Generation: A Study. *Energies*, 18(4), 3725. <https://doi.org/10.3390/en18143725>
- Ravindra, K., Sokhi, R. y Van Grieken, R. (2008). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment*, 42(13), 2895–2921. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.12.010>
- Rayaroth, M., Marchel, M. y Boczkaj, G. (2023) Advanced oxidation processes for the removal of mono and polycyclic aromatic hydrocarbons – A review. *Science of The Total Environment*, 857(2), 159043. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159043>
- Reeves, G. (2005). Understanding and monitoring hydrocarbons in water. Oakville, Ontario, Canada: Arjay Engineering LTD.
- Richter, H., Nevin, K., Jia, H., Lowy, D., Lovley, D., Tender, L. (2009) Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer. *Energy Environmental Science*, 2, 506-516. <https://doi.org/10.1039/b816647a>

Saliot, A. (1981). Chapter 11 Natural hydrocarbons in sea water Alain Saliot. Elsevier Oceanography Series. [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(08\)70333-7](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)70333-7)

Saravanan, A., Senthil, P., Anh, P., Rangasamy, G. (2022) Strategies for microbial bioremediation of environmental pollutants from industrial wastewater: A sustainable approach. Chemosphere, 313. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137323>

Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B. y Ieropoulos, I. (2017) Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. Journal of Power Sources, 356, 225-244 <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.109>

Shi, L., Dong, H., REGuera, G., Beyenal, H., Lu, A., Liu, J., YU, H., Fredrickson, J. (2016) Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. Nat. Rev. Microbiology, 14, 651-662. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.93>

Secretaría de la Defensa Nacional y Secretaría de Marina (2023) PRIMER INFORME SEMESTRAL DE LA FUERZA ARMADA PERMANENTE EN TAREAS DE SEGURIDAD PÚBLICA. Gobierno de México https://infosen.senado.gob.mx/sgsp/gaceta/65/2/2023-05-31-1/assets/documentos/Primer_Informe_Fuerzas_Armadas_SP.pdf

Secretaría de Energía (2019) A dos meses de que se implementó el Plan contra el huachicoleo se ha logrado disminuir el robo de combustibles en un 75%. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/sener/en/articulos/a-dos-meses-de-que-seimplemento-el-plan-contra-el-huachicoleo-se-ha-logrado-disminuir-el-robo-decombustibles-en-un-75>

Speight, J. (2011) Manual de Procesos Industriales de Hidrocarburos. Publicación Profesional del Golfo. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-18464-7>

Strycharz, S., Malanoski, A., SNider, R., YI, H., Lovley, D., Tender, L. (2010) Application of cyclic voltammetry to investigate enhanced catalytic current generation by biofilm-modified anodes of *Geobacter sulfurreducens* strain DL1 vs. variant strain

KN400. Energy & Environmental Science, 4, 896.
<https://doi.org/10.1039/C0EE00260G>

Srikanth, S., Marsili, E., Flickinger, M., Bond, D. (2008) Electrochemical Characterization of *Geobacter Sulfurreducens* Cells Immobilized on Graphite Paper Electrodes. Biotechnology Bioengineering, 99(5), 1065-1073.
<https://doi.org/10.1002/bit.21671>

Srivastava, M., Srivastava, A., Yadav, A. y Rawat, V. (2019). Source and Control of Hydrocarbon Pollution. Intech Open. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86487>

Tan, S. P., Kong, H. F., Bashir, M. J. K., Lo, P. K., Ho, C.-D., & Ng, C. A. (2017). Treatment of palm oil mill effluent using combination system of microbial fuel cell and anaerobic membrane bioreactor. Bioresource Technology, 245, 916–924.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.202>

Tee, P., Abdullah, M. O., Tan, I. A. W., Amin, M. A. M., Nolasco-Hipolito, C., & Bujang, K. (2018). Bio-energy generation in an affordable, single-chamber microbial fuel cell integrated with adsorption hybrid system: effects of temperature and comparison study. Environmental Technology, 39(8), 1081–1088.
<https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1320433>

Torres, C., Kato, A., Rittmann, B. (2008) Proton transport inside the biofilm limits electrical current generation by anode-respiring bacteria. Biotechnology Bioeng. 100(5), 872-881. <https://doi.org/10.1002/bit.21821>

Tremouli, A., Martinos, M., & Lyberatos, G. (2017). The Effects of Salinity, pH and Temperature on the Performance of a Microbial Fuel Cell. Waste and Biomass Valorization, 8(6), 2037–2043. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9712-0>

Tormoehlen, L. M., Tekulve, K. J. y Nañagas, K. A. (2014). Hydrocarbon toxicity: A review. Clinical Toxicology, 52(5), 479-489.
<https://doi.org/10.3109/15563650.2014.923904>

- Touliabah, H., El-Sheekh, M., Ismail, M y El-Kassas, H. (2022) A review of Microalgae and Cyanobacteria-Based Biodegradation of Organic Pollutants. *Molecules*, 7(3), 1141. <https://doi.org/10.3390/molecules27031141>
- Truskewycz, A., Gundry, T. D., Khudur, L. S., Kolobaric, A., Taha, M., Aburto-Medina A., Ball, A. S. y Shahsavari, E. (2019) Petroleum Hydrocarbon Contamination in Terrestrial Ecosystems-Fate and Microbial Responses. *Molecules*, 24(18), 3400. <https://doi.org/10.3390/molecules2418340>
- U.S. Energy Information Administration (2016) Chapter 8. Transportation sector energy consumption. EIA, sitio web: <https://www.eia.gov/outlooks/ieo/pdf/transportation.pdf>
- Vanclay, F. (2002) Conceptualizing social impacts. *Environmental Impact Assessment Review*, 22(3), 183-211. [https://doi.org/10.1016/S0195-9255\(01\)00105-6](https://doi.org/10.1016/S0195-9255(01)00105-6)
- Varnava, C., Grenni, P., Mariani, L., Caracciolo, B., Hadjipakkou, H., Lefkaritis, G., Pinakoulaki, E. (2024) Characterization, production optimization and ecotoxicity of a lipopeptide biosurfactant by *Pseudomonas citronellolis* using oily wastewater. *Biochemical Engineering Journal*, 205. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2024.109257>
- Varjani, S. (2017) Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223, 277-286. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>
- Varjani, S., Upasani, V., (2016) Core flood study for enhanced oil recovery through ex-situ bio augmentation with thermo-and halo-tolerant rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514. *Bioresource Technology*. 220, 175-182. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.060>
- Volkman, J. K., Holdsworth, D. G., Neill, G. P. y Bavor, H. J. (1992). Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *Science of The Total Environment*, 112(2-3), 203–219. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(92\)90188-x](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90188-x)

Wang, X., Cai, Z., Zhou, Z., Zhang, Z., Chen, C. (2012) Bioelectrochemical stimulation of petroleum hydrocarbon degradation in saline soil using U-tube microbial fuel cells. *Biotechnology Bioengineering*, 109(2), 426-433. [10.1002/bit.23351](https://doi.org/10.1002/bit.23351)

Wilkes, H., Schwarzbauer, J. (2010) *Hydrocarbons: An Introduction to Structure, Physico-Chemical Properties and Natural Occurrence*. (1a edición) *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_1

Xiaodan, S., Yuqian, Y., Jiahui, L., Andrey, S., Smirnov, P.V., Yakov, K. (2022) Organic Mulching Increases Microbial Activity in Urban Forest Soil. *Forests*, 13, 1352. <https://doi.org/10.3390/f13091352>

Zamora, A., Ramos, J. y Arias, M. (2012) EFECTO DE LA CONTAMINACION POR HIDROCARBURO SOBRE ALGUNAS PROPIEDADES QUIMICAS Y MICROBIOLOGICA DE UN SUELO DE SABANA. *Bioagro*, 4(1): 5-12. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85723518002>

Zhao, C., Zhou, J., Yan, Y., Yang, L., Xing, G., Wu, P., Wang, M. y Zheng, H. (2021) Application of coagulation/flocculation in oily wastewater treatment: A review. *Science of The Total Environment*, 765, 142795. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142795>

Zhu, J., Chen, B., Ni, M., Xu, H. (2025) A mini-review on three-electrode configuration for Solid Oxide Cells. *Energy Reviews*, 4(2), <https://doi.org/10.1016/j.enrev.2024.100128>