

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD A PARTIR DE MICROALGAS, AGUAS
RESIDUALES Y CO₂**

Por

ROGELIO DEL ÁNGEL HERNÁNDEZ VÁZQUEZ

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS con Orientación en
Procesos Sustentables**

Noviembre 2025

GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD A PARTIR DE MICROALGAS, AGUAS RESIDUALES Y CO₂

Aprobación de la Tesis:

Dra. Shadai Lugo Loreda
Directora de Tesis

Dr. Hugo Alberto Luna Olvera
Codirector de Tesis

Dr. Andrea Quetzalli Cerdán Pasarán
Comité Revisor

Dr. Sanal Kozhiparambil Chandran
Comité Revisor

Dr. Julio Silva Mendoza
Comité Revisor

Dra. María Elena Cantú Cárdenas
Subdirectora de Estudios de Posgrado

RESUMEN

En la actualidad, el aumento de la población mundial ha incrementado la explotación de recursos como el agua y la electricidad. Las formas convencionales de atacar estos problemas incluyen plantas de tratamiento de aguas residuales y generación de energía mediante combustibles fósiles, lo que ha provocado que las emisiones de CO₂ alcancen 37.8 mil millones de toneladas en 2024. Este trabajo propone una alternativa mediante un sistema bioelectroquímico de dos cámaras que permite generar energía mientras trata aguas residuales y disminuye el CO₂ atmosférico. En la cámara anódica se colocaron aguas residuales y en la catódica, microalgas con CO₂ suministrado. Las bacterias produjeron electrones que viajaron por un circuito externo hasta el cátodo, donde las microalgas liberaron oxígeno tras absorber carbono del CO₂. Los resultados mostraron remoción de contaminantes superior al 96%, remoción de CO₂ hasta del 100% y producción eléctrica máxima de 294.37 mW/m², comparable con valores reportados en la literatura.

Rogelio del Ángel Hernández Vázquez

Fecha de Obtención de Grado:

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

**Título del Estudio: GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD A PARTIR DE
MICROALGAS, AGUAS RESIDUALES Y CO₂**

Número de páginas: 114

**Candidato para el grado de Maestría en
Ciencias con Orientación en Procesos
Sustentables**

Área de Estudio: Procesos Sustentables

Propósito y Método del Estudio:

Contribuciones y Conclusiones:

Firma del asesor:

ÍNDICE

Contenido	Página
RESUMEN	3
DEDICATORIAS	3
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS	8
NOMENCLATURA.....	11
INTRODUCCIÓN.....	13
ANTECEDENTES	18
2.1. Sistemas bioelectroquímicos (BES).....	18
2.1.1. Celdas de combustible microbiana (MFC).....	18
2.1.2. Celdas de bioelectrosíntesis (MES).....	19
2.1.3. Celdas biofotovoltaicas (BPV).....	20
2.1.4. Sistemas híbridos con microalgas	21
2.2. Configuración de celda.....	22
2.2.1. Tipos de materiales utilizados como electrodo en sistemas con organismos fotossintéticos	22
2.3. Rendimiento de los sistemas bioelectroquímicos con microalgas y aguas residuales	25
2.3.1. <i>Chlorella</i> sp.	25
2.3.2. <i>Scenedesmus</i> spp.....	25
2.3.3. Otras microalgas	26
2.4 Justificación del Proyecto	26
2.5 Descripción del Proyecto	27
2.6 Marco Teórico	28
2.6.1. La fotosíntesis como base del funcionamiento	28
2.6.2. Importancia de los electrodos en el sistema	33
2.6.3. Proceso de generación de energía en los sistemas bioelectroquímicos	35
2.6.4. Mecanismos de remoción de metales pesados en aguas residuales	37
2.6.5. Composición fisicoquímica aguas residuales	39
2.6.6. Composición microbiológica de aguas residuales	40
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	42
3.1 Hipótesis	42
3.2 Objetivo General	42
3.3 Objetivos Específicos	42
4. MATERIALES Y MÉTODOS	43
4.1 Materiales y Equipos	43

4.1.1 Reactivos	43
4.1.3 Equipos de Laboratorio	44
4.2 Metodología Experimental.....	45
4.2.1. Obtención e identificación de microalgas <i>Scenedesmus</i> sp y <i>Chlorella</i> sp.....	45
4.2.2. Medios de cultivo	45
4.2.3. Cultivo de microalgas	49
4.2.4. Crecimiento de microalgas	50
4.2.5. Construcción de la celda.....	51
4.2.6. Caracterización de aguas residuales	52
4.2.7. Pruebas bioelectroquímicas.....	66
4.2.8. Microscopía electrónica de barrido.....	67
4.2.9. Remoción de CO ₂	67
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
5.1. Identificación microscópica de microalgas	69
5.2. Cultivo de microalgas	70
5.2.1. Medios de cultivo sintéticos.....	70
5.3. Construcción de la celda	79
5.4. Caracterización aguas residuales.	80
5.4.1. NOM-001-SEMARNAT-2021	80
5.4.2. Caracterización microbiológica.....	81
5.4.3. Otros parámetros	91
5.5.3. Disminución de contaminantes	95
5.6. Pruebas bioelectroquímicas.....	96
5.6.1. Densidad de potencia.....	96
5.7. Remoción de CO ₂	98
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	101
REFERENCIAS.....	103

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición de medios de cultivo sintéticos utilizados para microalgas. Valores expresados en gramos a menos de que se indique lo contrario. Cantidades expresadas para preparar 1 L de medio de cultivo.....	45
Tabla 2. Composición de la solución EDTA mostrada en la tabla 2 para los medios de cultivo sintéticos. Cantidades expresadas para preparar 1 L de solución ⁷²	46
Tabla 3. Composición de la solución de elementos traza para el medio de cultivo Bold Basal mostrado en la Tabla 2. Cantidades expresadas para preparar 1 L de solución ⁷²	46
Tabla 4. Composición de la solución de elementos traza para el medio de cultivo BG-11 mostrado en la tabla 2. Cantidades expresadas para preparar 1 L de solución ⁷³	47
Tabla 5. Composición del agar nutritivo. Cantidades expresadas para preparar 1 L de medio ⁷⁷	56
Tabla 6. Resultados de los parámetros de la NOM-001-SEMARNAT-2001 analizados en el agua residual del sedimentador primario.....	80
Tabla 7. Comparación de los límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2001 y el tratamiento secundario de la PTAR.....	80
Tabla 8. Comparación de los límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2001 y el tratamiento de la microalga Chlorella sorokiniana.	81
Tabla 9. Resultados de la tinción de gram para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.....	83
Tabla 10. Morfología de las células bacterianas presentes en las aguas residuales antes y después del tratamiento bioelectroquímico.	84
Tabla 11. Resultados de la prueba de oxidasa para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.....	84
Tabla 12. Resultados de la prueba de catalasa para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.....	85
Tabla 13. Resultados de la prueba de fermentación de lactosa para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.	86
Tabla 14. Resultados de la prueba de producción de H ₂ S para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.	86

Tabla 15. Resultados de la prueba de producción de Indol para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.	87
Tabla 16. Resultados de la prueba de motilidad para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.....	88
Tabla 17. Resultados de la prueba de crecimiento en altas concentraciones de sal (NaCl 6.5%) para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.	89
Tabla 18. Resumen de los resultados pruebas bioquímicas para las bacterias presentes en agua residual y en la celda. (+) Positivo, (-) Negativo.	89
Tabla 19. Caracterización de agua residual: Salinidad y conductividad.	92
Tabla 20. Concentración de contaminantes presentes en las aguas residuales en las distintas fases del proceso.....	95
Tabla 21. Porcentajes de remoción máxima de los contaminantes en comparación con los valores iniciales del agua residual.	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Productos y aplicaciones derivados de las microalgas. Adaptada de Abo, B., et al. (2018) 20.....	16
Figura 2. Diagrama de una celda de combustible microbiana típica. Reimpresión de Logan, B., et al. (2006) 24	19
Figura 3. Esquema de una celda de bioelectrosíntesis. Se pueden observar algunos de los productos que se pueden generar. Reimpresión de Rosenbaum, M., et al. (2017) 33 ...	20
Figura 4. Diagrama típico de una celda biofotovoltaica. Reimpresión de Tshörtner, J., et al. (2019) 35.....	21
Figura 5. Comparación de las diferentes generaciones de electrodos utilizados en sistemas bioelectroquímicos e imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de los materiales. Figura adaptada de Wey, T., et al., (2019). * Figura adaptada de Kim, J., et al., (2025) 47.....	23
Figura 6. Esquema general de las reacciones dependientes de la luz de la fotosíntesis. Reimpresión de Fowler, S., et al (2013) ⁵⁴	30
Figura 7. Ciclo de Calvin-Benson. La figura muestra las tres fases del ciclo. Reimpresión de Fowler, S., et al. (2013) ⁵⁴	32
Figura 8. Esquema de la fotosíntesis de un microorganismo fotosintético (cianobacteria) y su transferencia de electrones con la interacción con el ánodo. En este esquema la transferencia de electrones desde el interior de la célula se lleva a cabo por la presencia de un mediador externo de electrones como el $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-3}$. Reimpresión de Bombelli, P., et al., 2011) ⁵⁹	35
Figura 9. Mecanismos de la transferencia de electrones en microalgas dentro de dispositivos biofotovoltaicos. Reimpresión de Wey, L., et al. (2019) ⁴⁶	37
Figura 10. Mecanismos de biosorción y bioacumulación en microalgas para la remoción de contaminantes presentes en aguas residuales. Reimpresión de Chan, S., et al. (2022) ⁶⁶	39
Figura 11. PTAR Norte de Agua y Drenaje de Monterrey. Reimpresión de Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey (2023)	48
Figura 12. Esquema general del proceso de tratamiento de la PTAR Norte, en Escobedo, Nuevo León. Reimpresión de Agua y Drenaje de Monterrey (2022).	49
Figura 13. Rejilla de Neubauer, se pueden observar las divisiones de los cuadrados para facilitar el conteo celular. Reimpresión de Arredondo, B., et al (2007) ⁷⁴	50

Figura 14. Diferencias en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas, se observa como la Gram negativa tiene una presencia menor de peptidoglicano en comparación con la Gram positiva, lo que permite a los colorantes de la tinción poder contrastar las diferencias entre una y otra. Reimpresión de Parada-Puig, (2021).....	57
Figura 15. Diferentes tipos de morfologías bacterianas. Reimpresión de Guillen, A. (2020).	58
Figura 16. Comparación de las bacterias Gram negativas y Gram positivas bajo el microscopio en aumento de 100X. Reimpresión de MedlinePlus (2024). Biblioteca Nacional de Medicina EE.UU.	59
Figura 17. Prueba de oxidasa. A la izquierda se observa un resultado positivo notable por la coloración morada, a la derecha un resultado negativo sin el cambio de color. Reimpresión de Shields, P., et al. (2010).....	60
Figura 18. Prueba de catalasa, arriba se puede observar un resultado positivo evidenciado por la aparición de burbujas, abajo se muestra un resultado negativo debido a la ausencia de burbujas. Reimpresión de Reiner, K., et al. (2010)	61
Figura 19. Prueba de fermentación de lactosa. Del lado izquierdo de la caja petri se observa un resultado positivo evidenciado por las colonias rosadas junto al cambio de color en el medio, del lado derecho se observa un resultado negativo, sin colonias rosadas que indican la producción de ácido por la fermentación de la lactosa.	62
Figura 20. Prueba de producción de H ₂ S. A la izquierda un resultado positivo, evidenciado por el precipitado color negro en el medio. A la derecha un resultado negativo donde no existe la formación de precipitado en el medio.....	63
Figura 21. Prueba de indol, (A) indica un resultado positivo, evidenciado por la aparición de un anillo rojo en el cultivo tras la adición del reactivo de Kovac. (B) un resultado negativo, sin el anillo rojo.....	64
Figura 22. Prueba de motilidad, a la izquierda una motilidad positiva, evidenciada por un crecimiento del microorganismo alrededor de la zona de punción donde se inoculó, a la derecha un resultado negativo, donde solo se observa crecimiento en la zona de inoculación. Reimpresión de Shields, P., et al. (2011) ⁸⁰	65
Figura 23. Morfología observada en el microscopio óptico en aumento 40X de colonias de la microalga <i>Scenedesmus</i> sp.	69
Figura 24. Morfología observada en el microscopio óptico en aumento 100X de colonias de la microalga <i>Chlorella sorokiniana</i>	70
Figura 25. Comparativa del crecimiento entre las microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> y <i>Scenedesmus</i> sp en el medio sintético CHU10.	71

Figura 26. Comparativa del crecimiento entre las microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> y <i>Scenedesmus</i> sp en el medio sintético Bristol.	72
Figura 27. Comparativa del crecimiento entre las microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> y <i>Scenedesmus</i> sp en el medio sintético Bold Basal.	73
Figura 28. Comparativa del crecimiento entre las microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> y <i>Scenedesmus</i> sp en el medio sintético BG-11.	74
Figura 29. Comparativa del crecimiento entre las microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> y <i>Scenedesmus</i> sp en las aguas residuales.	76
Figura 30. Comparativa del crecimiento de la microalga <i>Chlorella sorokiniana</i> en los diferentes medios de cultivo convencionales y en agua residual.	77
Figura 31. Comparativa del crecimiento de la microalga <i>Scenedesmus</i> sp en los diferentes medios de cultivo convencionales y en agua residual.	78
Figura 32. Comparativa del crecimiento de ambas microalgas en las aguas residuales comparados con los valores máximos de los medios convencionales	78
Figura 33. Diagrama general del sistema bioelectroquímico.	79
Figura 34. Fotografía del armado de la celda.	80
Figura 35. Comparación de la estructura de los electrodos con y sin tratamiento observada mediante micrografías de SEM	93
Figura 36. Comparativa de las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) en diferentes aumentos.	94
Figura 37. Comparación de la densidad de potencia de cada microalga en el sistema bioelectroquímico.	98
Figura 38. Porcentajes de remoción del sistema	100

NOMENCLATURA

°C Grados Celsius

μm Micrómetros

ATP Adenosín Trifosfato

BES Sistema bioelectroquímico

BPV Celda biofotovoltaica

CO₂ Dióxido de carbono

DQO Demanda Química de Oxígeno

FTO Óxido de estaño dopado con flúor

ITO Óxido de indio y estaño

mL Mililitros

MES Celda de bioelectrosíntesis

MFC Celda de combustible microbiana

MOF Estructura Metal-Orgánica

MP-AES Espectroscopía de Emisión Atómica por Plasma de Microondas

NADP⁺ Fosfato de Nicotinamida y Adenina Dinucleótido (forma oxidada)

NADPH Fosfato de Nicotinamida y Adenina Dinucleótido (forma reducida)

ODS Objetivos del Desarrollo Sostenible

ONU Organización de las Naciones Unidas

PSI Fotosistema I

PSII Fotosistema II

PTAR Planta de tratamiento de aguas residuales

SEM Microscopio electrónico de barrido

SST Sólidos Suspendidos Totales

SSV Sólidos Suspendidos Volátiles

TMPD N,N,N',N-tetrametil-p-fenilendiamina dihidrocloruro

TWh Teravatio-hora

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la humanidad se enfrenta a una serie de problemáticas derivadas de un estilo de vida insostenible y del crecimiento acelerado de la población mundial. En 2024, la población global superó los 8 mil millones de habitantes y se proyecta que para 2050 alcance 9.6 mil millones ¹. Este incremento representa un desafío histórico sobre los recursos naturales, particularmente en los temas energéticos, ambientales y de gestión del agua ².

Uno de los desafíos más críticos es la alta demanda energética mundial. En 2024, la demanda global de electricidad alcanzó aproximadamente 30,856 TWh (teravatios hora), que representó un incremento cercano al 4% respecto a 2023 ³, marcando un récord histórico para la humanidad. Generar esta cantidad de energía, alrededor del 80% provino de la quema de combustibles fósiles ⁴, lo que se asocia a la emisión de aproximadamente 37.4 gigatoneladas de CO₂ anuales ⁵, lo que convierte a este gas en el principal contribuyente al cambio climático global. Aunado a esto, 675 millones de personas continúan sin acceso a electricidad básica ⁶, evidenciando una desigualdad energética persistente.

Frente a este panorama, la transición hacia energías renovables se vuelve indispensable. Entre estas, la energía solar destaca como la fuente más abundante: la Tierra recibe anualmente cerca de 120,000 TWh de radiación solar ⁷. El aprovechamiento de la energía solar mediante paneles fotovoltaicos ha crecido exponencialmente debido a la disminución de costos desde 2008 y al apoyo gubernamental mediante subsidios ^{8,9}. Sin embargo, los paneles fotovoltaicos de silicio que, aunque representan hasta un 90% del mercado ¹⁰ presentan algunas limitaciones, como su eficiencia máxima cercana al 27%

¹¹. Además, dado a que este valor se encuentra próximo al límite teórico de eficiencia para las celdas fotovoltaicas (alrededor del 34%), lograr mejoras significativas resulta cada vez más complejo desde el punto de vista experimental. Esto sumado al impacto ambiental asociado a su fabricación, y aún no existe un protocolo estandarizado para su reciclaje al finalizar su ciclo de vida ^{12–14}.

En la búsqueda de soluciones más sostenibles, emergen los sistemas bioelectroquímicos, los cuales integran organismos biológicos o sus componentes para generar o consumir electricidad. Entre estos destacan las celdas biofotovoltaicas (BPV, por sus siglas en inglés) que producen electricidad a partir de la fotosíntesis, y las celdas de combustible microbiano (MFC, por sus siglas en inglés), que generan electricidad mediante la oxidación de materia orgánica. En este contexto, las microalgas se convierten en organismos clave, ya que combinan capacidades como: la realización de fotosíntesis y degradar materia orgánica para su crecimiento. Esta versatilidad permite el diseño de sistemas híbridos capaces de producir electricidad mediante el proceso de fotosíntesis donde se asimila el CO₂ atmosférico, mientras tratan aguas residuales de forma simultánea.

El tratamiento de aguas residuales representa otro de los grandes desafíos actuales, especialmente en países en vías de desarrollo. En México, por ejemplo, en 2023 se registraron 4,542 plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), pero el 35.5% se encontraba fuera de operación debido a los altos costos de mantenimiento y baja eficiencia energética ¹⁵. Los métodos convencionales, como coagulación, floculación, lodos activados y digestión anaerobia requieren altos consumos de energía y son

responsables de aproximadamente el 3% de las emisiones globales de gases de efecto invernadero ¹⁶.

Aquí, las microalgas presentan una solución prometedora: pueden crecer en aguas residuales, consumir nutrientes y contaminantes (metales pesados, compuestos orgánicos e inorgánicos) ^{17,18} y producir biomasa mediante el proceso de fotosíntesis que también ayuda a mitigar las emisiones de CO₂ gracias al proceso de asimilación de carbono con el que cuentan las microalgas ¹⁹. Esta biomasa, a su vez, puede emplearse en la obtención de biocombustibles, biofertilizantes, bioplásticos, alimentos, suplementos nutricionales y productos farmacéuticos, contribuyendo así a la economía circular (Figura 1) ²⁰.



Figura 1. Productos y aplicaciones derivados de las microalgas. Adaptada de Abo, B., *et al.* (2018) ²⁰.

El presente proyecto propone el diseño y evaluación de una celda biofotovoltaica basada en microalgas, utilizando aguas residuales como medio de cultivo. Con ello, se busca abordar simultáneamente tres problemáticas globales:

1. La generación de energía limpia.
2. La reducción de emisiones de CO₂.
3. El tratamiento de aguas residuales.

Esta investigación se alinea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) 6, 7, 9, 11 y 13, establecidos por la Agenda 2030 de la ONU, contribuyendo al acceso universal al

agua limpia, a la energía asequible, a la innovación tecnológica sostenible, ciudades y comunidades sostenibles y la mitigación del cambio climático ²¹.

Finalmente, a lo largo de esta tesis se presentará una revisión de los avances científicos y tecnológicos relacionados con las celdas biofotovoltaicas basadas en microalgas, su impacto ambiental y económico potencial, y las perspectivas futuras para esta tecnología emergente.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1. Sistemas bioelectroquímicos (BES)

Los sistemas bioelectroquímicos (BES, por sus siglas en inglés) constituyen una de las tecnologías emergentes más prometedoras. Han demostrado su utilidad en aplicaciones diversas: producción de electricidad, tratamiento de aguas residuales, desarrollo de biosensores para compuestos tóxicos, la producción de hidrógeno o metano en celdas de electrólisis microbiana, procesos de desalinización de agua y síntesis de productos de valor, como el peróxido de hidrógeno ^{22,23}.

Estos sistemas se basan en microorganismos capaces de transferir electrones hacia un electrodo sólido (microorganismos exoelectrogénicos) o recibir electrones desde un electrodo (microorganismos electrotófos), transformando materia y energía en productos útiles. Generalmente constan de un ánodo, un cátodo y, en la mayoría de los casos, una membrana que separa ambos compartimientos.

2.1.1. Celdas de combustible microbiana (MFC)

Las celdas de combustible microbiana utilizan microorganismos, principalmente bacterias, como catalizadores para oxidar compuestos orgánicos o inorgánicos y generar electricidad ²⁴. Los electrones liberados durante la degradación del sustrato se transfieren al ánodo y posteriormente fluyen hacia el cátodo a través de un circuito externo.

Estos microorganismos con capacidad para realizar la transferencia extracelular de electrones son conocidos como microorganismos exoelectrogénicos, y realizan la producción de electricidad mediante la degradación de contaminantes. Entre sus

aplicaciones destacan el tratamiento de aguas residuales ²⁵, la biorremediación de ambientes contaminados con tintes ²⁶ y el desarrollo de biosensores ²⁷.

Las MFC pueden configurarse en una, dos o incluso tres cámaras ²⁸, operando de forma continua o en modo batch, lo que brinda flexibilidad según el objetivo del proceso (Figura 2).

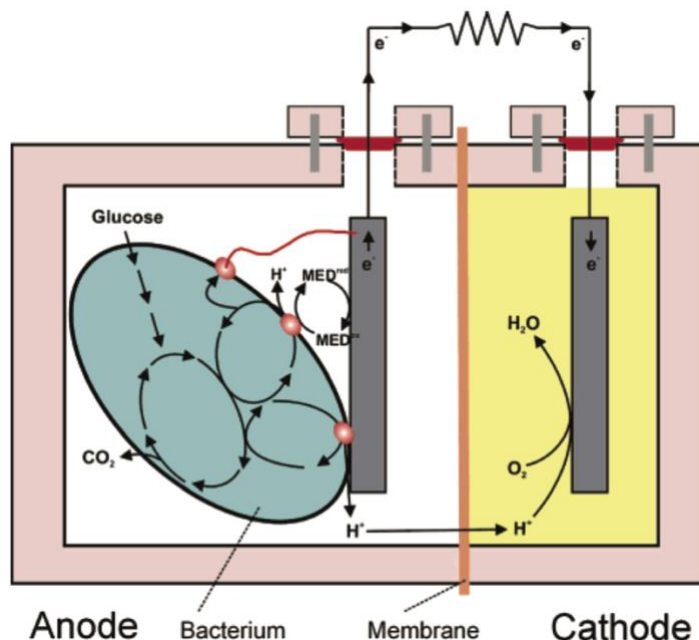


Figura 2. Diagrama de una celda de combustible microbiana típica. Reimpresión de Logan, B., *et al.* (2006) ²⁴

2.1.2. Celdas de bioelectrosíntesis (MES)

Las celdas de bioelectrosíntesis (MES, por sus siglas en inglés) emplean microorganismos electrotrófos capaces de recibir electrones desde un cátodo para catalizar reacciones de reducción. Este proceso permite transformar un compuesto inicial en productos de mayor valor comercial o cuya obtención por métodos convencionales resulta más costosa. Entre los productos generados se encuentran ácidos orgánicos como el butirato ²⁹, bioplásticos ³⁰, biocombustibles ³¹ y otros compuestos de interés industrial. El producto final dependerá de los microorganismos presentes en el cultivo y de su fuente primaria de sustrato (Figura 3). Además, existen otros parámetros que

deben considerarse, como el pH, la temperatura, la presencia de oxígeno y el potencial del cátodo, por mencionar algunos, ya que estos factores pueden activar distintas rutas metabólicas en los microorganismos ³².

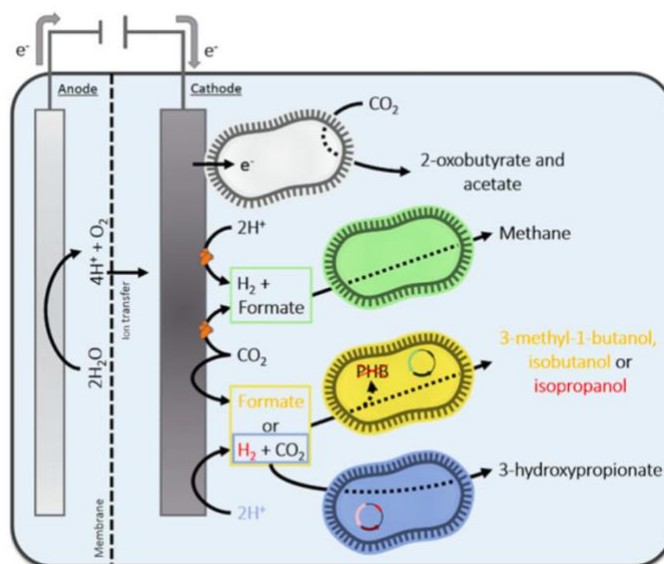


Figura 3. Esquema de una celda de bioelectrosíntesis. Se pueden observar algunos de productos que se pueden generar. Reimpresión de Rosenbaum, M., *et al.* (2017) ³³

2.1.3. Celdas biofotovoltáicas (BPV)

Las celdas biofotovoltáicas (BPV, por sus siglas en inglés) son aquellas que utilizan microorganismos fotosintéticos, como microalgas o cianobacterias, para transferir electrones hacia un electrodo mediante el proceso de fotosíntesis (Figura 4). Aunque ambos grupos han sido estudiados, las cianobacterias destacan por su adaptabilidad a condiciones adversas; sin embargo, estudios recientes han mostrado que las microalgas pueden alcanzar rendimientos superiores en parámetros como crecimiento y densidad de potencia ³⁴.

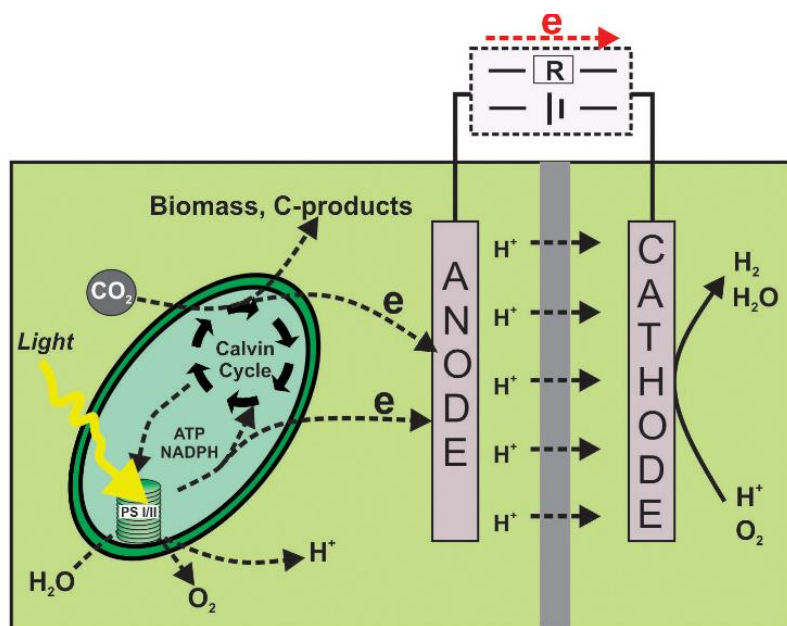


Figura 4. Diagrama típico de una celda biofotovoltaica. Reimpresión de Tshörtner, J., *et al.* (2019) ³⁵

2.1.4. Sistemas híbridos con microalgas

La combinación de tecnologías BPV y MFC permite diseñar sistemas integrados.

La integración de microalgas en sistemas bioelectroquímicos ha abierto la posibilidad de diseñar sistemas híbridos que aprovechan las capacidades de distintos microorganismos, como las bacterias presentes en diferentes sustratos contaminados con la capacidad de las microalgas para proliferar en esos ambientes y producir electricidad, en resumen, se combinan los principios de una MFC y un sistema biofotovoltaico para generar una solución conjunta. Estos sistemas combinan procesos como el tratamiento de aguas residuales con la generación de electricidad o de productos de valor agregado ³⁶.

Las microalgas, presentes en prácticamente todos los cuerpos de agua, son claves para definir el rendimiento de los sistemas ³⁷. En México existe una gran diversidad de microalgas, en Nuevo León destacan los géneros *Chlorella* y *Scenedesmus* ^{38,39}.

Chlorella vulgaris y *Chlorella. sorokiniana* se han utilizado ampliamente tanto en el tratamiento de aguas residuales y como en la generación de electricidad ^{40,41}. Por otro lado, *Scenedesmus* spp. es considerada como una especie de referencia en procesos de depuración de aguas mediante el uso de microalgas, y esta habilidad ya ha comenzado a integrarse en sistemas de generación de electricidad para crear un sistema híbrido ⁴².

Uno de los enfoques en el tratamiento de aguas residuales y la producción de electricidad integrando microalgas en el sistema es el uso de celdas híbridas de dos cámaras, una que funciona como ánodo con aguas residuales dentro, y un cátodo con microalgas que producen oxígeno como aceptor final de electrones, reemplazando así el consumo externo de oxígeno ⁴².

2.2. Configuración de celda

2.2.1. Tipos de materiales utilizados como electrodo en sistemas con organismos fotosintéticos

Este es uno de los parámetros que más permite una mejora en los sistemas debido a la gran cantidad de materiales y a las configuraciones que se pueden realizar en la celda, por tanto existen algunas características ideales para los electrodos en los sistemas bioelectroquímicos: transparencia, alta conductividad eléctrica, conductividad química, estabilidad química, biocompatibilidad, gran área superficial y bajo costo con amplia disponibilidad ^{43,44}. Tomando como base a las celdas biofotovoltaicas, se cuenta con una clasificación de 4 generaciones para los electrodos en estos sistemas mostrados en la Figura 5, la cual está ordenada de la siguiente forma ^{45,46}:

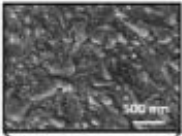
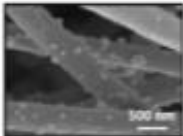
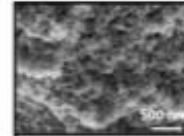
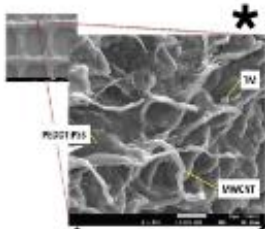
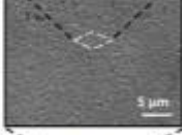
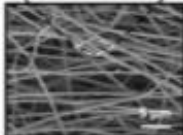
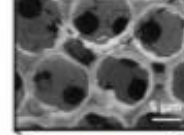
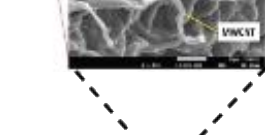
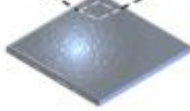
	1st generation electrode (1979)	2nd generation electrode (2000s)	3rd generation electrode (2010 and beyond)	4th generation electrode
Diseño	Sustratos planos	Rugosidad a escala nano o micrométrica	Estructuras 3D porosas	Estructuras jerárquicas a múltiples escalas; biointerfaces dinámicas y adaptativas
Ejemplos	Platino, óxido de estaño	Tela de carbono; nanotubos de carbono, papel de carbono, grafito, rGO, ITO/FTO	Cerámicas recubiertas con FTO; ITO mesoporoso tipo ópalo inverso	Hidrogeles conductores; polímeros con diseño inspirados en sistemas biológicos; nanocompuestos funcionalizados
Ventajas	Facilidad de acceso	Costo relativamente bajo; accesible comercialmente; estable electroquímicamente	Alta transmisión de luz; hidrófilo; rugosidad ajustable	Autoensalables; biocompatibles; sensibles a estímulos; acoplamiento bioelectrónico mejorado
Desventajas	Diseño no optimizado	Opaco; hidrófobo; conductividad eléctrica relativamente baja	Costo moderado; ventana electroquímica moderada	Costo elevado; fabricación compleja; en desarrollo
Imágenes de microscopía electrónica de barrido				
				
				

Figura 5. Comparación de las diferentes generaciones de electrodos utilizados en sistemas bioelectroquímicos e imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de los materiales. Figura adaptada de Wey, T., *et al.*, (2019).
 * Figura adaptada de Kim, J., *et al.*, (2025) ⁴⁷

Los ánodos metálicos, que constituyen la primera generación de electrodos incluyen materiales como oro, platino, níquel, plata y acero inoxidable. Estos electrodos ofrecen alta conductividad y, en algunos casos, ventajas en términos de costos. Además, metales nobles como platino y oro son electroquímicamente inertes, lo que los hace estables en

los sistemas biofotovoltaicos. Sin embargo, aunque algunos de los materiales son altamente accesibles, algunos otros son el caso contrario, haciendo que su alto costo limite su aplicación a gran escala, sumado a que la superficie lisa de estos materiales no favorece la adhesión de microorganismos, dificultando la formación de biopelículas necesarias para una transferencia eficiente de electrones.

La segunda generación de electrodos se centra en materiales más biocompatibles, principalmente basados en carbono. Entre ellos, las telas de carbono y especialmente el fieltro de carbono han sido ampliamente utilizados. Su estructura porosa, mayor área superficial y profundida permiten que los microorganismos se adhieran con mayor facilidad y formen biopelículas estables. Además, estos materiales combinan características como conductividad, estabilidad mecánica y biocompatibilidad, ofreciendo una relación eficiencia-precio favorable ⁴⁶.

La tercera generación de electrodos buscó superar las limitaciones de eficiencia de las generaciones anteriores mediante el uso de nuevas propiedades de materiales y tecnologías innovadoras, como la impresión 3D y los MOFs (estructuras organometálicas, por sus siglas en inglés). También se emplean materiales altamente conductores y transparentes como FTO (óxido de estaño dopado con flúor, por sus siglas en inglés) e ITO (óxido de indio y estaño, por sus siglas en inglés). La transparencia de estos electrodos permite que la luz penetre hasta las células fotosintéticas, mientras que su alta conductividad mejora la transferencia de electrones. Sin embargo, presentan nuevamente limitaciones en cuanto a la superficie disponible para la adhesión celular, un desafío similar al de los materiales de primera generación ^{48–50}.

Finalmente, la cuarta generación de electrodos, actualmente en desarrollo, se centra el simular el comportamiento de la cadena transportadora de electrones de los microorganismos y en incorporar biomoléculas en su fabricación. Esta generación busca superar las limitaciones de costos y eficiencia, explorando nuevos materiales y configuraciones de celdas que permitan una mayor integración entre los microorganismos y los electrodos. Aunque aún se encuentra en etapa experimental, representa un enfoque prometedor para optimizar la transferencia de electrones y la generación de electricidad en sistemas biofotovoltaicos ^{51, 52}.

2.3. Rendimiento de los sistemas bioelectroquímicos con microalgas y aguas residuales

2.3.1. *Chlorella* sp.

Juhari, AN., *et al.*, (2020) cultivaron *Chlorella* sp. en dos medios de cultivo distintos: El Bold Basal y aguas contaminadas con aceite de palma. Para ello, construyeron una celda de dos cámaras con polimetilmetacrilato, en el ánodo el cultivo de *Chlorella* sp con ambos medios y en el cátodo una solución de $K_3[Fe(CN)_6]$ con grafito como electrodo. Se obtuvo una densidad de potencia máxima de 0.85 W/m^3 y una remoción máxima del 85% de la DQO ⁴⁰.

En 2021, Ng, F. *et al.*, realizaron un experimento similar con cepas de *Chlorella* spp. cultivadas en el medio Bold Basal y aguas residuales contaminadas por aceite de palma. La celda, de forma cilíndrica y fabricada con polimetilmetacrilato, utilizó papel carbón como electrodos. En este caso, la remoción máxima de DQO alcanzó el 60% y la densidad de potencia máxima fue de 0.282 mW/m^2 ^{2, 41}.

2.3.2. *Scenedesmus* spp.

En el caso de *Scenedesmus* spp., Bhadra, S., *et al.*, (2024) cultivaron la microalga en el medio BG-11, y construyeron una celda de dos cámaras de polimetacrilato. En la cámara

anódica se colocaron aguas residuales sintéticas junto con un inóculo de lodos anaerobios, mientras que en la cámara catódica se puso un cultivo de la microalga *Scenedesmus obliquus*. Se registró una densidad de potencia máxima de 7.37 mW/m², y una remoción de DQO que superó el 92% ⁴².

2.3.3. Otras microalgas

Ahiahonu, E. (2022) experimentó con dos especies de microalgas *Tetradismus reginae* y *Tetradismus obliquus*, utilizadas para tratar aguas residuales, disminuir los contaminantes atmosféricos y producir electricidad. Para ello diseñó una celda con dos cámaras de borosilicato, con electrodos de cobre en ambas cámaras. En el ánodo se colocaron aguas residuales mezcladas con las microalgas, mientras que en el cátodo se ubicó únicamente el cultivo de microalgas. Los resultados mostraron una densidad de potencia máxima de 0.344 W/m². En cuanto a la remoción de contaminantes en el agua, se alcanzaron porcentajes superiores al 80% para algunos metales pesados como el cadmio y cromo, junto a una remoción de CO₂ superior al 70% ⁵³.

2.4 Justificación del Proyecto

El crecimiento acelerado de la población mundial ha incrementado la demanda de servicios básicos, como energía y agua, lo que ha intensificado la explotación de recursos naturales y las emisiones de gases de efecto invernadero, principalmente dióxido de carbono (CO₂). La generación de electricidad sigue dependiendo en gran medida de la quema de combustibles fósiles, lo que contribuye al cambio climático y agrava la contaminación ambiental. Aunque existen alternativas basadas en energías renovables, como la fotovoltaica y la eólica, estas tecnologías se enfocan únicamente en la producción de electricidad y no resuelven de forma integral otros problemas ambientales, como el tratamiento de aguas residuales o la captura de CO₂.

En este contexto, el desarrollo de dispositivos bioelectroquímicos basados en microalgas representa una alternativa prometedora, ya que permite generar electricidad de forma sostenible, remover CO₂ mediante la fotosíntesis y tratar aguas residuales en un solo proceso. Este tipo de sistemas ofrece un enfoque integral para enfrentar simultáneamente tres de los principales desafíos ambientales actuales, contribuyendo a la mitigación del cambio climático y al aprovechamiento eficiente de los recursos naturales.

El estado de Nuevo León presenta un amplio repertorio de microalgas nativas adaptadas a las condiciones ambientales locales. Por ello, en este proyecto se decidió aislar y utilizar especies provenientes de cuerpos de agua del estado, ya que esto favorece su practicidad y maximiza las probabilidades de éxito en el diseño de una celda biofotovoltaica eficiente.

2.5 Descripción del Proyecto

En este proyecto se desarrolla y evalúa un sistema bioelectroquímico basado en microalgas diseñado para cumplir con tres funciones principales de manera simultánea: generar electricidad, tratar aguas residuales y remover dióxido de carbono (CO₂). El sistema integra un consorcio de microalgas y microorganismos electroactivos capaces de aprovechar los nutrientes presentes en las aguas residuales para su crecimiento, mientras capturan CO₂ mediante fotosíntesis y producen electrones que son transferidos hacia un electrodo, permitiendo la generación de corriente eléctrica.

El objetivo es demostrar la viabilidad de una tecnología sustentable y multifuncional que aprovecha los recursos presentes en los efluentes residuales para convertirlos en energía limpia, contribuyendo así a la mitigación del cambio climático, el tratamiento de aguas residuales, y a la producción de energía limpia.

2.6 Marco Teórico

2.6.1. La fotosíntesis como base del funcionamiento

El sol es la fuente de energía más abundante y sostenible de nuestro planeta. Se estima que su radiación anual sobre la superficie terrestre equivale a aproximadamente 120,000 teravatios (TW), una cantidad que supera con creces la demanda energética global ⁷.

La fotosíntesis es un proceso bioquímico que realizan ciertos organismos, como plantas, algas y cianobacterias. Consiste en la conversión de la energía solar en energía química utilizable, la cual se almacena en moléculas como ATP y NADPH, que los organismos emplean para su metabolismo y crecimiento.

Este proceso ocurre en dos etapas principales:

1. **Reacciones dependientes de la luz:** requieren directamente la energía lumínica para producir ATP y NADPH.
2. **Reacciones independientes de la luz** (o ciclo de Calvin): no requieren luz directa, sino que utilizan los productos generados en la fase luminosa para fijar dióxido de carbono (CO₂) y formar moléculas orgánicas.

Los organismos fotosintéticos emplean dos complejos proteicos llamados fotosistemas, que se activan a diferentes longitudes de onda de la luz:

- **Fotosistema II (PSII,** por sus siglas en inglés): activado por la luz de aproximadamente 680 nm.
- **Fotosistema I (PSI,** por sus siglas en inglés): activado por la luz de aproximadamente 700 nm.

2.6.1.1. Fase luminosa: Generación de ATP y NADPH

Durante la fase dependiente de la luz, los pigmentos fotosintéticos, como la clorofila, absorben la energía de los fotones. Este proceso comienza cuando un fotón incide sobre

el fotosistema II (PSII), el cual se activa con luz de aproximadamente 680 nm de longitud de onda, provocando la excitación de sus electrones. Para reponer los electrones perdidos, el PSII cataliza la fotólisis del agua, es decir, la separación de moléculas de agua mediante la energía de la luz, generando oxígeno (O_2), protones (H^+) y electrones (e^-). El oxígeno se libera como subproducto.

Los electrones liberados atraviesan una cadena de transporte de electrones, formada por varias moléculas que facilitan reacciones de óxido-reducción. Este movimiento de electrones bombea protones a través de la membrana tilacoidal, creando un gradiente electroquímico que impulsa la síntesis de ATP.

Finalmente, los electrones llegan al fotosistema I (PSI) donde son re-excitados por luz con una longitud de onda de aproximadamente 700 nm. La energía resultante permite la reducción de $NADP^+$ a NADPH, utilizando los electrones provenientes del agua (Figura 6).

En resumen, las reacciones dependientes de la luz producen dos moléculas esenciales para la fase siguiente de la fotosíntesis:

- **ATP:** almacena la energía química que la célula utiliza en distintos procesos.
- **NAPH:** proporciona electrones necesarios para reacciones biosintéticas, actuando como agente reductor.

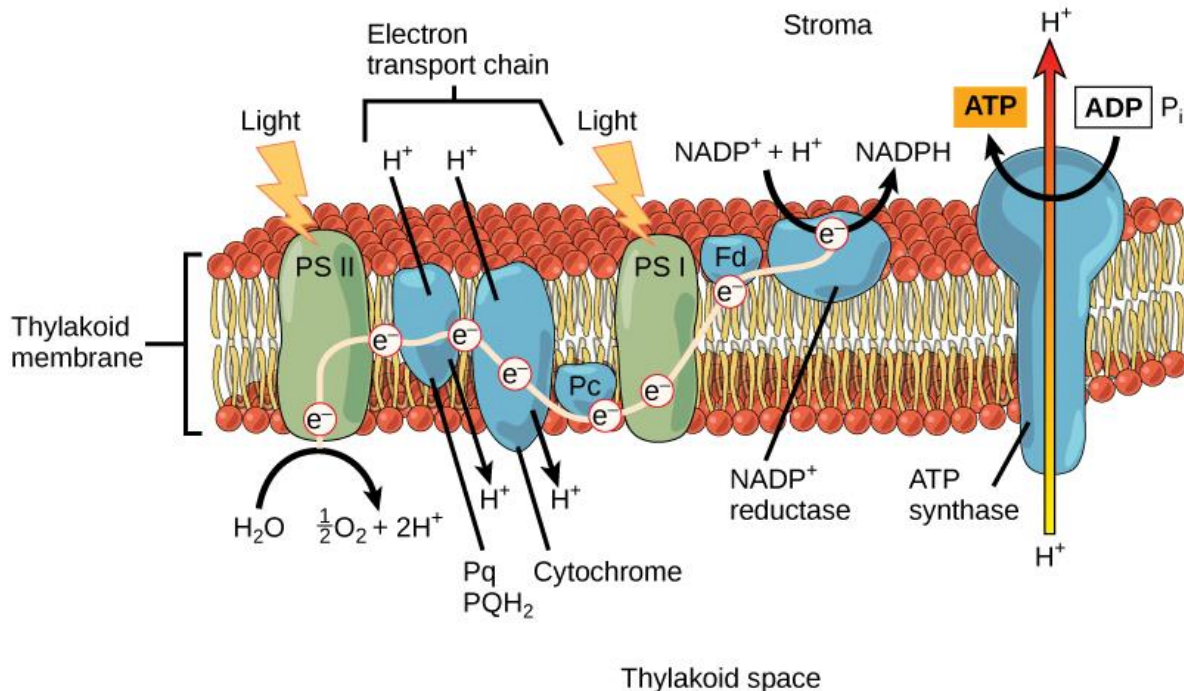


Figura 6. Esquema general de las reacciones dependientes de la luz de la fotosíntesis. Reimpresión de Fowler, S., et al (2013) ⁵⁴.

2.6.1.2. Fase oscura: Fijación de dióxido de carbono

El ciclo de reducción del carbono fotosintético, también conocido como ciclo de Calvin o ciclo de Calvin-Benson, constituye la principal vía metabólica mediante la cual los organismos fotosintéticos fijan el dióxido de carbono (CO₂) proveniente de la atmósfera. Aunque esta etapa no requiere luz de forma directa, depende de los compuestos energéticos ATP y NADPH generados durante la fase luminosa; por ello se le denomina comúnmente fase oscura o fase independiente de la luz.

Durante este ciclo, la energía química del ATP y el poder reductor del NADPH se utilizan para incorporar el CO₂ en moléculas orgánicas simples que luego sirven de base para la síntesis de carbohidratos más complejos, como almidón y sacarosa. Estos compuestos almacenan la energía capturada de la luz y son esenciales para el crecimiento y la supervivencia del organismo fotosintético ^{35,55}.

El ciclo de Calvin-Benson (Figura 7) se desarrolla en tres etapas principales:

1. **Fijación del carbono:** En esta etapa, el CO_2 del aire se incorpora al ciclo mediante la acción de la enzima RuBisCO (ribulosa-1,5 bisfosfato carboxilasa/oxigenasa), que une el CO_2 a una molécula de ribulosa 1,5-bisfosfato (RuBP). De esta reacción se forman dos moléculas de 3-fosfoglicerato (3-PGA), que constituyen los primeros compuestos estables del ciclo de Calvin.
2. **Reducción:** Las moléculas de 3-PGA se transforman en triosas fosfato mediante reacciones que consumen ATP y NADPH. En esta fase, el carbono inorgánico se convierte en una forma orgánica con mayor contenido energético.
3. **Regeneración:** La mayor parte de las triosas fosfato producidas se emplean para regenerar RuBP, permitiendo que el ciclo continúe. Una fracción menor se destina a la formación de azúcares y otros compuestos que serán utilizados en las distintas rutas metabólicas.

En conjunto, el ciclo de Calvin permite que la energía solar capturada durante la fase luminosa se transforme finalmente en energía química almacenada en moléculas orgánicas, las cuales sustentan no solo a los organismos fotosintéticos, sino también a la mayoría de formas de vida del planeta.

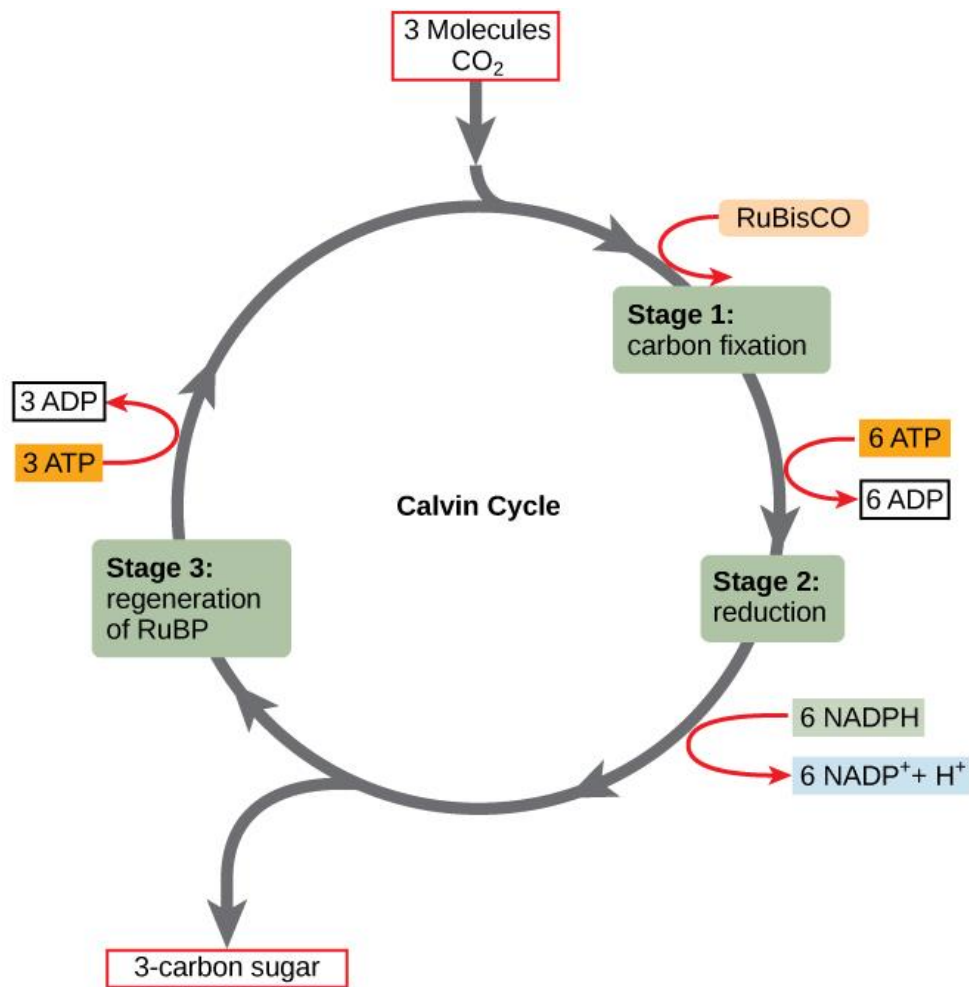


Figura 7. Ciclo de Calvin-Benson. La figura muestra las tres fases del ciclo. Reimpresa de Fowler, S., et al. (2013) ⁵⁴.

2.6.1.3. Generación y transporte de electrones en microalgas

Los electrones necesarios para la fotosíntesis se originan en el Fotosistema II mediante la fotólisis del agua, impulsada por la luz solar. A partir de ahí, los electrones viajan a lo largo de la cadena de transporte de electrones fotosintética (PETC), pasando por diversos transportadores y complejos, incluyendo plastoquinonas (PQ/PQH₂), el complejo citocromo b6f, la plastocianina (PC), el fotosistema I (PSI) y la ferredoxina (Fd). Finalmente, la enzima ferredoxina-NADP⁺ reductasa utiliza estos electrones para reducir NADP⁺ a NADPH. Este flujo de electrones no solo produce NADPH, sino que también genera un gradiente de protones a través de la membrana tilacoidal, el cual impulsa la

síntesis de ATP. Tanto el NADPH como el ATP son esenciales para la fijación de carbono y para el crecimiento de la célula, actuando como portadores de energía y poder reductor

⁵⁴.

2.6.2. Importancia de los electrodos en el sistema

En sistemas bioelectroquímicos, los electrones generados por organismos fotosintéticos pueden ser capturados por un ánodo, que actúa como el primer aceptor de electrones. Simultáneamente, en el cátodo se producen reacciones de reducción, generalmente involucrando oxígeno que tiene un potencial redox relativamente alto. La diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo impulsa el flujo de electrones a través de un circuito externo, generando corriente eléctrica ⁵⁶.

El ánodo facilita la oxidación del agua impulsada por la luz, usando los microorganismos como catalizadores biológicos, lo que produce electrones e iones de hidrógeno. Mientras tanto, los electrones viajan hacia el cátodo, donde participan en reacciones de reducción, como la formación de agua a partir de oxígeno y iones de hidrógeno, o incluso la producción de hidrógeno molecular ⁵⁷.

Antes de llegar al ánodo, los electrones deben atravesar la cadena de transporte de electrones interna del microorganismo. Para alcanzar el ánodo los electrones deben superar varias barreras estructurales. En microalgas eucariotas, esto incluye la membrana celular y la envoltura del cloroplasto. Aunque puedan parecer obstáculos menores, estas barreras afectan directamente la eficiencia del transporte extracelular de electrones y, por tanto, el rendimiento del sistema.

Por esta razón, el diseño y la superficie del ánodo son críticos. Una superficie que favorezca la adhesión celular permite que las microalgas se aproximen estrechamente al ánodo, reduciendo la distancia que los electrones deben recorrer fuera de la célula y

aumentando la eficiencia de transferencia. Además, ciertos materiales con buena conductividad eléctrica o con estructuras porosas pueden incrementar la cantidad de células en contacto directo gracias a la formación de una biopelícula de microorganismos en el ánodo, optimizando el flujo de electrones y, en consecuencia, la producción de corriente eléctrica ⁵⁸.

Otros factores que influyen en la eficiencia incluyen:

- **Composición química del ánodo:** materiales que interactúan favorablemente con los compuestos redox facilitan la transferencia de electrones.
- **Topografía de la superficie:** microestructuras rugosas o porosas aumentan el área de contacto celular.
- **Condiciones ambientales:** pH, temperatura y otros compuestos presentes en el medio afectan la actividad metabólica de las microalgas y, por tanto, la cantidad de electrones disponibles para los electrodos ⁴³.

En conjunto, la asociación física y química entre las células fotosintéticas y el ánodo determina en gran medida el rendimiento del sistema. La combinación de una adhesión óptima, un material conductor adecuado y la superación de las barreras celulares permite maximizar la transferencia de electrones (Figura 8). Escoger ánodos adecuados influye directamente en la transferencia de electrones en los sistemas con microorganismos fotosintéticos. Idealmente, el ánodo debe tener características como alta conductividad, biocompatibilidad y estabilidad en ambientes con acuosos. Adicionalmente, cualidades como superficie rugosa, área electroactiva y su capacidad para modificar la superficie puede mejorar el rendimiento.

moléculas de clorofila, desencadenando reacciones que generan electrones, los cuales son transportados al ánodo mediante materiales conductores ⁶⁰.

Para que los organismos fotosintéticos generen electricidad, deben poseer actividad exoelectrogénica, es decir, la capacidad de liberar electrones hacia el exterior de la célula ⁶¹. Esta transferencia puede ocurrir directamente o mediante mediadores redox que faciliten el transporte de electrones hacia el electrodo. Aunque los mecanismos precisos aún no se comprenden completamente en organismos fotosintéticos, se han propuesto estrategias análogas a las observadas en bacterias exoelectrogénicas, donde estos procesos están mejor caracterizados.

Se han propuesto dos principales estrategias para la transferencia de electrones en organismos fotosintéticos:

1. Transferencia extracelular directa de electrones (DEET, por sus siglas en inglés)

- Requiere contacto físico directo entre el microorganismo y el electrodo.
- Puede ocurrir mediante proteínas de membrana externa que transfieren electrones directamente o a través de pilis/nanohilos conductores que conectan el interior de la célula con el electrodo ^{62,63}

2. Transferencia indirecta de electrones (IEET, por sus siglas en inglés)

- No se requiere contacto directo de la célula con el electrodo.
- Se realiza mediante mediadores redox, como las flavinas, los cuales pueden ser agregados al sistema o producidos por los propios microorganismos, estos mediadores recogen electrones de la cadena de transporte intracelular y los transfieren al electrodo ^{62,64}.

Adicionalmente, algunas moléculas intracelulares, como quinonas, presentes en las membranas fotosintéticas, o el NADPH generado por la reducción de NADP^+ , pueden actuar como donadores de electrones (Figura 9) en estas celdas bioelectroquímicas ⁶⁵.

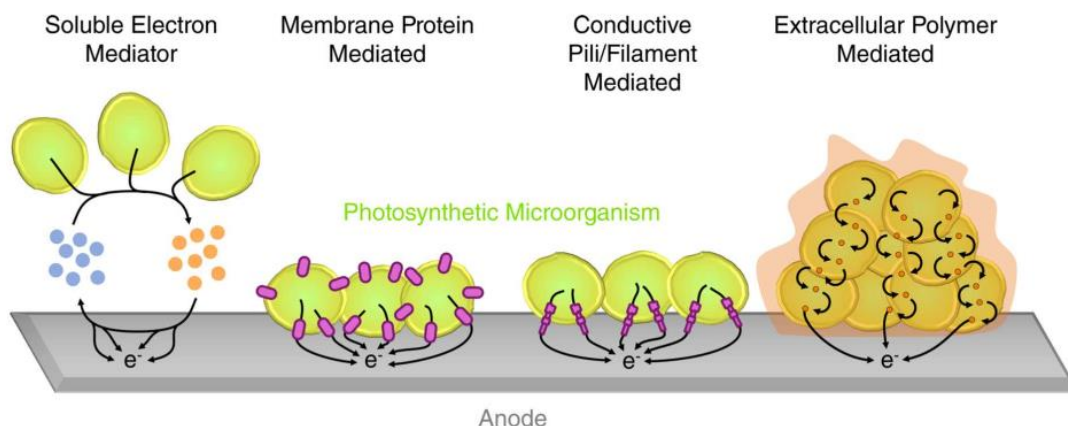


Figura 9. Mecanismos de la transferencia de electrones en microalgas dentro de dispositivos biofotovoltaicos. Reimpresión de Wey, L., *et al.* (2019) ⁴⁶.

2.6.4. Mecanismos de remoción de metales pesados en aguas residuales

Las microalgas poseen una amplia gama de mecanismos para enfrentar con la toxicidad de los metales pesados, tanto de forma intracelular o extracelular. Estos mecanismos permiten la captura, inmovilización o acumulación de los metales presentes en el medio. En general, la remoción de metales pesados por microalgas se puede dividir en dos tipos principales de procesos; biosorción y bioacumulación. La predominancia de uno u otro depende de diversos factores, como la fisiología y el estado metabólico de la célula, la concentración y naturaleza de los metales presentes en el medio, la temperatura, el pH y las propiedades químicas de la pared celular.

La pared celular de las microalgas desempeña un papel clave en la eliminación de metales pesados, ya que está compuesta por lípidos, carbohidratos y proteínas que contienen numerosos grupos funcionales (carboxilo, hidroxilo, amino y sulfato) capaces de unirse a los iones metálicos.

Asimismo, el tipo de metal influye significativamente en el mecanismo de remoción. Los metales esenciales para el metabolismo microagal (como Cu, Zn, Fe y Mn) suelen ser incorporados activamente al interior celular mediante bioacumulación, mientras que los metales no esenciales o tóxicos (como Cd, Pb, Hg y Cr) en ocasiones tienden a ser retenidos en la superficie celular por biosorción, evitando su ingreso a la célula y reduciendo así su efecto tóxico.

2.6.4.1. Biosorción

El proceso de biosorción (Figura 10) ocurre en la superficie de la membrana protectora externa, la cual ofrece sitios de unión cargados (grupos funcionales) para los iones metálicos. Este proceso se presenta principalmente en biomasa de microalgas muertas, ya que dichos grupos funcionales permanecen activos aún después de la muerte celular, permitiendo la fijación de metales pesados. Sin embargo, las células vivas también pueden realizar biosorción.

La biosorción puede involucrar varios mecanismos fisicoquímicos, como la formación de complejos entre los grupos funcionales de la pared celular y los iones metálicos, el intercambio iónico y la adsorción física, los cuales pueden ocurrir de forma individual o simultánea, dependiendo de las condiciones del medio y de la composición de la pared celular ^{66–68}.

2.6.4.2. Bioacumulación

La bioacumulación (Figura 10) es un proceso activo que ocurre exclusivamente en células vivas de microalgas, ya que requiere energía metabólica para incorporar metales al interior celular. La bioacumulación se desarrolla en dos etapas: en un primer paso, los metales se unen a los sitios activos en la superficie celular, de manera similar a la

biosorción; en un segundo paso, se emplea energía para transportar los iones metálicos hacia el interior de la célula, donde pueden ser secuestrados en las vacuolas o ligados a moléculas quelantes, evitando así efectos tóxicos. Este mecanismo permite a las microalgas mantener concentraciones intracelulares de metales dentro de rangos tolerables y, al mismo tiempo, remover metales disueltos de las aguas residuales ^{67,68}.

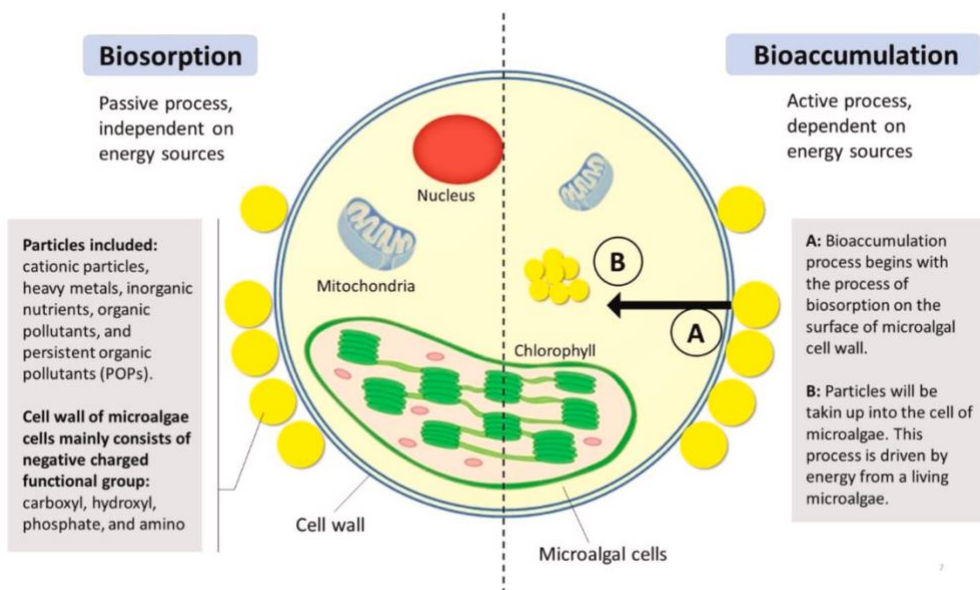


Figura 10. Mecanismos de biosorción y bioacumulación en microalgas para la remoción de contaminantes presentes en aguas residuales. Reimpresión de Chan, S., *et al.* (2022) ⁶⁶.

2.6.5. Composición fisicoquímica aguas residuales

2.6.5.1. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro que expresa la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar la materia orgánica e inorgánica presente en una muestra de agua mediante un agente químico fuerte. Este indicador se utiliza ampliamente para evaluar el grado de contaminación de un efluente o cuerpo de agua, ya que proporciona una estimación indirecta de la cantidad de materia orgánica que contiene. La determinación de la DQO se realiza empleando dicromato de potasio en medio ácido bajo condiciones de calentamiento, lo que permite la oxidación de la mayoría de las

sustancias orgánicas. Valores elevados de DQO indican una alta concentración de materia orgánica y, por tanto, un mayor nivel de contaminación en la muestra, mientras que valores bajos reflejan una menor presencia de contaminantes ⁶⁹.

2.6.5.2. Sólidos suspendidos totales y volátiles

Los sólidos suspendidos totales (SST) representan la fracción de materia presente en el agua residual que no se encuentra disuelta, sino en forma de partículas que pueden ser retenidas por filtración. Este parámetro incluye tanto material orgánico como inorgánico y constituye un indicador importante de la carga contaminante y del grado de turbidez del efluente. Por su parte, los sólidos suspendidos volátiles (SSV) corresponden a la porción orgánica de los SST, determinada mediante la pérdida de masa tras la calcinación de la muestra a alta temperatura. Este valor se asocia principalmente con la presencia de biomasa microbiana y restos orgánicos biodegradables. La relación entre SST y SSV permite estimar la proporción de materia orgánica en suspensión, un proceso relevante para evaluar la eficiencia de procesos biológicos de tratamiento y el posible impacto ambiental de vertido ⁶⁹.

2.6.6. Composición microbiológica de aguas residuales

2.6.6.1. Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas constituyen una herramienta fundamental para la identificación y caracterización de bacterias, ya que permiten diferenciar diversos microorganismos en función de su actividad metabólica. Estas pruebas se basan en la presencia o ausencia de enzimas específicas, cuya acción sobre determinados sustratos produce cambios observables, como variaciones de color o formación de productos metabólicos detectables. De este modo, es posible inferir las rutas metabólicas y ciertas

características estructurales de los microorganismos, proporcionando información relevante sobre su fisiología y clasificación taxonómica.

Las pruebas bioquímicas son rápidas, requieren pequeñas cantidades de muestra y pueden realizarse directamente a partir de colonias en medios de cultivo sólidos. Aunque una sola prueba rara vez es suficiente para identificar una bacteria desconocida, la combinación de varias reacciones bioquímicas permite establecer con mayor precisión la identidad de una especie. En conjunto, estas determinaciones reflejan las diferencias en la forma en que las bacterias transforman los compuestos orgánicos e inorgánicos, ofreciendo un método confiable para su diferenciación e identificación.

CAPÍTULO 3

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

Las microalgas *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* sp. generan energía eléctrica mediante un sistema bioelectroquímico utilizando aguas residuales como medio de cultivo.

3.2 Objetivo General

Diseñar un prototipo de celda fotovoltaica a partir de las microalgas *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* sp. con capacidad para realizar la conversión de energía química a eléctrica junto a la disminución de contaminantes atmosféricos en diferentes medios de cultivo sintéticos y aguas residuales.

3.3 Objetivos Específicos

- Caracterizar las microalgas *Scenedesmus* sp y *Chlorella* sp mediante técnicas microscópicas.
- Cultivar distintas especies de microalgas en un medio convencional.
- Realizar el cultivo de las microalgas en aguas residuales.
- Realizar una curva de crecimiento de la microalga en ambos medios.
- Diseñar un prototipo de celda solar utilizando microalgas.
- Medir los parámetros de producción de corriente y voltaje a partir de cronoamperometría y voltamperometría cíclica para calcular eficiencia del sistema bioelectroquímico.

CAPÍTULO 4

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales y Equipos

4.1.1 Reactivos

Ácido bórico (Sigma-Aldrich)

Agar Bacteriológico (BD Bioxon)

Carbonato de sodio (CTR Scientific)

Cloruro de calcio dihidratado (Jalmek)

Cloruro de manganeso tetrahidratado (CTR Scientific)

Cloruro de sodio (CTR Scientific)

Cloruro férrico (Sigma-Aldrich)

EDTA disódico (CTR Scientific)

Fosfato ácido de potasio (CTR Scientific)

Fosfato dipotásico (CTR Scientific)

Molibdato de sodio dihidratado (Sigma-Aldrich)

N,N,N',N'-tetrametil-p-fenilendiamina dihidrocloruro (Sigma-Aldrich)

Nitrato de calcio (Jalmek)

Nitrato de cobalto hexahidratado (Sigma-Aldrich)

Nitrato de sodio (Jalmek)

Peptona de caseína (MCD Lab)

Peróxido de hidrógeno (Solución farmacéutica)

Silicato de sodio (CTR Scientific)

Sulfato de cobre pentahidratado (Jalmek)

Sulfato de magnesio heptahidratado (Jalmek)

Sulfato de zinc heptahidratado (Jalmek)

Trióxido de molibdeno (Sigma-Aldrich)

4.1.3 Equipos de Laboratorio

4.1.3.1. Espectrómetro de Emisión Atómica de Plasma de Microondas (MP-AES)

Se utilizó un equipo de espectrometría de Emisión Atómica de Plasma de Microondas (MP-AES, por sus siglas en inglés) (Agilent Technologies 4200), que funciona generando un plasma que excita los átomos de los elementos presentes en las muestras. Al excitarse, los átomos emiten luz a longitudes de onda específicas, y el equipo mide esta luz para determinar la concentración de cada elemento de manera precisa y confiable. Este equipo permitió realizar la medición de las concentraciones de metales pesados presentes en el agua residual.

4.1.3.2. Microscopio electrónico de barrido (SEM)

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido termoiónico (SEM, por sus siglas en inglés) (JEOL JSM-6390LV), equipado con un filamento de tungsteno. Este equipo funciona generando un haz de electrones que interactúa con la superficie de las muestras, produciendo señales que son detectadas para formar imágenes de alta resolución. EL SEM permitió observar con gran detalle la morfología, la topografía y la presencia de microorganismos en el fieltro de carbono que funcionaba como electrodo. Asimismo, se empleó para analizar los cambios estructurales en las fibras del fieltro de carbono después del tratamiento térmico.

4.2 Metodología Experimental

4.2.1. Obtención e identificación de microalgas *Scenedesmus* sp y *Chlorella* sp.

Las microalgas fueron tomadas del cepario de dos distintos laboratorios, para el caso de *Scenedesmus* sp se tomó del cepario ubicado en el Instituto de Biotecnología UANL y en el caso de *Chlorella* sp esta fue obtenida del laboratorio de Biotecnología ubicado en el edificio CELAES de la Facultad de Ciencias Químicas. En el caso de *Scenedesmus* sp. esta fue aislada en el lago Niños Héroes, en Monterrey, Nuevo León, mientras que *Chlorella* sp. fue aislada del río San Juan en el municipio de Cadereyta Jiménez, Nuevo León. La identificación se realizó mediante técnicas de microscopía y se contrastó con la información de la literatura.

4.2.1.1. Identificación microscópica

En ambos casos el estado del cultivo se comprobó mediante microscopía, utilizando un microscopio óptico (Olympus CH30RF100) a un aumento de 40X.

4.2.2. Medios de cultivo

Se utilizaron los cuatro medios de cultivo más evaluados para estas dos microalgas, los medios CHU10, Bristol, Bold Basal y BG-11 cuyas formulas se describen a continuación

70-73:

Tabla 1. Composición de medios de cultivo sintéticos utilizados para microalgas. Valores expresados en gramos a menos de que se indique lo contrario. Cantidades expresadas para preparar 1 L de medio de cultivo.

Compuesto químico	CHU10 (g)	BRISTOL (g)	BOLD BASAL (g)	BG-11 (g)
Ca(NO ₃) ₂	0.057			
K ₂ HPO ₄	0.01	0.075	0.075	0.04
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.025	0.075	0.075	0.075
Na ₂ CO ₃	0.02			0.02
Na ₂ SiO ₃	0.05			
FeCl ₃	0.024			
NaNO ₃		0.25	0.25	1.5
KH ₂ PO ₄		0.175	0.175	
NaCl		0.025	0.125	
CaCl ₂ ·2H ₂ O		0.025	0.025	0.036
H ₃ BO ₃			0.0114	
Citrato férrico				0.006
Ácido cítrico				0.006
Solución EDTA			1 mL	0.001
Solución elementos traza			0.4mL	
Solución Fe			0.4mL	

Tabla 2. Composición de la solución EDTA mostrada en la tabla 2 para los medios de cultivo sintéticos. Cantidades expresadas para preparar 1 L de solución ⁷².

Solución EDTA	
Compuesto químico	Cantidad (g)
EDTA Na ₂	50
KOH	31

Tabla 3. Composición de la solución de elementos traza para el medio de cultivo Bold Basal mostrado en la Tabla 2. Cantidades expresadas para preparar 1 L de solución ⁷².

Solución de elementos traza Bold Basal	
Compuesto químico	Cantidad (g)
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.82
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.44
MoO_3	0.71
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.57
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.49

Tabla 4. Composición de la solución de elementos traza para el medio de cultivo BG-11 mostrado en la tabla 2. Cantidades expresadas para preparar 1 L de solución ⁷³.

Solución de elementos traza BG-11	
Compuesto químico	Cantidad (g)
H_3BO_3	2.86
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.22
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.39
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.079
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.49

Adicional, también fue utilizada agua residual urbana como medio de cultivo de microalgas.

4.2.2.1. Control

Los medios anteriormente mencionados (CHU, Bristol, Bold Basal y BG-11) fueron utilizados como control en el crecimiento de microalgas.

4.2.2.2. Aguas residuales

Las aguas residuales fueron colectadas de la planta tratadora de aguas residuales (PTAR) Norte de Agua y Drenaje de Monterrey, ubicada en Carretera a Colombia #1312, Col. Las Malvinas, General Escobedo, Nuevo León, C.P. 66058, con capacidad de tratamiento de hasta 4000 L/s (Figura 11). La planta se encarga de tratar el agua residual urbana de algunas partes de la ciudad.



Figura 11. PTAR Norte de Agua y Drenaje de Monterrey. Reimpresión de Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey (2023)

Las muestras de agua residual provenían del sedimentador primario (Figura 12), en donde solamente habían sido filtradas por grandes rejillas para eliminar el exceso de sólidos. No habían recibido ningún tratamiento químico ni biológico, en el sedimentador primario, el agua se mantuvo en reposo para permitir la sedimentación de los sólidos más grandes, antes de continuar con los procesos posteriores en la planta.

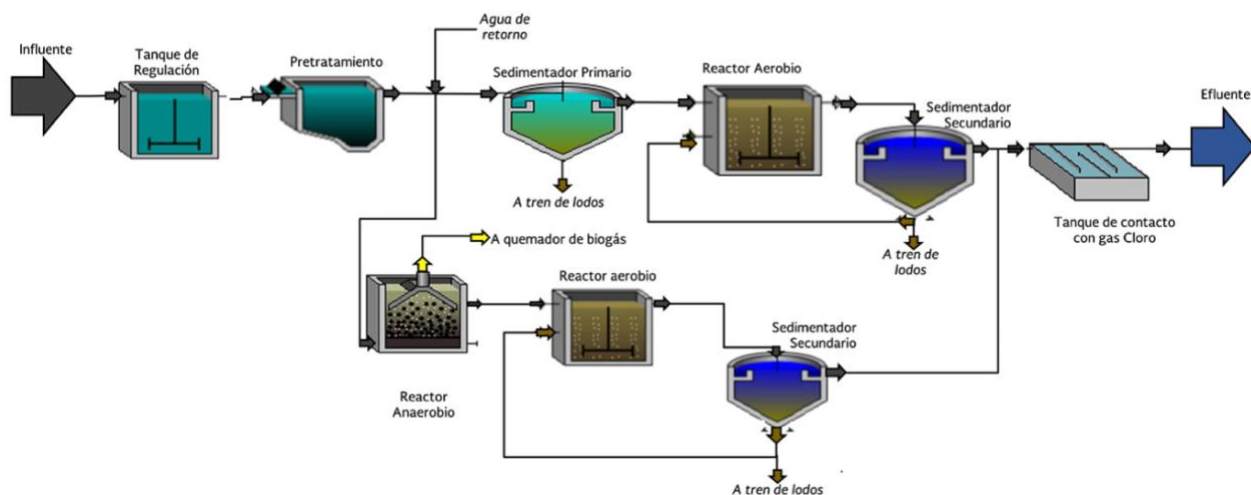


Figura 12. Esquema general del proceso de tratamiento de la PTAR Norte, en Escobedo, Nuevo León. Reimpresión de Agua y Drenaje de Monterrey (2022).

4.2.3. Cultivo de microalgas

4.2.3.1. Cultivo en medios convencionales

Para su cultivo se utilizaron matraces Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, se agregaron 200 mL de medio de cultivo para posteriormente llevar a esterilización por autoclave a 121 °C, 15 psi y 30 minutos para asegurar un ambiente inocuo. Una vez que el medio de cultivo fue esterilizado y bajó su temperatura a 25 °C, se procedió con la inoculación individual de cada microalga en los matraces, con un volumen de 2 mL provenientes del precultivo con una densidad óptica de 0.5 a $\lambda 680$ nm. Las condiciones de cultivo se mantuvieron en 25 °C, con ciclos de 12 h luz y 12 h oscuridad durante 14 días.

4.2.3.2. Cultivo de microalgas en aguas residuales

Para el cultivo en aguas residuales se utilizaron matraces Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, se agregaron 200 mL de aguas residuales y posteriormente se procedió con la inoculación individual de cada microalga en los matraces, con volumen de 2 mL provenientes del precultivo con una densidad óptica de 0.5 a $\lambda 680$ nm. Las condiciones se mantuvieron en 25 °C, con ciclos de 12 h luz y 12 h oscuridad durante 14 días.

4.2.4. Crecimiento de microalgas

Para medir el desempeño de las microalgas en los diferentes medios de cultivo se realizaron mediciones cada 2 días hasta llegar al día 14 del cultivo, empleando dos metodologías distintas para obtener la correlación entre estas y el crecimiento de las microalgas.

4.2.4.1. Conteo celular

El conteo celular se realizó utilizando una cámara de Neubauer 0.1 mm (Hausser Scientific 0.1 deep Brightline).

Se colocan 0.1 μL en el centro de la cámara, y al colocar encima un cubreobjetos se cuentan las células presentes en los recuadros A, B, C y D (Figura 13).

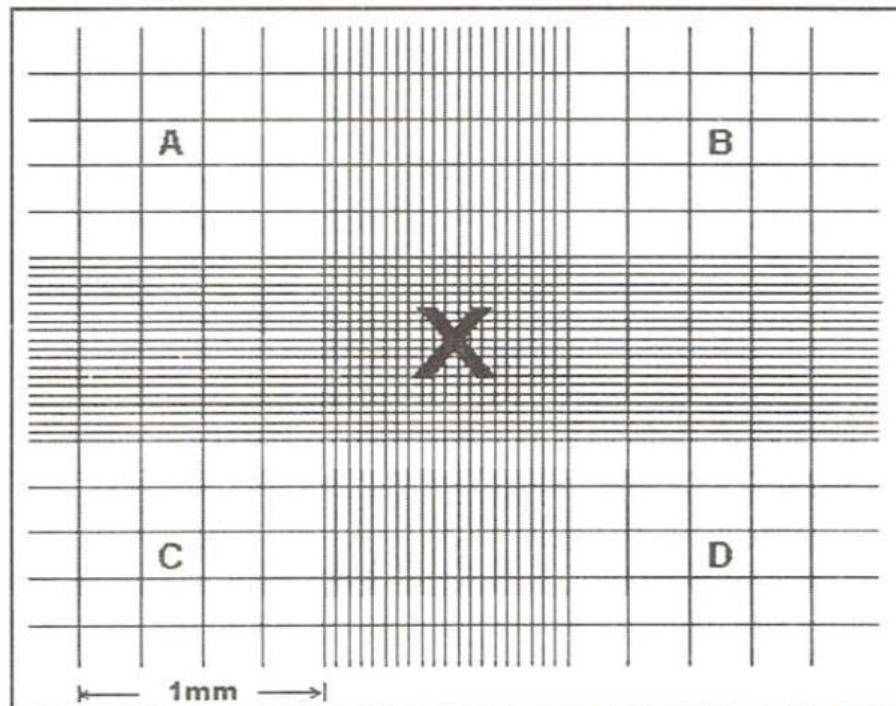


Figura 13. Rejilla de Neubauer, se pueden observar las divisiones de los cuadrados para facilitar el conteo celular. Reimpresión de Arredondo, B., *et al* (2007) ⁷⁴.

Los resultados fueron calculados mediante la siguiente ecuación ⁷⁴:

$$C = N \times 10^4 \times dil$$

En donde:

C = cél/mL

N = Promedio de células presentes en los recuadros A, B, C y D.

10^4 = Factor de conversión de 0.1 µL a 1 mL.

dil = Factor de dilución (cuando se realizó dilución de la muestra)

4.2.5. Construcción de la celda

Para la construcción de la celda se utilizarán dos cámaras de vidrio de borosilicato alto 3.3 con capacidad de 200 mL, ambas cámaras estuvieron unidas por una pinza tipo clip y en medio de estas se colocó una membrana de intercambio de protones (Nafion N117) en ambas cámaras se utilizaron electrodos de fieltro de carbono (3.18 mm Thermoscientific) en un tamaño 4 cm de largo x 2 cm de ancho x 0.5 cm de profundidad para el ánodo y cátodo. En total fueron construidas 2 celdas con diferencia entre los microorganismos y el sustrato utilizados:

- *Chlorella* sp y aguas residuales.
- *Scenedesmus* sp y aguas residuales.

Las cámaras fueron identificadas como ánodo y cátodo, en la parte del ánodo se colocaron 140 mL de aguas residuales junto con 14 mL de microalgas provenientes de un cultivo una densidad óptica de 0.8 a $\lambda 680$ nm, teniendo una relación de 90:10 en la composición del anolito. En el cátodo se colocaron 14 mL de aguas residuales y 140 mL de un cultivo de microalgas a una densidad óptica de 0.8 a $\lambda 680$ nm, teniendo una relación de 10:90 en la composición del catolito, al cátodo fue conectado un tanque de CO₂ (Grupo Infra) con un flujo de 100 mL/min.

4.2.5.1. Tratamiento de electrodos

El tratamiento de electrodos se realizó de acuerdo con el tratamiento de calor descrito por Cai, H., *et al* (2012) ⁷⁵, en donde el electrodo lavado con agua destilada, para posteriormente ser sumergido en metanol, hasta que la superficie del electrodo haya tenido contacto en su totalidad con el metanol, posteriormente el electrodo fue enjuagado con agua destilada en varias ocasiones y exprimido hasta eliminar el olor a metanol. Después los electrodos fueron puestos en la mufla a 450° C durante 30 min y se mantuvieron en el desecador hasta su uso.

4.2.6. Caracterización de aguas residuales

4.2.6.1. Límites permisibles NOM-001-SEMARNAT-2021

Se realizaron análisis de calidad de agua para obtener la composición inicial de contaminantes y características de acuerdo con algunos parámetros de las tablas 1 y 2: “límites permisibles” de la NOM-001-SEMARNAT-2021, los parámetros evaluados fueron los siguientes:

- pH
- Sólidos suspendidos totales.
- Demanda Química de Oxígeno
- Metales
 - Zinc (Zn)
 - Cadmio (Cd)
 - Cobre (Cu)
 - Níquel (Ni)
 - Plomo (Pb)

- Cromo (Cr)

El valor tomado para la comparación fue el de “Valor instantáneo” que muestra la NOM-001-SEMARNAT-2021⁷⁶.

4.2.6.1.1. pH

La medición del pH se realizó mediante un potenciómetro (Horiba F-71G), previamente calibrado con soluciones tampón de pH 4, 7 y 10. Las determinaciones de pH se efectuaron antes y después del paso de las aguas residuales por el sistema.

4.2.6.1.2. Sólidos suspendidos totales

Para la determinación de los sólidos suspendidos totales se basó en (Standard Methods 2540) con la siguiente metodología ⁶⁹.

Se tomaron los filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/A 24mm), los cuales se lavaron primeramente con agua destilada mientras estaban conectados a la bomba de vacío (), se secaron en la estufa a una temperatura de 105° C durante 3 horas. Posteriormente para su uso, se tomaron 5 mL de aguas residuales y fueron filtrados a través del embudo conectado al matraz kitasato mientras la bomba de vacío estaba activa.

Al filtrarse en su totalidad la muestra esta fue llevada a la estufa donde se mantuvo una temperatura de 105 °C y se obtuvo el resultado de la materia orgánica desprendida con la siguiente ecuación:

$$SST = \frac{B - A \times 10^6}{V}$$

Donde:

SST: Sólidos suspendidos totales (mg SST⁻¹)

A: Peso del filtro (g)

B: Peso del filtro tras su paso por la estufa (g)

V: Volumen de muestra filtrado (mL)

10^6 : Factor de conversión para expresar la concentración en mg/L

4.2.6.1.3. Sólidos suspendidos volátiles

Aunque sus límites permisibles no están especificados en la NOM-001-SEMARNAT-2021, se realizó la prueba de sólidos suspendidos volátiles que nos permite conocer la fracción orgánica de los sólidos suspendidos que se volatiliza al ser calcinada, a fin de estimar la cantidad de materia orgánica presente en la muestra, para esta prueba se basa en la siguiente metodología (Standard Methods 2540) ⁶⁹.

Una vez realizado el proceso de sólidos suspendidos totales se llevan las muestras a la mufla a una temperatura de 550°C por 1 hora, pasado ese tiempo se ponen las muestras en el desecador para atemperarlas durante 10 minutos. Por último, se obtiene el valor de SSV por la siguiente ecuación:

$$SSV = \frac{B - C \times 10^6}{V}$$

Donde:

SST: Sólidos suspendidos totales (mg SST⁻¹)

B: Peso del filtro tras la técnica de SST (g)

C: Peso del filtro después de calcinar en mufla (g)

V: Volumen de muestra filtrado (mL)

10^6 : Factor de conversión para expresar la concentración en mg/L

4.2.6.1.4. Demanda Química de Oxígeno

La Demanda Química de oxígeno se realiza después de cada ciclo para determinar la tasa de remoción, se realiza de acuerdo con Standar Methods No. 5220 ⁶⁹:

Se precalienta el digestor (Hach DBR200) a 150 °C. Posteriormente, se filtran 2 mL de la muestra con un filtro Whatman 0.2 µm para eliminar las partículas más grandes, posteriormente se añaden 1.2 mL de solución de dicromato de potasio al tubo con la muestra previamente filtrada, después se añaden 2.8 mL de ácido sulfúrico + sulfato de plata.

Posteriormente se colocan los tubos con los reactivos y la muestra en el digestor previamente precalentado y se comienza la digestión durante 2 horas.

Una vez transcurridas las dos horas, el tubo se retira del digestor hasta que baje a temperatura ambiente. Para medir el valor de DQO se realiza mediante un espectrofotómetro a λ600 nm y el resultado se compara con el de una curva de calibración previamente realizada.

4.2.6.1.5. Metales

Para la medición de los metales pesados presentes en las aguas residuales se utilizó un equipo de espectroscopia de emisión atómica con plasma de microondas (MP-AES) (Agilent Technologies 4200). Los metales evaluados según la lista de la NOM-001-SEMARNAT-2021 son:

- Zinc (Zn)
- Cadmio (Cd)
- Cobre (Cu)
- Niquel (Ni)
- Plomo (Pb)

- Cromo (Cr)

4.2.6.2. Caracterización microbiológica

4.2.6.2.1. Cultivo y aislamiento microbiológico

Con la finalidad de conocer la carga microbiana que tenían las aguas residuales antes y después del tratamiento bioelectroquímico, además de identificar la presencia de bacterias con capacidad de transferir electrones fuera de la célula para la producción de electricidad se realizó un cultivo en agar nutritivo, con la formulación que se describe a continuación:

Tabla 5. Composición del agar nutritivo. Cantidades expresadas para preparar 1 L de medio ⁷⁷.

Agar nutritivo	
Compuesto químico	Cantidad (g)
Peptona de caseína (Tryptona)	10
Extracto de levadura	5
Cloruro de Sodio	10
Agar bacteriológico	12

Posteriormente se inoculó con una muestra tomada con un asa bacteriológica a partir del agua residual en una caja Petri. Este dato nos servirá para saber la diversidad bacteriana presente en las aguas residuales. Una vez realizada la inoculación se procedió a poner en la incubadora (Precision Model) durante 48 horas a 37 °C.

Al transcurrir las 48 horas de incubación se observó el crecimiento bacteriano y la diversidad morfológica de las colonias, posteriormente se procedió con el aislamiento de las diferentes colonias presentes en la placa, esto mediante la toma de la colonia con un asa bacteriológica y su posterior inoculación en una nueva placa con el mismo medio de cultivo, con el objetivo de aislar las bacterias presentes en la muestra inicial.

4.2.6.2.2. Pruebas bioquímicas

Al tener aisladas las diferentes colonias presentes en la muestra original se realizaron las diferentes pruebas para realizar su identificación mediante el comportamiento bioquímico:

4.2.6.2.2.1. Tinción de Gram y morfología bacteriana

Para la identificación y clasificación de las bacterias aisladas se empleó la tinción de Gram, que permite diferenciar bacterias en Gram positivas y Gram negativas según la estructura de su pared celular (Figura 14), y facilita la observación de la morfología bacteriana. La morfología se refiere a la forma, tamaño y disposición de las células, pudiendo ser cilíndricas con extremos redondeados (bacilos), esféricas (cocos) o menos comunes como espirales (espiroquetas), entre otras morfologías (Figura 15), lo cual proporciona información sobre adaptaciones estructurales, movilidad y modo de agrupamiento.

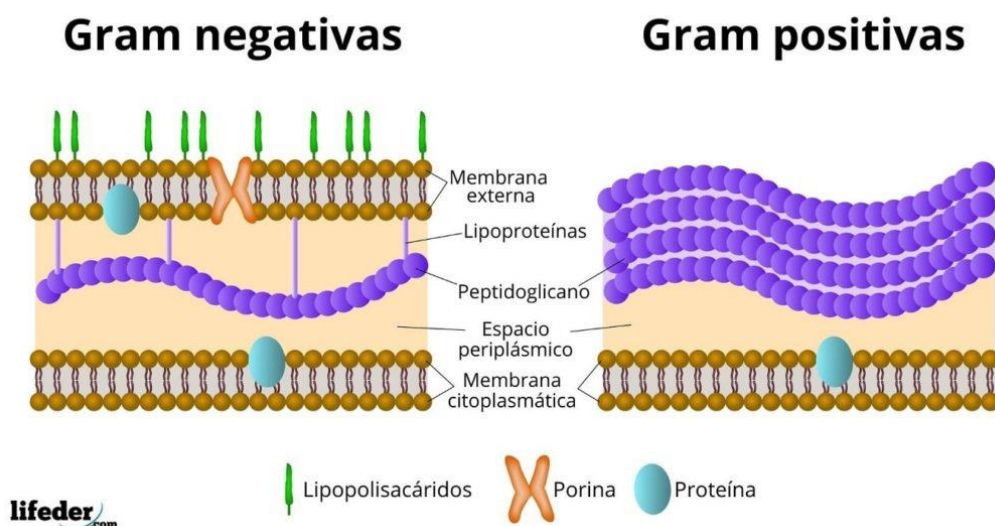


Figura 14. Diferencias en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas, se observa como la Gram negativa tiene una presencia menor de peptidoglicano en comparación con la Gram positiva, lo que permite a los colorantes de la tinción poder contrastar las diferencias entre una y otra. Reimpresión de Parada-Puig, (2021).

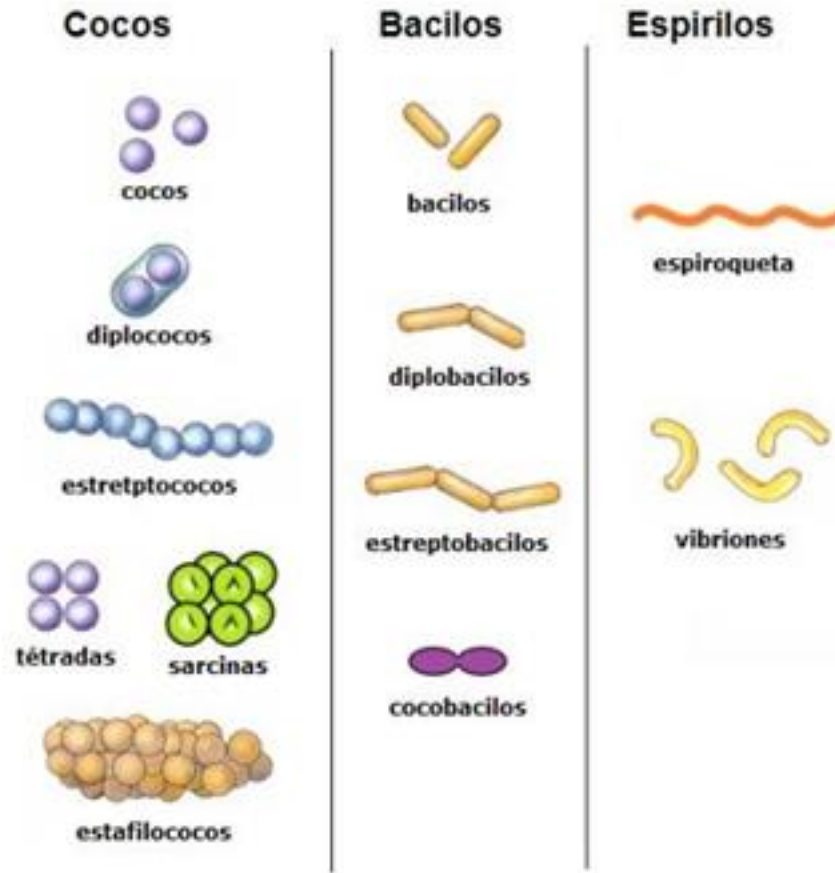


Figura 15. Diferentes tipos de morfologías bacterianas. Reimpresión de Guillen, A. (2020).

Para el procedimiento, se tomó una muestra de una colonia con un asa estéril y se preparó un frotis sobre un portaobjetos limpio, que se fijó brevemente al calor con un mechero bunsen. A continuación, se aplicó cristal violeta durante 1 minuto, se eliminó el exceso y se enjuagó delicadamente con agua destilada usando una piseta. Seguidamente se cubrió con solución de lugol durante 1 minuto y se enjuagó nuevamente. Después se decoloró con alcohol durante aproximadamente 15 segundos y se enjuagó. Por último, se aplicó safranina durante 1 minuto y se enjuagó nuevamente para eliminar el exceso de colorante. Tras secar la preparación, se colocó un cubreobjetos y se observó al microscopio con objetivo de 100X y aceite de inmersión,

registrando el color de las células (morado para Gram positivas y rosado para Gram negativas) (Figura 16) y su morfología.

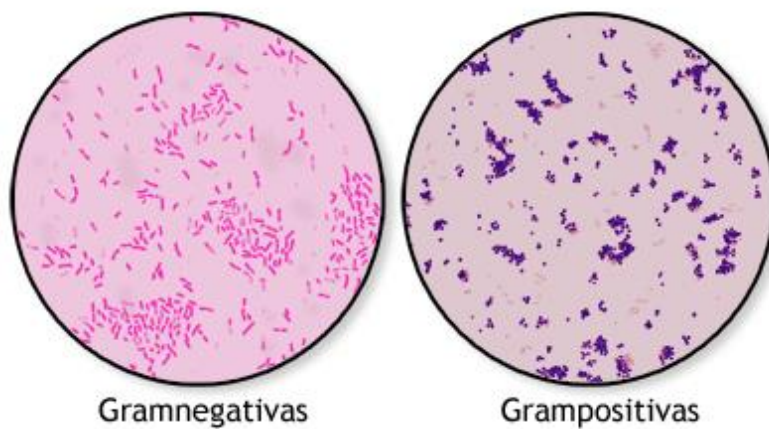


Figura 16. Comparación de las bacterias Gram negativas y Gram positivas bajo el microscopio en aumento de 100X. Reimpresión de MedlinePlus (2024). Biblioteca Nacional de Medicina EE.UU.

4.2.6.2.2.2. Oxidasa

Para la identificación de bacterias que producen la enzima citocromo c oxidasa, se realizó la prueba de oxidasa. Se tomó una muestra de una colonia con un hisopo, manteniendo un mechero encendido cercano para reducir la contaminación ambiental, y se añadieron unas gotas del reactivo N,N,N'N'-tetrametil-p-fenilendiamina (TMPD) al hisopo de la colonia. Se observó la aparición de un cambio de color azul o morado durante un minuto, lo cual indica un resultado positivo, la ausencia de color indica oxidasa negativa ⁷⁸ (Figura 17).



Figura 17. Prueba de oxidasa. A la izquierda se observa un resultado positivo notable por la coloración morada, a la derecha un resultado negativo sin el cambio de color. Reimpresa de Shields, P., *et al.* (2010)

4.2.6.2.2.3. Catalasa

La prueba de catalasa permite determinar si una bacteria es capaz de degradar el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua (H_2O) y oxígeno (O_2) mediante la reacción de la enzima catalasa. Esta prueba es particularmente útil para diferenciar bacterias aerobias y anaerobias facultativas. Para realizar, se tomó una muestra de una colonia aislada de la placa usando un asa estéril, manteniendo un mechero encendido cercano para reducir la contaminación ambiental y se colocó sobre un portaobjetos limpio. Posteriormente, se añadieron unas gotas de H_2O_2 directamente sobre la muestra y se observó la formación de burbujas de oxígeno; la aparición inmediata de burbujas indica un resultado positivo, mientras que la ausencia de burbujas indica un resultado negativo ⁷⁹ (Figura 18).

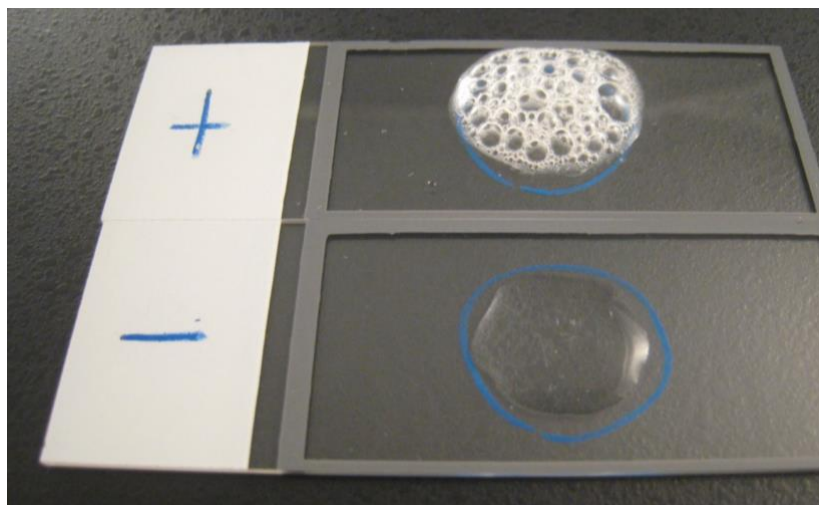


Figura 18. Prueba de catalasa, arriba se puede observar un resultado positivo evidenciado por la aparición de burbujas, abajo se muestra un resultado negativo debido a la ausencia de burbujas. Reimpresión de Reiner, K., *et al.* (2010)

4.2.6.2.2.4. Fermentación de lactosa

La fermentación de lactosa permite evaluar la capacidad de un microorganismo para utilizar la lactosa como fuente de carbono, produciendo ácidos y, en algunos casos, gases como subproductos del metabolismo. Esta actividad metabólica se puede detectar mediante medios diferenciales, como el Agar MacConkey, en los que las bacterias que fermentan lactosa provocan un cambio de color en el medio y forman colonias de un color rosado (Figura 19).

Para la prueba se inoculó la colonia aislada sobre el Agar MacConkey mediante estría. Se incubó a 38 °C durante 48 horas. La fermentación de lactosa se evidenció por el cambio de color del indicador del indicando fermentación positiva, mientras que la ausencia de cambio de color indica fermentación negativa.



Figura 19. Prueba de fermentación de lactosa. Del lado izquierdo de la caja petri se observa un resultado positivo evidenciado por las colonias rosadas junto al cambio de color en el medio, del lado derecho se observa un resultado negativo, sin colonias rosadas que indican la producción de ácido por la fermentación de la lactosa.

4.2.6.2.2.5. Producción de H₂S

La producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S) permite determinar la capacidad de algunas bacterias para reducir compuestos de azufre, liberando H₂S como subproducto, Para detectar esta actividad se utilizan medios que contienen fuentes de azufre y sales de hierro, como tiosulfato de sodio y cloruro férrico; el H₂S producido reacciona con los iones de hierro, formando un precipitado negro visible al interior del medio, lo que indica un resultado positivo (Figura 20).

Para la prueba, se inoculó la colonia aislada mediante picadura en un tubo con medio SIM (Sulfuro, Indol, Motilidad) y se incubó a 38 °C durante 48 horas. La producción de ácido sulfhídrico se evidenció por la aparición de un precipitado negro en el medio, indicando un resultado positivo, su ausencia indicó un resultado negativo.



Figura 20. Prueba de producción de H_2S . A la izquierda un resultado positivo, evidenciado por el precipitado color negro en el medio. A la derecha un resultado negativo donde no existe la formación de precipitado en el medio.

4.2.6.2.2.6. Producción de Indol.

La prueba de indol permite la capacidad de ciertas bacterias para degradar el aminoácido triptófano, generando indol como uno de los productos finales, junto con piruvato y amonio. Para detectar esta actividad se utiliza el reactivo de Kovac, cuyo componente activo es el p-dimetilaminobenzaldehído; la aparición de un anillo rojo en la superficie del medio indica un resultado positivo, mientras que la permanencia del color amarillo señala un resultado negativo (Figura 21).

Para realizar la prueba, después de la incubación para revisar la producción de H_2S , se evaluó la producción de Indol añadiendo unas gotas de reactivo de Kovac a la superficie

del medio SIM en el mismo tubo y se observó la formación de un anillo rojo confirmando la capacidad de la bacteria para metabolizar el triptófano.

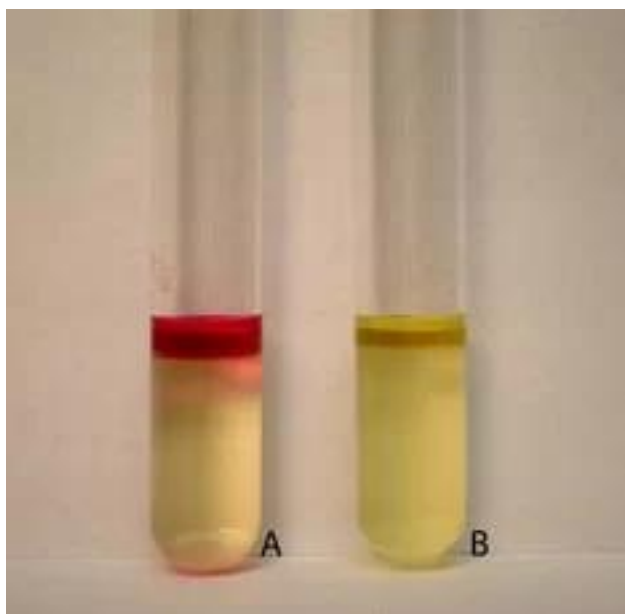


Figura 21. Prueba de indol, (A) indica un resultado positivo, evidenciado por la aparición de un anillo rojo en el cultivo tras la adición del reactivo de Kovac. (B) un resultado negativo, sin el anillo rojo.

4.2.6.2.2.7. Motilidad

La motilidad bacteriana refleja la capacidad de un microorganismo mediante estructuras especializadas llamadas flagelos. Esta característica se evalúa comúnmente en medios semisólidos, donde la movilidad se evidencia por el crecimiento difuso alrededor del lugar de inoculación, mientras que las bacterias inmóviles permanecen restringidas a la línea de punción (Figura 22).

Para la prueba, se inoculó la colonia aislada en el medio SIM mediante picadura central con asa estéril. El tubo se incubó a 38 °C durante 48 horas. La presencia de motilidad se evidenció por un crecimiento difuso o turbido que se aleja de la línea de inoculación, indicando motilidad positiva, mientras que el crecimiento restringido a la línea de picadura indicó motilidad negativa ⁸⁰.

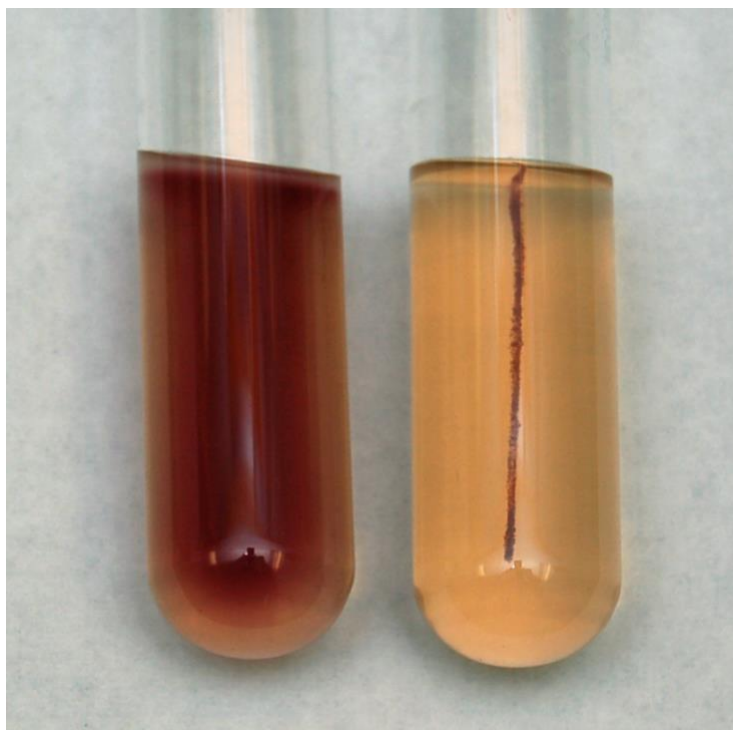


Figura 22. Prueba de motilidad, a la izquierda una motilidad positiva, evidenciada por un crecimiento del microorganismo alrededor de la zona de punción donde se inoculó, a la derecha un resultado negativo, donde solo se observa crecimiento en la zona de inoculación. Reimpresión de Shields, P., *et al.* (2011) ⁸⁰.

4.2.6.2.2.8. Crecimiento en NaCl 6.5%

El crecimiento bacteriano en altas concentraciones de sal, como el cloruro de sodio (NaCl) al 6.5%, permite evaluar si los microorganismos pueden resistir ambientes salinos. Esta capacidad depende de la habilidad de algunas bacterias para mantener el balance de agua y sales dentro de sus células, incluso cuando el medio es muy salado. En este medio selectivo, únicamente los microorganismos halotolerantes o halófilos logran desarrollarse, mostrando colonias vivibles, mientras que las bacterias sensibles a la sal no crecen debido a la deshidratación celular.

Para realizar la prueba, se preparó agar nutritivo suplementado con NaCl al 6.5%. la colonia aislada se inoculó mediante estría simple sobre la superficie del medio utilizando un asa estéril. Posteriormente el cultivo se incubó a 38 °C durante 48 horas. La formación

de colonias visibles indicó tolerancia al NaCl, mientras que la ausencia del crecimiento indicó sensibilidad.

4.2.6.3. Otros parámetros

4.2.6.3.1. Salinidad

La salinidad se determinó mediante un conductímetro (Horiba DS-71G), previamente calibrado con soluciones patrón según las especificaciones del fabricante. Las determinaciones de salinidad se efectuaron antes y después del paso de las aguas residuales por el sistema.

4.2.6.3.2. Conductividad

La conductividad se determinó mediante un conductímetro (Horiba DS-71G), previamente calibrado con soluciones patrón según las especificaciones del fabricante. Las determinaciones de conductividad se efectuaron antes y después del paso de las aguas residuales por el sistema.

4.2.7. Pruebas bioelectroquímicas

4.2.7.1. Voltaje, corriente y potencia

La medición de voltaje se realizó utilizando el microprocesador ARDUINO UNO que permitió medir el voltaje cada 30 s, conectado mediante caimanes a un alambre de cobre conductor que atravesaba el fieltro de carbono en ambas cámaras para completar el circuito, se conectó una resistencia de 1 k Ω . El ánodo fue identificado como el polo negativo, mientras que el cátodo como el polo positivo. Los valores de potencia e intensidad fueron calculados de acuerdo con la Ley de Ohm a partir de los datos de voltaje generados, y con estos, se calculó la densidad de potencia utilizando la siguiente ecuación ⁸¹:

$$\text{Densidad de potencia (W/m}^2\text{)} = \frac{V^2}{R \times A}$$

Donde:

V = Voltaje del sistema (v)

R = Resistencia externa (Ω)

A = Área del electrodo (m^2)

4.2.8. Microscopía electrónica de barrido

Se tomaron micrográficas de las muestras de los electrodos, con el fin de observar cambios estructurales en las fibras del fieltro de carbono, antes y después del tratamiento térmico, así como la presencia de microorganismos en los electrodos de las cámaras del ánodo y del cátodo. Para ello, se utilizó un microscopio electrónico de barrido termoiónico para (JEOL JSM-6390LV), ubicado en el Laboratorio Nacional de Clima Espacial UANL, equipado con un filamento de tungsteno. El voltaje de operación empleado fue de 10kV.

4.2.9. Remoción de CO₂

Para cuantificar la remoción de CO₂ se utilizó un sensor infrarrojo SCD30 conectado a un sistema ARDUINO que midió la concentración del CO₂ que entra del tanque a la celda y la concentración presente en la salida del sistema bioelectroquímico, la cantidad de CO₂ removido será determinado por la diferencia entre las concentraciones del gas.

Para su inyección fue suministrado CO₂ mediante pulsos de 0.2 mL para evitar la saturación de este gas en el medio de las microalgas ⁸², lo que podría acidificar el medio provocando la inhibición del crecimiento de las microalgas ^{83,84}. Los pulsos fueron inyectados cada 2 horas durante el periodo en donde la luz estaba incidiendo en la

cámara del cátodo, un total de 4 inyecciones de CO₂ fueron realizadas. El porcentaje de CO₂ removido fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de remoción (\%)} = \frac{CO_{2\text{ in}} - CO_{2\text{ out}}}{CO_{2\text{ in}} - CO_{2\text{ atm}}} \times 100$$

Donde:

CO_{2 in} = Concentración de CO₂ inyectado (ppm)

CO_{2 out} = Concentración de CO₂ en la salida del sistema (ppm)

CO_{2 atm} = Concentración de CO₂ atmosférico (ppm)

CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Identificación microscópica de microalgas

Las morfologías coincidían con las reportadas para *Scenedesmus* sp (Figura 23) y *Chlorella* sp (Figura 24).

En *Scenedesmus* sp se observan colonias verdes compuestas por 2 a 8 células, de forma ovalada o ligeramente curvadas en media luna. Las paredes celulares presentan espinas y cada célula contiene un cloroplasto visible en el centro de esta ⁸⁵.

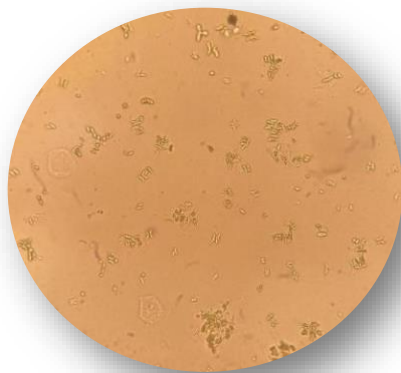


Figura 23. Morfología observada en el microscopio óptico en aumento 40X de colonias de la microalga *Scenedesmus* sp.

En *Chlorella* sp. se observan estructuras verdes unicelulares de forma esférica, sin presencia de flagelos. El cloroplasto se localiza en la periferia de la célula, rodeando el citoplasma, y no en el centro ⁸⁶.

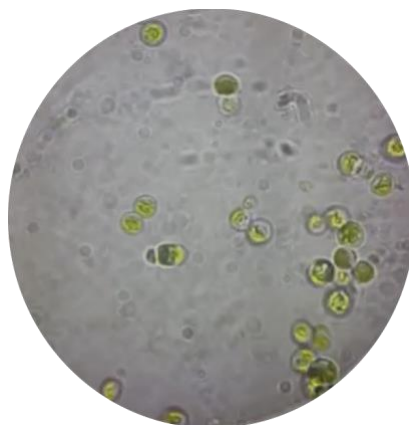


Figura 24. Morfología observada en el microscopio óptico en aumento 100X de colonias de la microalga *Chlorella sorokiniana*.

5.2. Cultivo de microalgas

Transcurridos los 14 días de cultivo se obtuvieron los siguientes resultados:

5.2.1. Medios de cultivo sintéticos

5.2.1.1 CHU 10

Se puede observar un mejor desempeño asociado al crecimiento de la microalga *Scenedesmus* sp, en comparación con *Chlorella sorokiniana*, la cual presentó un menor crecimiento en este medio (Figura 25). Esto se debe probablemente a la habilidad que tiene *Scenedesmus* spp., de desarrollarse en medios con nutrientes simples.

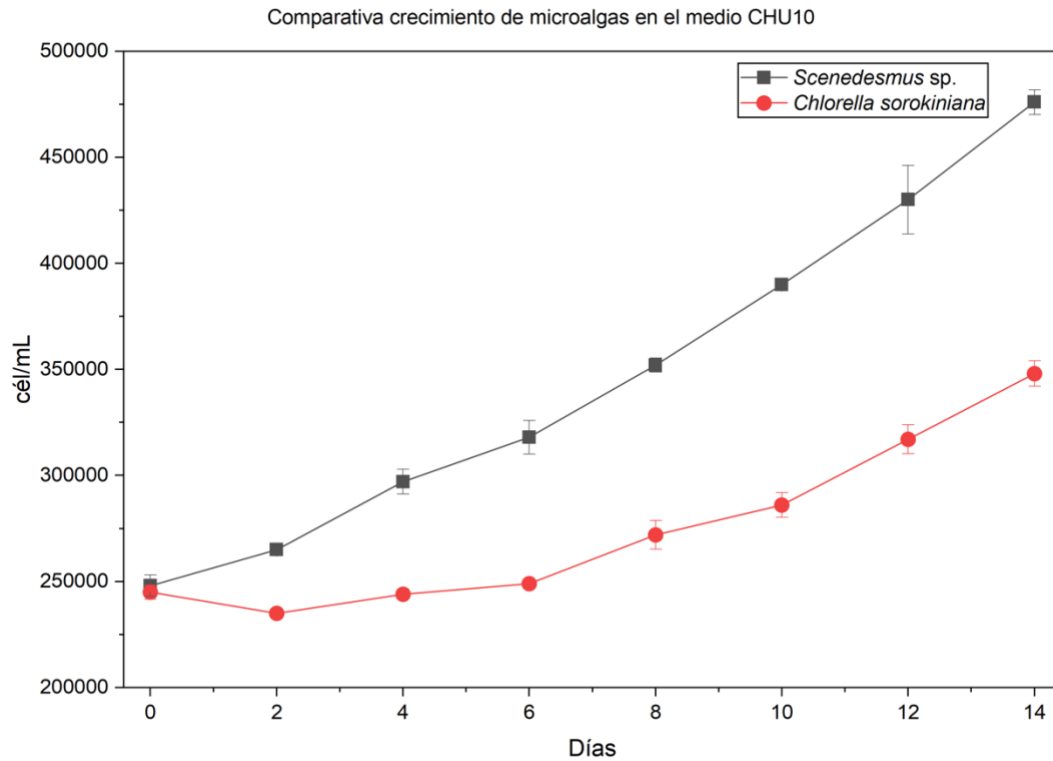


Figura 25. Comparativa del crecimiento entre las microalgas *Chlorella sorokiniana* y *Scenedesmus* sp en el medio sintético CHU10.

5.2.1.2. Bristol

De igual manera, el medio Bristol demostró ser más adecuado para el crecimiento de *Scenedesmus* spp. (Figura 26). La predominancia de esta microalga puede deberse a que, igual que el medio CHU, el medio Bristol es considerado un medio de cultivo simple, en el cual *Scenedesmus* puede aprovechar los nutrientes con facilidad, dado que su metabolismo es eficiente incluso con bajas concentraciones de nutrientes.

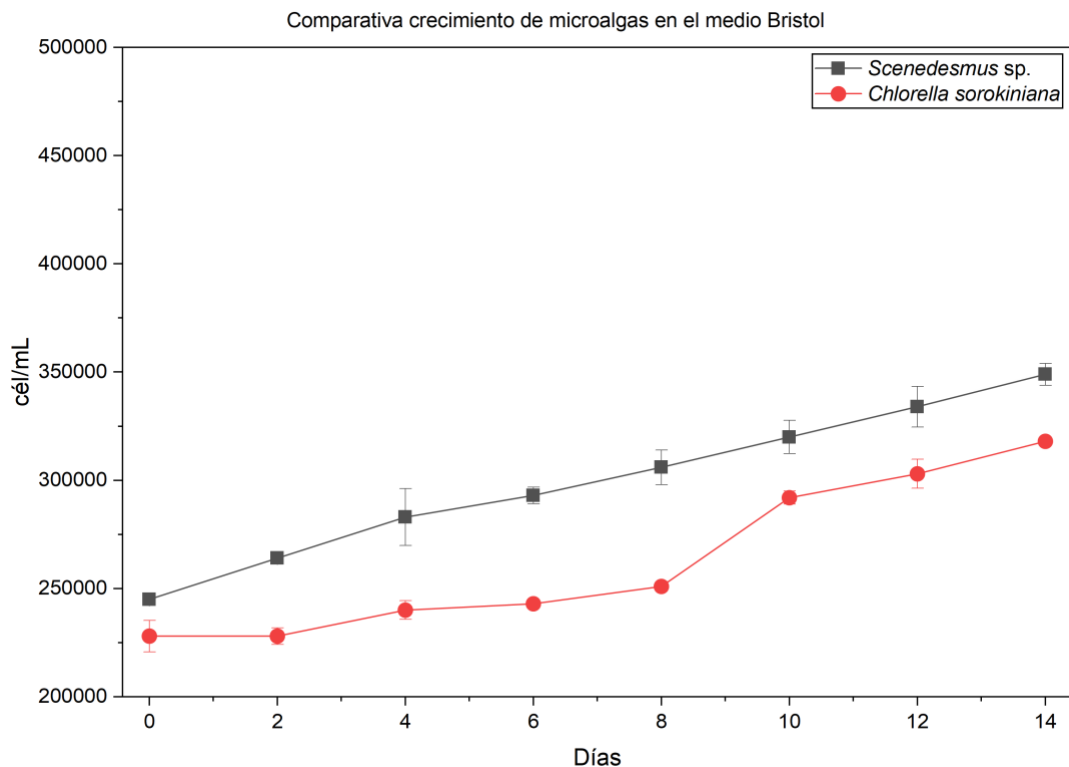


Figura 26. Comparativa del crecimiento entre las microalgas *Chlorella sorokiniana* y *Scenedesmus* sp en el medio sintético Bristol.

5.2.1.3. Bold Basal

El medio Bold Basal mostró un crecimiento similar en ambas cepas de microalgas, sin embargo, durante los 14 días de evaluación se observó un mejor desempeño en *Chlorella sorokiniana* (Figura 27). Esto puede atribuirse a la adición de la solución de elementos traza, que aporta micronutrientes esenciales, y a la presencia de EDTA, que actúa como agente quelante. El EDTA se une a los metales del medio e impide su precipitación, manteniéndolos en formas solubles y fácilmente disponibles para las microalgas ⁸⁷.

Para especies como *C. sorokiniana*, altamente dependientes de hierro y otros micronutrientes en formas biodisponibles, esta disponibilidad resulta crucial para sostener un crecimiento óptimo. En contraste, *Scenedesmus* sp. posee una mayor

capacidad para tolerar condiciones con menor disponibilidad de metales, lo que explica la razón por la cual su crecimiento no se ve tan favorecido por la presencia del quelante, y se obtiene un rendimiento similar al resto de cultivos ⁸⁸.

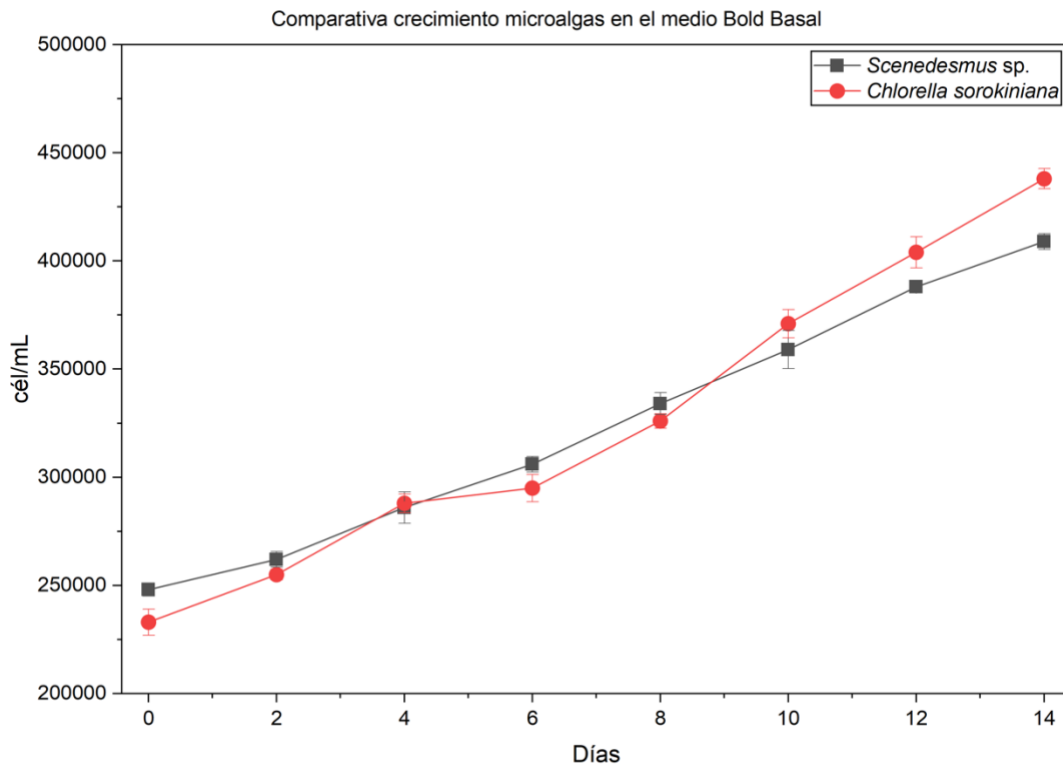


Figura 27. Comparativa del crecimiento entre las microalgas *Chlorella sorokiniana* y *Scenedesmus sp* en el medio sintético Bold Basal.

5.2.1.4. BG-11

En este medio, al igual que en Bold Basal, destacó el mayor crecimiento de la microalga *C. sorokiniana* (Figura 28). Un aspecto común entre ambos medios es la adición de una solución de elementos traza que, aunque difiere en la composición y concentración, favorece la disponibilidad de micronutrientes esenciales. La presencia de estas soluciones contribuye a que ciertas especies, como *C. sorokiniana*, presenten un mejor desarrollo ⁸⁸

En particular, en el medio BG-11, *C. sorokiniana* registró el mayor crecimiento entre todos los medios sintéticos evaluados. Este resultado es coherente con lo esperado, ya que BG-11 es considerado el medio estándar para el cultivo y crecimiento óptimo de las especies del género *Chlorella* ⁸⁹.

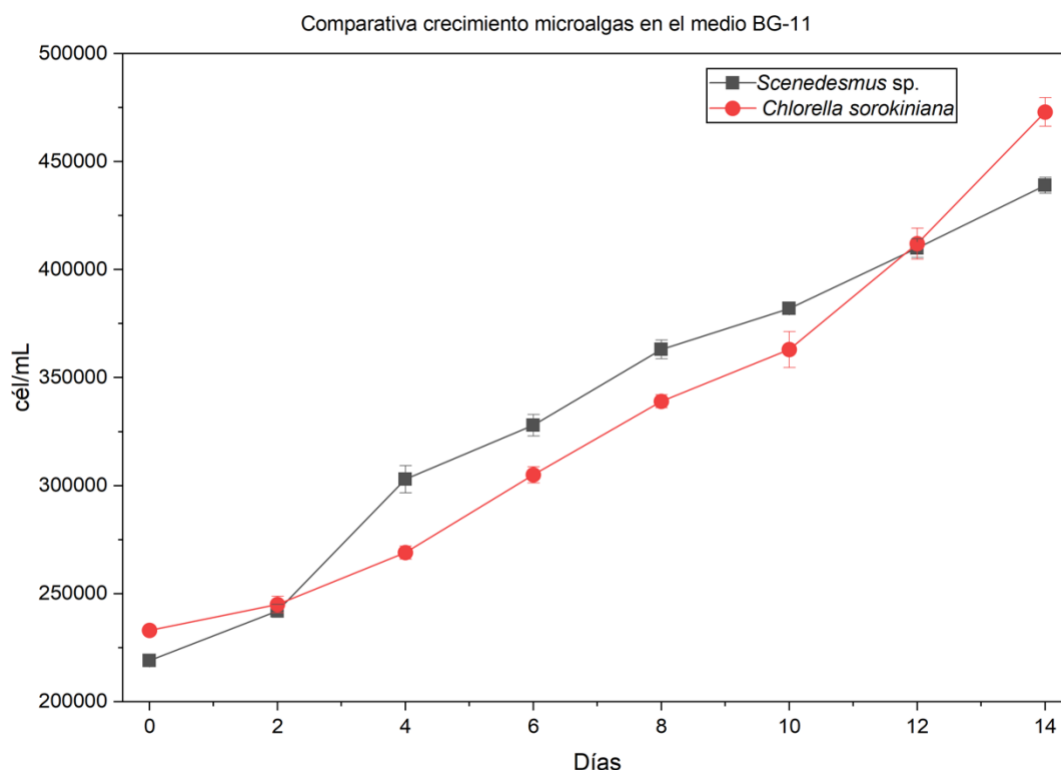


Figura 28. Comparativa del crecimiento entre las microalgas *Chlorella sorokiniana* y *Scenedesmus sp* en el medio sintético BG-11.

5.2.1.5. Aguas residuales

En este medio de cultivo, que utiliza un residuo como el agua residual, ambas microalgas mostraron un desempeño superior al de los medios sintéticos convencionales. Sin embargo, la microalga con la mayor tasa de crecimiento fue *Scenedesmus spp* (Figura 29). El aumento de crecimiento observado en este medio, en comparación con los anteriores podría deberse, principalmente a los diferentes componentes que tienen las aguas residuales, en lugar de los componentes limitados que tienen los medios

convencionales, ya que estos tienen las cantidades exactas para un crecimiento de microalgas controlado, mientras que en la muestra de aguas residuales esto no ocurre, ya que la cantidad de componentes que la microalga puede aprovechar depende de la carga de contaminantes en el agua, siendo los componentes principales, el carbono, el fósforo y el nitrógeno en sus diferentes formas ⁹⁰. Además, se evidenció una capacidad de resistencia notable, ya que, aunque las aguas residuales contienen una gran cantidad de nutrientes que las microalgas pueden aprovechar, también albergan otros microorganismos que compiten por estos nutrientes. No obstante, es bien conocido que las microalgas pueden proliferar rápidamente en ambientes como aguas residuales, utilizando los elementos del medio de manera más eficiente, lo que incrementa su tasa de reproducción y reduce la posibilidad de que otros microorganismos accedan a esos nutrientes, convirtiendo a las microalgas en una alternativa para la eliminación de contaminantes en aguas residuales ⁹¹.

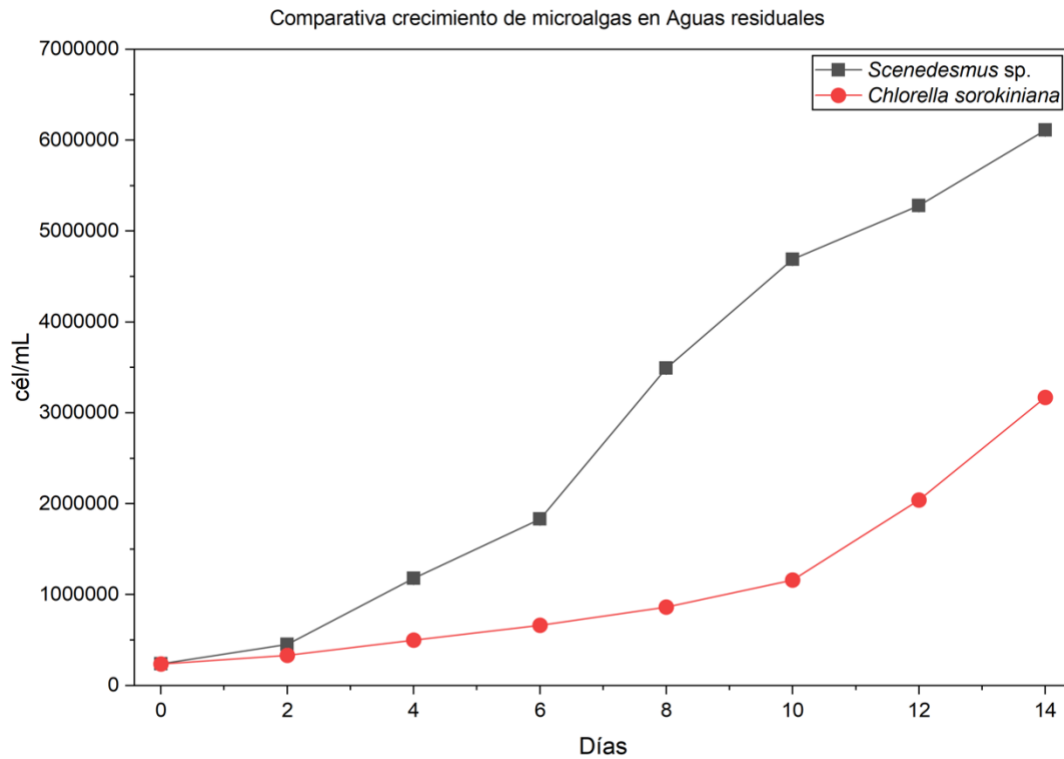


Figura 29. Comparativa del crecimiento entre las microalgas *Chlorella sorokiniana* y *Scenedesmus* sp en las aguas residuales.

Al observar la comparativa del crecimiento de *Chlorella sorokiniana* (Figura 30), se alcanza a visualizar cómo el cultivo en el agua residual fue muy superior comparado con los medios convencionales, aunque en el resto de los medios de cultivo, el BG-11 mostró un mayor crecimiento entre los medios sintéticos, según los resultados obtenidos por el cultivo (Figura 28).

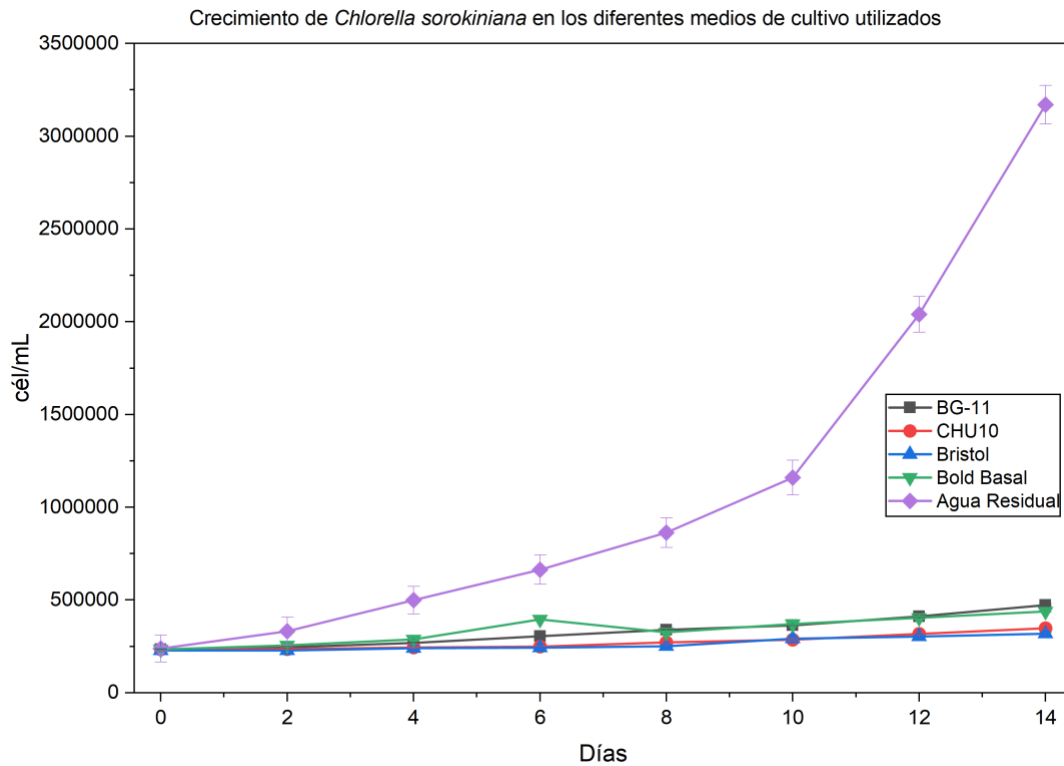


Figura 30. Comparativa del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en los diferentes medios de cultivo convencionales y en agua residual.

Al observar la comparativa del crecimiento de *Scenedesmus* sp. (Figura 31) queda muy clara la superioridad del cultivo en aguas residuales contra el resto de los medios convencionales, sin embargo, el medio CHU se posicionó como el medio de cultivo sintético con mejores resultados.

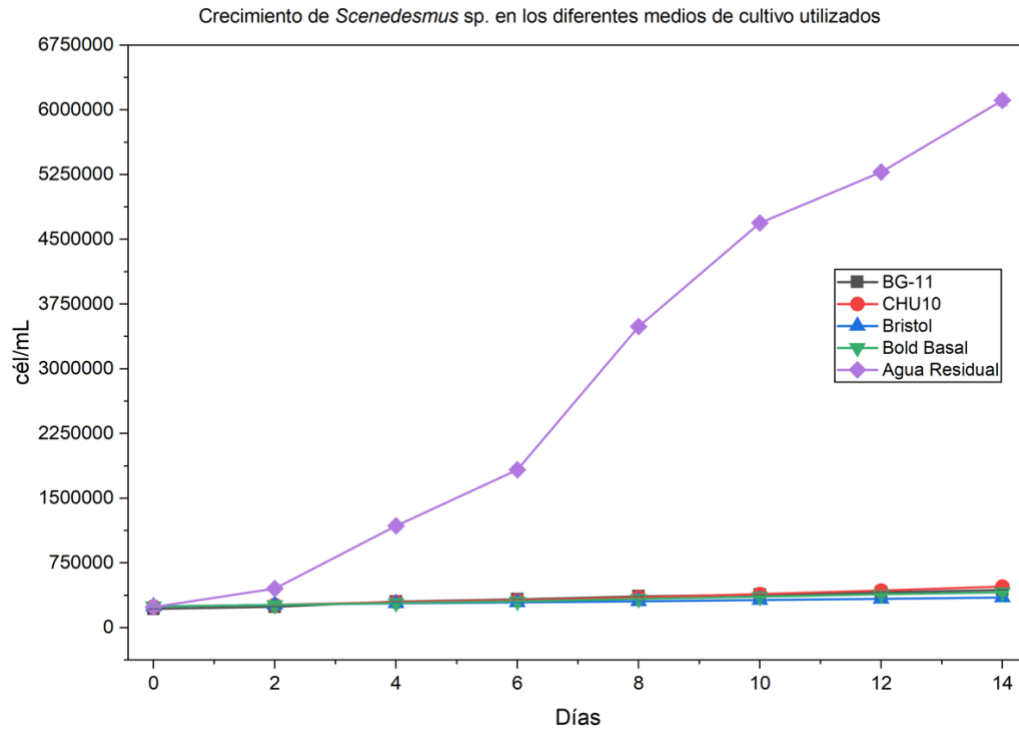


Figura 31. Comparativa del crecimiento de la microalga *Scenedesmus* sp en los diferentes medios de cultivo convencionales y en agua residual.

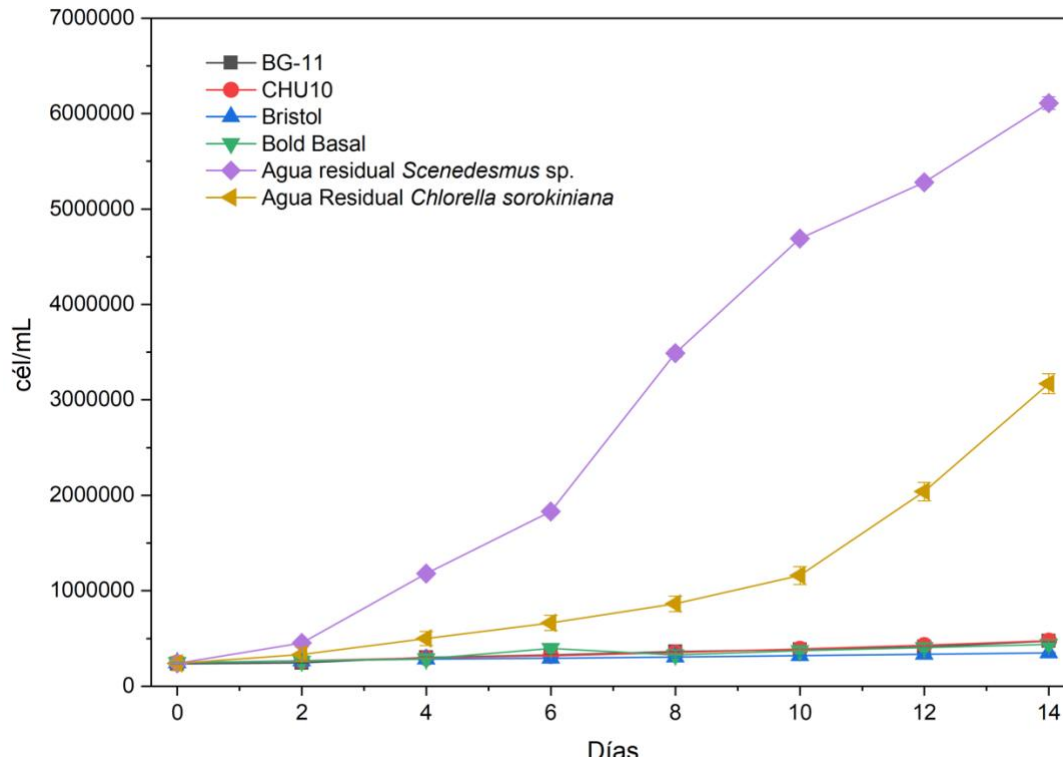


Figura 32. Comparativa del crecimiento de ambas microalgas en las aguas residuales comparados con los valores máximos de los medios convencionales

5.3. Construcción de la celda

La celda presentó dos cámaras, un ánodo y un cátodo, separadas por una membrana de intercambio de protones. En el ánodo predominaban las bacterias provenientes de aguas residuales, acompañadas de microalgas, mientras que en el cátodo predominaban las microalgas, complementadas con bacterias y un flujo de CO_2 para que las microalgas produjeran oxígeno a partir de este compuesto (Figura 33), así también, se conectaron los sensores del voltaje y CO_2 a la celda (Figura 34), estos sensores serán descritos más adelante.

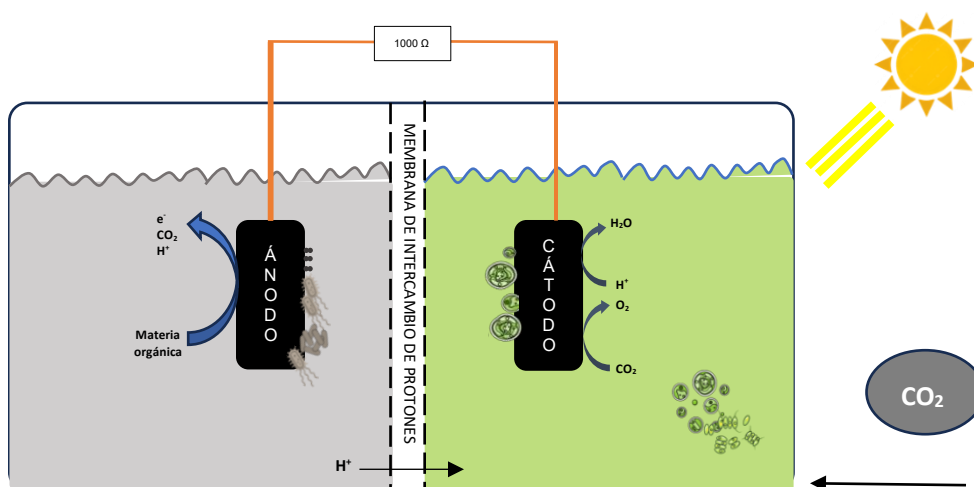


Figura 33. Diagrama general del sistema bioelectroquímico



Figura 34. Fotografía del armado de la celda

5.4. Caracterización aguas residuales.

5.4.1. NOM-001-SEMARNAT-2021

Tabla 6. Resultados de los parámetros de la NOM-001-SEMARNAT-2001 analizados en el agua residual del sedimentador primario

Tratamiento primario	
Parámetro	Concentración (mg/L)
pH	7.1
DQO	134.33
SST	213.33
SSV	140
Cd	0
Cu	0.036
Cr	0.011
Ni	0.038
Pb	0.047
Zn	0.099

Tabla 7. Comparación de los límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2001 y el tratamiento secundario de la PTAR.

Tratamiento secundario		
Parámetro	Concentración (mg/L)	Límites máx. permisibles (mg/L)
pH	7.2	6-9
DQO	54.89	210
SST	73.33	84
SSV	20	No indicado por la norma
Cd	0	0.4
Cu	0.004	6
Cr	0	1.5
Ni	0.003	4
Pb	0.026	0.4
Zn	0.064	20

Tabla 8. Comparación de los límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-2001 y el tratamiento de la microalga *Chlorella sorokiniana*.

Tratamiento microalga <i>Chlorella sorokiniana</i>		
Parámetro	Concentración (mg/L)	Límites máx. permisibles (mg/L)
pH	7.6	6-9
DQO	38.51	210
SST	0	84
SSV	0	N/A
Cd	0	0.4
Cu	0.02	6
Cr	0.001	1.5
Ni	0.015	4
Pb	0.015	0.4
Zn	0.053	20

5.4.2. Caracterización microbiológica

5.4.2.1. Cultivo y aislamiento microbiológico

Tras el primer cultivo se encontraron 7 diferentes colonias de bacterias distintas en el agua residual, por lo que se procedió con su aislamiento en el mismo medio nutritivo.

En el caso del agua residual tras el tratamiento en la celda se encontraron 3 diferentes colonias.

Las colonias aisladas a partir del agua residual sin tratamiento tienen las diferentes características generales:

- **Colonia 1:** colonia blanca transparentosa, forma redonda, elevación convexa
- **Colonia 2:** colonia blanca grande, forma redonda, borde entero, elevación convexa
- **Colonia 3:** colonia ligeramente naranja transparentosa mediana, forma redonda, borde irregular, elevación plana/convexa
- **Colonia 4:** colonia blanca pequeña, forma redonda, borde entero, con aparente mucosidad, elevación convexa
- **Colonia 5:** colonia naranja grande, forma redonda, borde irregular, elevación convexa.
- **Colonia 6:** colonia blanca con halo rosado pequeña, forma redonda, borde irregular, elevación convexa con aparente mucosidad.
- **Colonia 7:** colonia blanca pequeña, forma redonda, borde entero, elevación convexa

También se aislaron las colonias con las siguientes características generales del agua residual después de su tratamiento en la celda.

- **Colonia T1:** colonia blanca transparentosa, forma redonda, borde entero, elevación convexa
- **Colonia T2:** colonia blanca grande, forma irregular, borde irregular, borde plano

- **Colonia T3:** colonia beige pequeña, parecido al color al medio, forma redonda, borde entero, elevación convexa

Los resultados muestran una disminución en la cantidad de bacterias presentes en el agua residual tras el tratamiento en la celda, lo que indica que el proceso bioelectroquímico ejerce un efecto antibacteriano parcial. Este efecto podría estar asociado con la proliferación de bacterias exoelectrogénicas, que aprovechan las condiciones del ambiente de generación de electrones para competir por el sustrato, desplazando a otras especies.

5.4.2.2. Pruebas bioquímicas

5.4.2.2.1. Tinción gram y morfología bacteriana

De las siete colonias, cuatro fueron bacterias gram positivas, y las 3 restantes correspondieron a bacterias gram negativas.

La distribución de esta característica quedó de la siguiente manera:

Tabla 9. Resultados de la tinción de gram para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Tinción de Gram	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Gram positiva
2	Gram positiva
3	Gram negativa
4	Gram negativa
5	Gram negativa
6	Gram negativa
7	Gram positiva
Tratamiento en celda	
T1	Gram negativa
T2	Gram positiva

Se observa una mayoría de bacterias Gram negativas en el agua residual, tanto antes como después del tratamiento.

A su vez, se determinó la morfología bacteriana de los cultivos de la siguiente manera:

Tabla 10. Morfología de las células bacterianas presentes en las aguas residuales antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Morfología	
Agua residual	
Colonia	Forma de células
1	Bacilos
2	Cocos
3	Bacilos
4	Bacilos
5	Bacilos
6	Bacilos
7	Cocos
Tratamiento en celda	
T1	Bacilos
T2	Bacilos
T3	Bacilos

Los bacilos predominan en el agua residual tanto antes como después del tratamiento en la celda.

5.4.2.2.2. Oxidasa

Tabla 11. Resultados de la prueba de oxidasa para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Prueba oxidasa	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Negativo

2	Negativo
3	Negativo
4	Negativo
5	Negativo
6	Negativo
7	Negativo
Tratamiento en celda	
T1	Negativo
T2	Positivo
T3	Positivo

Antes del tratamiento, no se detectaron microorganismos capaces de producir la enzima citocromo c oxidasa. Tras el tratamiento, se observaron dos resultados positivos, correspondientes a las bacterias T2 y T3, lo que sugiere que estos microorganismos no estaban presentes previamente y posiblemente proliferaron gracias al ambiente generado en la celda. Por su parte, la bacteria T1 no presentó cambios respecto a los resultados obtenidos antes del tratamiento.

5.4.2.2.3. Catalasa

Tabla 12. Resultados de la prueba de catalasa para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Prueba catalasa	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Positivo
2	Negativo
3	Positivo
4	Positivo
5	Positivo
6	Positivo
7	Positivo
Tratamiento en celda	
T1	Positivo

T2	Positivo
T3	Positivo

Los resultados indican que la mayoría de las bacterias aisladas es capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno mediante la enzima catalasa, lo cual se evidencia por la formación de burbujas en la muestra.

5.4.2.2.4. Fermentación de lactosa

Tabla 13. Resultados de la prueba de fermentación de lactosa para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Fermentación de lactosa	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Positivo
5	Negativo
6	Positivo
7	Negativo
Tratamiento en celda	
T1	Positivo
T2	Negativo
T3	Negativo

Solo tres bacterias demostraron ser capaces de fermentar lactosa como carbohidrato, evidenciado por el cambio de color en el agar MacConkey y la formación de colonias rosadas en ese medio de cultivo.

5.4.2.2.5. Producción de H₂S

Tabla 14. Resultados de la prueba de producción de H₂S para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Producción de H₂S	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Negativo
2	Negativo
3	Positivo
4	Negativo
5	Negativo
6	Negativo
7	Negativo
Tratamiento en celda	
T1	Negativo
T2	Positivo
T3	Positivo

Se observó la producción de H₂S en tres de las bacterias aisladas, identificado por la formación de un precipitado negro en el medio de cultivo y la presencia de un olor desagradable característico a ácido sulfhídrico.

5.4.2.2.6. Indol

Tabla 15. Resultados de la prueba de producción de Indol para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Prueba de Indol	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Positivo
5	Negativo
6	Positivo
7	Negativo
Tratamiento en celda	
T1	Positivo

T2	Negativo
T3	Negativo

En este caso, tres bacterias demostraron ser capaces de producir indol a partir del triptófano presente en el reactivo de Kovac. Cabe destacar que las bacterias indol positivas coincidieron con aquellas que también fermentaron lactosa, evidenciando una posible correlación entre los resultados de estas pruebas bioquímicas.

5.4.2.2.7. Motilidad

Tabla 16. Resultados de la prueba de motilidad para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Prueba de Motilidad	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Positivo
2	Negativo
3	Positivo
4	Positivo
5	Positivo
6	Negativo
7	Negativo
Tratamiento en celda	
T1	Positivo
T2	Positivo
T3	Positivo

La mayoría de las bacterias aisladas mostraron capacidad de motilidad, mientras que únicamente tres presentaron resultados negativos. Esta predominancia de bacterias móviles podría reflejar las adaptaciones necesarias para sobrevivir en aguas residuales, donde la movilidad permite escapar de depredadores y competir por sustratos. En consecuencia, los organismos móviles tienden a predominar las aguas residuales.

5.4.2.2.8. Crecimiento en NaCl 6.5%

Tabla 17. Resultados de la prueba de crecimiento en altas concentraciones de sal (NaCl 6.5%) para las bacterias aisladas a partir de las muestras de agua residual antes y después del tratamiento bioelectroquímico.

Prueba de crecimiento en NaCl 6.5%	
Agua residual	
Colonia	Resultado
1	Negativo
2	Positivo
3	Negativo
4	Negativo
5	Negativo
6	Negativo
7	Positivo
Tratamiento en celda	
T1	Negativo
T2	Positivo
T3	Positivo

En su mayoría, los resultados fueron negativos para el crecimiento en altas concentraciones de sales. Esto resulta interesante, considerando que las aguas residuales ya presentan un contenido salino relativamente alto, lo que sugiere que los microorganismos podrían emplear distintos mecanismos de adaptación a condiciones salinas, posiblemente relacionados con la estructura y función de la membrana celular.

5.4.2.3. Identificación del consorcio bacteriano.

En resumen, las pruebas bioquímicas mostraron los siguientes resultados para ambos experimentos, y tras comparar con la literatura se identificaron las bacterias listadas a la derecha:

Tabla 18. Resumen de los resultados pruebas bioquímicas para las bacterias presentes en agua residual y en la celda. (+) Positivo, (-) Negativo.

Agua residual

Colonia	Morfología	Gram	Oxidasa	Catalasa	Lactosa	H ₂ S	Indol	Motilidad	NaCl 6.5%	Bacteria identificada
1	Bacilos	+	-	+	-	-	-	+	-	<i>Listeria</i> sp.
2	Coco	+	-	-	-	-	-	-	+	<i>Enterococcus</i> sp.
3	Bacilos	-	-	+	-	+	-	+	-	<i>Salmonella</i> sp.
4	Bacilos	-	-	+	+	-	+	+	-	<i>Escherichia coli</i>
5	Bacilos	-	-	+	-	-	-	+	-	<i>Serratia</i> sp.
6	Bacilos	-	-	+	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>
7	Cocos	+	-	+	-	-	-	-	+	<i>Staphylococcus</i> sp.

Tratamiento en celda										
T1	Bacilos	-	-	+	+	-	+	+	-	<i>Escherichia coli</i>
T2	Bacilos	+	+	+	-	+	-	+	+	<i>Bacillus</i> sp.
T3	Bacilos	-	+	+	-	+	-	+	+	<i>Shewanella</i> sp.

Los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas sugieren la presencia de al menos nueve bacterias diferentes en la muestra. La única coincidencia entre aislamientos se observó en las colonias etiquetadas como “4” y “T1”, lo cual confirma la diversidad microbiana presente. Además, aunque el tratamiento en la celda redujo la cantidad total de bacterias, la aparición de dos nuevas especies indica un cambio en la composición microbiana en las aguas residuales después del proceso.

Tras las pruebas bioquímicas se verificó que la colonia #4 y la colonia T1 corresponden a la misma bacteria: *Escherichia coli*. Esta especie es una de las más abundantes a nivel mundial y su hábitat típico es el intestino humano; por lo que su presencia en aguas residuales no resulta inesperada. Además, fue la única bacteria encontrada tanto en el agua residual del sedimentador primario de la PTAR como en el consorcio bacteriano después del tratamiento en la celda.

Por otro lado, la aparición de dos nuevas bacterias después del tratamiento sugiere que el ambiente generado en la celda favoreció la proliferación de microorganismos que

antes tenían menor oportunidad de crecer en el agua residual sin tratar, posiblemente debido a limitaciones de recursos derivada a la competencia con otras especies ⁹².

En el agua residual sin tratar destacaron cuatro enterobacterias: *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Serratia* sp. y *Klebsiella oxytoca*. Estas especies son típicas de plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas ⁹³, y han sido reportadas en PTAR de México ⁹⁴, lo cual se explica por su origen en el tracto intestinal de humanos y animales.

El resto de las bacterias identificadas también son típicas de aguas residuales: *Listeria* sp. (de importancia alimentaria), *Enterococcus* sp. y *Staphylococcus* sp., todas documentadas en plantas de tratamiento de agua residual alrededor del mundo ^{95–97}.

En cuanto a *Bacillus* sp. su presencia después del tratamiento indica que este microorganismo puede prevalecer incluso bajo condiciones adversas, debido a su capacidad de formar esporas. Por su parte *Shewanella* sp., aunque normalmente presente en bajas cantidades en aguas residuales, es ampliamente reportada en ambientes donde pueda desarrollar su metabolismo exoelectrogénico, como los sistemas bioelectroquímicos ^{98–100}, por ello estuvo presente en la celda. La producción de electrones favorece a las bacterias exoelectrogénicas, permitiéndoles competir eficazmente por el sustrato mientras otras especies son desplazadas.

Una de las bacterias más reportadas en sistemas bioelectroquímicos es *Geobacter* spp.^{98,101}, sin embargo, su aislamiento es complicado debido a que es un anaerobio estricto, lo que dificulta su identificación mediante pruebas bioquímicas y su crecimiento bajo condiciones estándar como el resto de los microorganismos. Por tanto, con los resultados obtenidos no es posible confirmar su presencia en el sistema.

5.4.3. Otros parámetros

5.4.3.1. Salinidad y conductividad

Tabla 19. Caracterización de agua residual: Salinidad y conductividad.

Párametro	Agua residual	Tratamiento secundario	Tratamiento con microalgas
Salinidad (mS/cm)	2.32	2.31	2.38
Conductividad (ppt)	1.14	1.13	1.2

5.5. Micrografías electrónicas

5.5.1. Estructura de los electrodos antes y después del tratamiento térmico

En las micrografías del electrodo tratado y sin tratar, se esperaba ver un cambio en la estructura de las fibras, ya que según la literatura el tratamiento térmico provoca una ligera ruptura de las fibras, o un aumento en el carácter hidrofílico, favoreciendo así la adherencia de microorganismos ^{75,102}, lo que en nuestro caso, no fue visible en las micrografías del SEM (Figura 35), ya que no se observan cambios significativos en el electrodo sin tratar (NT) y en el electrodo tratado (HT).

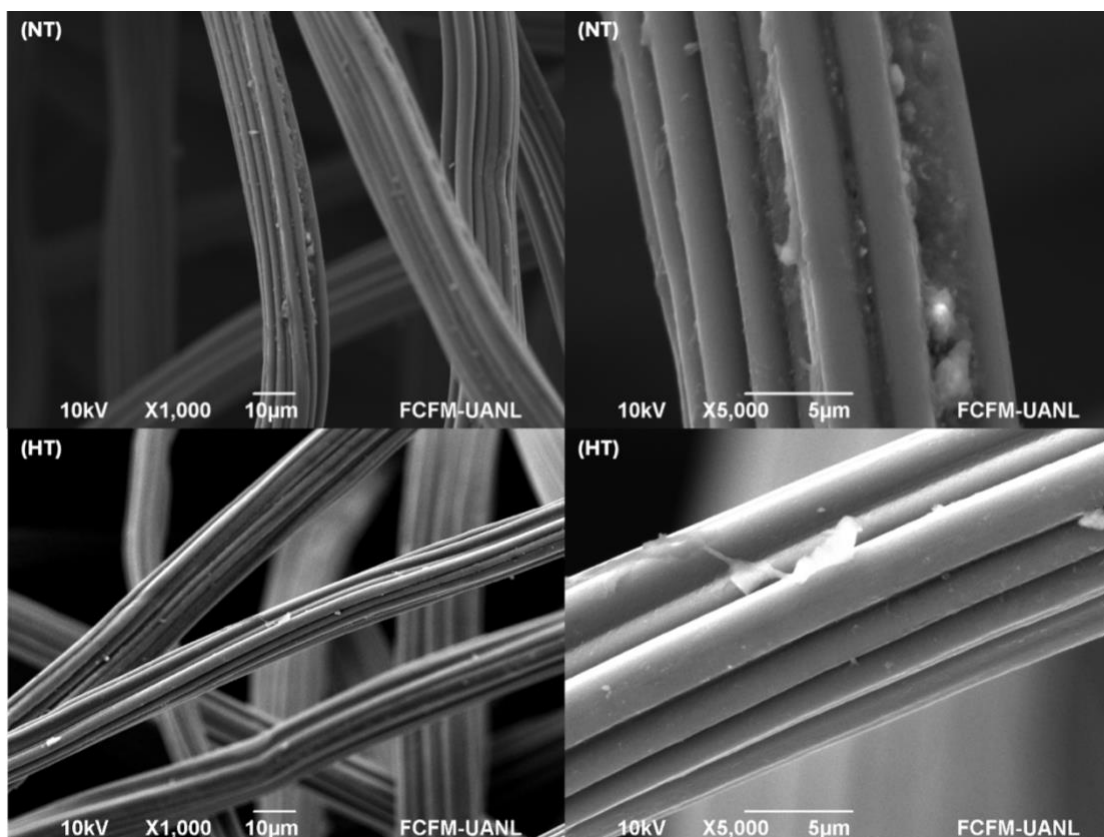


Figura 35. Comparación de la estructura de los electrodos con y sin tratamiento observada mediante micrograffías de SEM

5.5.2. Interacción de los electrodos con los microorganismos

Al analizar los electrodos mediante microscopía electrónica de barrido, se evidenció el crecimiento de microorganismos en ambas superficies (Figura 36). En el caso del ánodo (AN), se observaron diferentes morfologías bacterianas, principalmente bacilos y cocos, adheridos a las fibras del fieltro de carbono, los cuales concuerdan con la morfología de algunos de los microorganismos identificados mediante pruebas bioquímicas y con lo reportado en algunos casos de sistemas bioelectroquímicos ¹⁰³. Esta diversidad morfológica refleja la presencia de una comunidad bacteriana activa en el anolito. Las bacterias formaron una biopelícula delgada, de color café oscuro, la cual no era

fácilmente distinguible a simple vista debido a su similitud con el material negro del fieltro de carbono, similar a lo reportado por otros autores ¹⁰⁴.

Por otro lado, el cátodo (CAT) mostró una colonización más evidente por parte de las microalgas, las cuales formaron biofilms fácilmente observables a simple vista, evidenciados por el cambio de color en ciertas regiones del electrodo. Esta adherencia indica una alta biocompatibilidad entre las microalgas y el material del cátodo, lo que puede favorecer la captura de electrones y la eficiencia del proceso bioelectroquímico, la adherencia pudo estar ligada al tratamiento que tuvo el electrodo, que aunque no se observaron cambios morfológicos en las micrografías pudo mejorar la adherencia microbiana ^{102,103,105}.

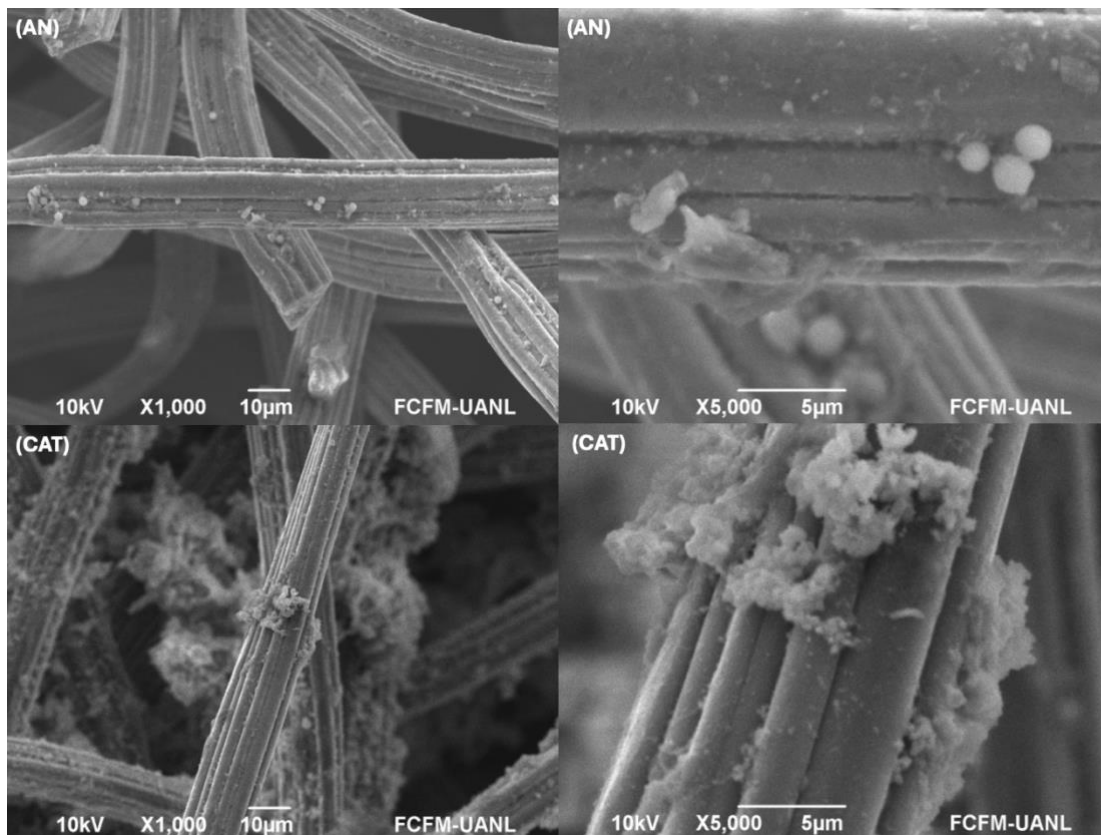


Figura 36. Comparativa de las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) en diferentes aumentos.

En términos comparativos, el cátodo presentó una mayor densidad biológica visible, asociada a la proliferación algal ¹⁰², mientras que el ánodo favoreció la formación de comunidades bacterianas responsables de la proliferación de electrones. A pesar de que en ambas cámaras coexistieron microorganismos de distinto tipo (microalgas y bacterias), su proporción fue diferente: las bacterias predominaron en el ánodo, donde se lleva a cabo la generación de electrones, y las microalgas en el cátodo, donde el oxígeno actúa como aceptor final. Esta distribución microbiana concuerda con la función electroquímica esperada de cada compartimiento del sistema bioelectroquímico.

5.5.3. Disminución de contaminantes

Tras realizar las pruebas de DQO y la medición de metales pesados por MP-AES se obtuvieron las siguientes concentraciones para las muestras del sedimentador primario, las del tratamiento secundario y las del tratamiento con las microalgas.

Tabla 20. Concentración de contaminantes presentes en las aguas residuales en las distintas fases del proceso.

Tratamiento	Concentración (mg/L)								
	DQO	SST	SSV	Cd	Cu	Cr	Ni	Pb	Zn
Primario	1227.2 ± 18.2	213.33 ± 81.1	140 ± 46.1	0	0.117 ± 0.06	0.022 ± 0.01	0.038 ± 0.01	0.047 ± 0.01	0.180 ± 0.03
Secundario	54.89 ± 9.2	73.33 ± 6.6	20 ± 11.5	0	0.04 ± 0.03	0.005 ± 0.004	0.004 ± 0.002	0.015 ± 0.008	0.07 ± 0.02
Microalgas	38.51 ± 9.01	0	0	0	0.02 ± 0.008	0.001 ± 0.0005	0.015 ± 0.007	0.015 ± 0.008	0.053 ± 0.004

*: Resultados pendientes

Tabla 21. Porcentajes de remoción máxima de los contaminantes en comparación con los valores iniciales del agua residual.

Párametro	% Remoción máxima de contaminantes	
	Tratamiento secundario	Tratamiento con microalgas
DQO (mg/L)	96.01	96.86
SST	66	100
SSV	86	100
Cd	0	0

Cu	65.81	82.9
Cr	77.27	95.46
Ni	89.47	60.5
Pb	68.5	68.08
Zn	61.11	70.55

5.6. Pruebas bioelectroquímicas

5.6.1. Densidad de potencia

La densidad de potencia generada por ambas celdas mostró una tendencia similar a lo largo del experimento, caracterizada por un incremento inicial seguido de la disminución gradual conforme se agotó la materia orgánica disponible en el medio. En ambos casos, el aumento de potencia observado durante los primeros días refleja una fase activa de metabolismo microbiano con la materia orgánica de las aguas residuales, además de sugerir una elevada eficiencia en la transferencia de electrones hacia el ánodo, tal como lo han reportado estudios previos en sistemas bioelectroquímicos ^{41,53}.

Durante esta fase inicial, *Scenedesmus* alcanzó su pico máximo de densidad de potencia en el día 7, con un valor de 294.37 mW/cm², mientras que *Chlorella* registró su máximo un día antes, en el día 6, con un valor apenas superior a 150 mW/cm². Esta diferencia podría atribuirse a las características fisiológicas de cada microalga, como su tasa de crecimiento, capacidad fotosintética y eficiencia en el transporte de electrones, factores que influyen directamente en el desempeño bioelectroquímico. Estudios previos han señalado que la estructura celular y el contenido de pigmentos fotosintéticos pueden afectar la liberación de exudados y la disponibilidad de electrones para las comunidades bacterianas asociadas, lo que explicaría la mayor eficiencia de *Scenedesmus* sp observada en este trabajo.

Tras alcanzar sus valores máximos, ambas celdas mostraron una disminución progresiva en la densidad de potencia. Esta tendencia coincide con la reducción de la materia orgánica disponible, la cual limita la actividad metabólica de los microorganismos heterótrofos involucrados en la transferencia de electrones. La literatura indica que, en sistemas batch, este descenso es característico debido a la disponibilidad finita de la materia orgánica ^{22,40}. Por ello es común implementar el cambio del agua residual para restablecer las condiciones iniciales del sistema, estrategia que podría mejorar la estabilidad y prolongar la generación de energía en futuros experimentos.

Comparando los valores obtenidos con los reportados en estudios similares, la densidad de potencia máxima registrada para *Scenedesmus* sp. se encuentra dentro de los resultados superiores en los sistemas bioelectroquímicos de laboratorio ⁴², superando incluso valores típicos en configuraciones similares. Por otro lado, el desempeño, aunque menor, se mantiene dentro de lo esperado para esta microalga, en donde regularmente se reportan valores menores a los de otras microalgas ^{81,106}, pero, su amplia disponibilidad en prácticamente cualquier cuerpo de agua en el mundo permite su fácil aplicación en los experimentos.

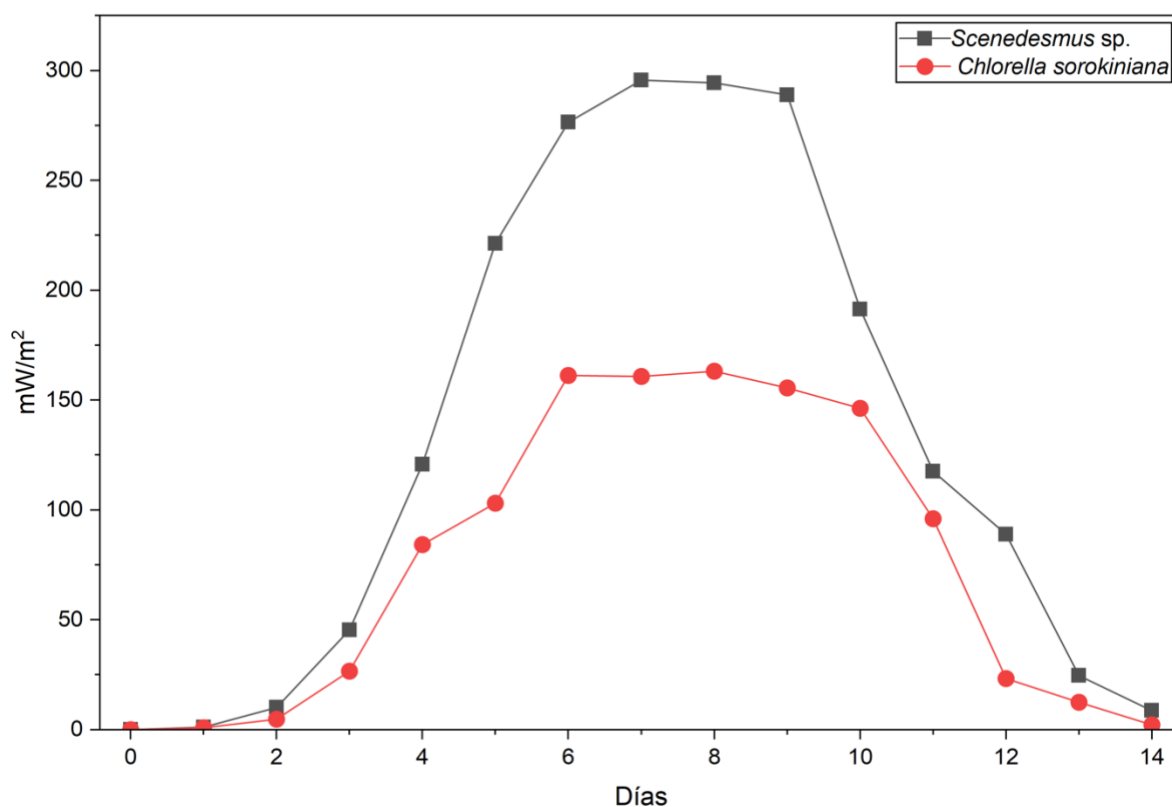


Figura 37. Comparación de la densidad de potencia de cada microalga en el sistema bioelectroquímico.

Finalmente, los datos sugieren que la combinación entre microalgas y bacterias en un sistema bioelectroquímico mantiene el mismo comportamiento observado en otros sistemas bioelectroquímicos mixtos: una fase de crecimiento y máxima eficiencia, seguida de un descenso asociado al agotamiento del sustrato. Futuros experimentos podrían explorar el impacto de ajustar la densidad celular inicial, optimizar los materiales de electrodo o modificar la cantidad de CO₂ suministrado para incrementar la estabilidad y la eficiencia de la generación eléctrica.

5.7. Remoción de CO₂

La remoción de CO₂ (Figura 38) alcanzó valores de hasta el 100% en ambas celdas y para ambas microalgas. La principal diferencia se observó durante el primer día, lo que

puede atribuirse al periodo de estabilización del sistema tras el inicio de la inyección de CO₂. Estos valores se encuentran entre los más altos reportados en la literatura; no obstante, la principal diferencia entre estudios radica en la cantidad de CO₂ suministrado. Mientras otros estudios inyectan volúmenes mayores, en el trabajo se administraron únicamente 0.8 mL diarios mediante pulsos.

Es probable que el sistema de inyección requiera ajustes para evaluar con mayor precisión su efecto sobre los porcentajes de remoción. Un ejemplo claro es el caso del día 8: debido al fin de semana, se inyectaron al final del día 1.6 mL de CO₂, correspondientes a dos días. Esta variación podría haber superado la tolerancia de las microalgas, afectando temporalmente su capacidad de remoción. Por ello, sería pertinente realizar pruebas adicionales con diferentes concentraciones de CO₂ y/o distintas concentraciones de microalgas para determinar si es posible mantener o incrementar los niveles de remoción bajo cargas de CO₂ más elevadas.

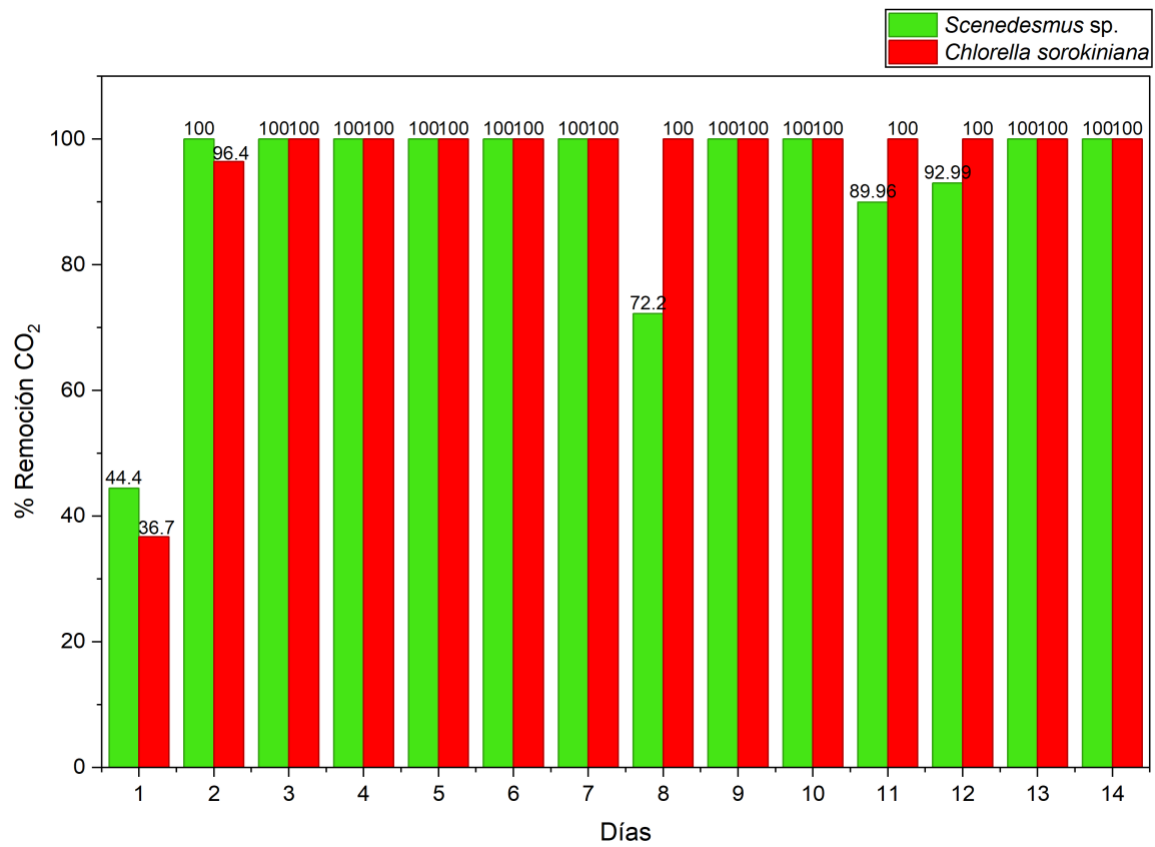


Figura 38. Porcentajes de remoción del sistema

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El sistema bioelectroquímico de dos cámaras, con diferente proporción de microorganismos en cada cámara (ánodo con mayor proporción de agua residual y menor de microalgas, cátodo con menor proporción de agua residual y mayor de microalgas), demostró ser eficaz en el tratamiento de aguas residuales, alcanzando una remoción de DQO superior al 97% y reduciendo los metales pesados contemplados en la norma oficial mexicana para el tratamiento de aguas residuales.

Las microalgas mostraron un notable potencial para aprovechar los contaminantes presentes en el agua residual como fuente de sustrato para sus procesos metabólicos y crecimiento, alcanzando un rendimiento diez veces superior al de medios sintéticos, lo que representa una alternativa económica y sustentable para el cultivo de microalgas. Al comparar la eficiencia del tratamiento de microalgas frente al tratamiento secundario convencional de la PTAR, se observó que las microalgas lograron una remoción de DQO superior, aunque la remoción de metales fue en algunos casos más eficiente en el proceso convencional.

El análisis de la composición bacteriana evidenció una predominancia de enterobacterias, como se esperaba para este tipo de muestras, y la aparición de *Shewanella* sp., como bacteria exoelectrogénica, indicando que el ambiente anódico de la celda favorece la proliferación de microorganismos capaces de generar electrones, lo que se relaciona directamente con la producción de electricidad a partir de la degradación de la materia orgánica. Las microalgas participaron de manera

complementaria en el consorcio microbiano, desempeñando un papel clave en el cátodo como generadoras de oxígeno, que actúa como el aceptor final de electrones, y contribuyendo también en menor medida en el ánodo.

Los electrodos de fieltro de carbono mostraron cumplir con las características ideales para sistemas bioelectroquímicos, destacando por su biocompatibilidad, área superficial y costo accesible, permitiendo la formación de biofilm y la proliferación microbiana, ventajas que no presentan otros materiales como grafito o telas de carbono, donde la biocompatibilidad se ve limitada por menor área superficial.

Finalmente, se confirmó que las microalgas pueden ser utilizadas en sistemas bioelectroquímicos para la generación de electricidad mientras tratan aguas residuales. Además, de que la biomasa generada puede constituir un subproducto de valor agregado, con aplicaciones potenciales para agricultura e industrias de biomateriales, aumentando el atractivo comercial de este tipo de sistemas.

Se recomienda evaluar el desempeño del sistema a largo plazo para determinar la estabilidad del consorcio microbiano y la eficiencia en la generación de electricidad durante periodos extendidos de operación. Asimismo, sería conveniente analizar el aprovechamiento de la biomasa generada, mediante estudios sobre su composición y posibles aplicaciones en la producción de bioproductos. Finalmente, se sugiere implementar el proceso en modo continuo en lugar de tipo batch, con el objetivo de optimizar la eficiencia y la productividad del sistema.

REFERENCIAS

1. Population Reference Bureau. *2024 World Population Data Sheet*.
2. Cafaro, P., Hansson, P. & Götmark, F. Overpopulation is a major cause of biodiversity loss and smaller human populations are necessary to preserve what is left. *Biol. Conserv.* **272**, 109646 (2022).
3. International Energy Agency. *World Energy Outlook 2024*. (2024).
4. REN21, P. Renewables 2025 Global Status Report. *Energy Syst.* (2025).
5. Global Carbon Project. Global Carbon Budget 2024. *Earth Syst. Sci. Data* **17**, 965–1039 (2025).
6. Organización de las Naciones Unidas. *Energía*.
<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/energy/> (2023).
7. Blankenship, R. E. *et al.* Comparing photosynthetic and photovoltaic efficiencies and recognizing the potential for improvement. *Science* **332**, 805–809 (2011).
8. Kavlak, G., McNerney, J. & Trancik, J. E. Evaluating the causes of cost reduction in photovoltaic modules. *Energy Policy* **123**, 700–710 (2018).
9. Pillai, U. Drivers of cost reduction in solar photovoltaics. *Energy Econ.* **50**, 286–293 (2015).
10. Unión Española de Fotovoltaica. *Análisis Del Estado Del Arte Del Reciclaje de Paneles Fotovoltaicos*. (2020).
11. National Renewable Energy Laboratory, 2025. *Best Research-Cell Efficiency Chart*.
12. Polman, A., Knight, M., Garnett, E. C., Ehrler, B. & Sinke, W. C. Photovoltaic materials: Present efficiencies and future challenges. *Science* **352**, aad4424 (2016).

13. Xu, Y., Li, J., Tan, Q., Peters, A. L. & Yang, C. Global status of recycling waste solar panels: A review. *Waste Manag.* **75**, 450–458 (2018).
14. Chen, P.-H., Chen, W.-S., Lee, C.-H. & Wu, J.-Y. Comprehensive Review of Crystalline Silicon Solar Panel Recycling: From Historical Context to Advanced Techniques. *Sustainability* **16**, 60 (2023).
15. CONAGUA. *Inventario Nacional de Plantas Municipales de Potabilización y de Tratamiento de Aguas Residuales En Operación*. (2023).
16. Magill, B. *Sewage Plants Overlooked Source of CO₂*. (2016).
17. Wollmann, F. *et al.* Microalgae wastewater treatment: Biological and technological approaches. *Eng. Life Sci.* **19**, 860–871 (2019).
18. Hernández, R. Optimización del crecimiento de la microalga *Scenedesmus* sp. en aguas residuales. (Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 2023).
19. Wang, B., Li, Y., Wu, N. & Lan, C. Q. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **79**, 707–718 (2008).
20. Abo, B. O., Odey, E. A., Bakayoko, M. & Kalakodio, L. Microalgae to biofuels production: a review on cultivation, application and renewable energy. *Rev. Environ. Health* **34**, 91–99 (2019).
21. Organización de las Naciones Unidas. *Objetivos de Desarrollo Sostenible*. (2015).
22. Logan, B. E., Rossi, R., Ragab, A. & Saikaly, P. E. Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 307–319 (2019).
23. Rabaey, K. & Rozendal, R. A. Microbial electrosynthesis — revisiting the electrical route for microbial production. *Nat. Rev. Microbiol.* **8**, 706–716 (2010).

24. Logan, B. E. *et al.* Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 5181–5192 (2006).
25. Bazina, N., Ahmed, T. G., Almdaaf, M., Jibia, S. & Sarker, M. Power generation from wastewater using microbial fuel cells: A review. *J. Biotechnol.* **374**, 17–30 (2023).
26. Miran, W., Jang, J., Nawaz, M., Shahzad, A. & Lee, D. S. Sulfate-reducing mixed communities with the ability to generate bioelectricity and degrade textile diazo dye in microbial fuel cells. *J. Hazard. Mater.* **352**, 70–79 (2018).
27. Ivars-Barceló, F. *et al.* Novel Applications of Microbial Fuel Cells in Sensors and Biosensors. *Appl. Sci.* **8**, 1184 (2018).
28. Tran, H., Kim, E. & Jung, S. P. Anode biofilm maturation time, stable cell performance time, and time-course electrochemistry in a single-chamber microbial fuel cell with a brush-anode. *J. Ind. Eng. Chem.* **106**, 269–278 (2022).
29. Yao, H., Rinta-Kanto, J. M., Vassilev, I. & Kokko, M. Methanol as a co-substrate with CO₂ enhances butyrate production in microbial electrosynthesis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **108**, 372 (2024).
30. Sciarria, T. *et al.* Bio-electrorecycling of carbon dioxide into bioplastics. *Green Chem.* **20**, 4058–4066 (2018).
31. Bi, H. *et al.* Biofuel synthesis from carbon dioxide via a bio-electrocatalysis system. *Chem Catal.* **3**, 100557 (2023).
32. Ter Heijne, A. *et al.* Mixed Culture Biocathodes for Production of Hydrogen, Methane, and Carboxylates. in *Bioelectrosynthesis* (eds Harnisch, F. & Holtmann, D.) vol. 167 203–229 (Springer International Publishing, Cham, 2017).

33. Rosenbaum, M. A., Berger, C., Schmitz, S. & Uhlig, R. Microbial Electrosynthesis I: Pure and Defined Mixed Culture Engineering. in *Bioelectrosynthesis* (eds Harnisch, F. & Holtmann, D.) vol. 167 181–202 (Springer International Publishing, Cham, 2017).
34. Bhattacharyya, S., Moharana, S., Satpathy, S. K. & Sahu, B. B. Photosynthetic Efficiency of Microalgae and Cyanobacteria on Reduced Graphene Oxide (RGO) Anode Surface for Utilization in Bio-Photovoltaics (BPV). *J. Adv. Zool.* **44**, 1392–1401 (2023).
35. Tschörtner, J., Lai, B. & Krömer, J. O. Biophotovoltaics: Green power generation from sunlight and water. *Front. Microbiol.* **10**, (2019).
36. Arun, J. *et al.* New insights into microbial electrolysis cells (MEC) and microbial fuel cells (MFC) for simultaneous wastewater treatment and green fuel (hydrogen) generation. *Fuel* **355**, 129530 (2024).
37. Ge-Zhang, S., Cai, T. & Song, M. Life in biophotovoltaics systems. *Front. Plant Sci.* **14**, (2023).
38. Reyna-Martinez, R. *et al.* Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus* sp. microalgae native of Nuevo León State, México. *PeerJ* **6**, e4358 (2018).
39. Fariz, E. Identificación de bioproductos de interés comercial en microalgas floculantes nativas del estado de Nuevo León, México. (Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 2019).

40. Juhari, A. N., Sharani, M. S., Wan Daud, W. R., Jafary, T. & Abu Bakar, M. H. UKM2 *Chlorella* sp. Strain Electricity Performance as Bio-anode under Different Light Wavelength in a Biophotovoltaic Cell. *Sains Malays.* **49**, 3229–3241 (2020).
41. Ng, F.-L. *et al.* Integration of bioelectricity generation from algal biophotovoltaic (BPV) devices with remediation of palm oil mill effluent (POME) as substrate for algal growth. *Environ. Technol. Innov.* **21**, 101280 (2021).
42. Bhadra, S., Nayak, S. & Sevda, S. Simultaneous organic wastewater treatment and bioelectricity production in a dual chamber microbial fuel cell with *Scenedesmus obliquus* biocathode. *Energy Convers. Manag.* **316**, 118849 (2024).
43. Anam, M., Gomes, H. I., Rivers, G., Gomes, R. L. & Wildman, R. Evaluation of photoanode materials used in biophotovoltaic systems for renewable energy generation. *Sustain. Energy Fuels* **5**, 4209–4232 (2021).
44. Aiswaria, P., Samsudeen Naina, M., Singaravelu, D. L., Brindhadevi, K. & Pugazhendhi, A. A review on graphene / graphene oxide supported electrodes for microbial fuel cell applications: Challenges and prospects. *Chemosphere* **296**, 133983 (2022).
45. Chen, X. *et al.* 3D-printed hierarchical pillar array electrodes for high-performance semi-artificial photosynthesis. *Nat. Mater.* **21**, 811–818 (2022).
46. Wey, L. T. *et al.* The Development of Biophotovoltaic Systems for Power Generation and Biological Analysis. *ChemElectroChem* **6**, 5375–5386 (2019).
47. Kim, J., Yun, J., Sharipov, M., Moon, J. & Ryu, W. Enhancing the performance of 3D printed bio-photoelectrochemical cells through multi-objective Bayesian optimisation. *Virtual Phys. Prototyp.* **20**, e2449565 (2025).

48. Thorne, R. *et al.* Porous ceramic anode materials for photo-microbial fuel cells. *J. Mater. Chem.* **21**, 18055 (2011).
49. Mersch, D. *et al.* Wiring of Photosystem II to Hydrogenase for Photoelectrochemical Water Splitting. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 8541–8549 (2015).
50. Yuan, Z. *et al.* Integrated photosystem II with MXene QDs/TiO₂ inverse opal bioelectrode for mimic biophotovoltaic applications. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **707**, 135921 (2025).
51. Kim, J., Yun, J., Sharipov, M., Moon, J. & Ryu, W. Enhancing the performance of 3D printed bio-photoelectrochemical cells through multi-objective Bayesian optimisation. *Virtual Phys. Prototyp.* **20**, e2449565 (2025).
52. Son, J., Yun, J., Kang, Y., Ryu, W. & Kim, J. Thin, Flexible, and Inkjet-Printed Biophotovoltaic Cell Based on Thylakoid Membrane. in *2024 IEEE 37th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)* 288–291 (IEEE, Austin, TX, USA, 2024). doi:10.1109/MEMS58180.2024.10439307.
53. Ahiahonu, E. K. *et al.* Exploring indigenous freshwater chlorophytes in integrated biophotovoltaic system for simultaneous wastewater treatment, heavy metal biosorption, CO₂ biofixation and biodiesel generation. *Bioelectrochemistry* **147**, 108208 (2022).
54. Fowler, S., Roush, R. & Wise, J. Concepts of Biology.
55. Raines, C. A. The Calvin cycle revisited. *Photosynth. Res.* **75**, 1–10 (2003).
56. Zhu, H., Wang, H., Zhang, Y. & Li, Y. Biophotovoltaics: Recent advances and perspectives. *Biotechnol. Adv.* **64**, 108101 (2023).

57. Saper, G. *et al.* Live cyanobacteria produce photocurrent and hydrogen using both the respiratory and photosynthetic systems. *Nat. Commun.* **9**, (2018).
58. Oh, S.-E. & Logan, B. E. Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **70**, 162–169 (2006).
59. Bombelli, P. *et al.* Quantitative analysis of the factors limiting solar power transduction by *Synechocystis* sp. PCC 6803 in biological photovoltaic devices. *Energy Environ. Sci.* **4**, 4690 (2011).
60. Petrova, N. Z., Tóth, T. N., Shetty, P., Maróti, G. & Tóth, S. Z. Enhancing biophotovoltaic efficiency: Study on a highly productive green algal strain *Parachlorella kessleri* MACC-38. *Bioresour. Technol.* **394**, (2024).
61. Howe, C. J. & Bombelli, P. Electricity Production by Photosynthetic Microorganisms. *Joule* **4**, 2065–2069 (2020).
62. McCormick, A. J. *et al.* Biophotovoltaics: oxygenic photosynthetic organisms in the world of bioelectrochemical systems. *Energy Environ. Sci.* **8**, 1092–1109 (2015).
63. Rosenbaum, M., He, Z. & Angenent, L. T. Light energy to bioelectricity: Photosynthetic microbial fuel cells. *Curr. Opin. Biotechnol.* **21**, 259–264 (2010).
64. Thirumurthy, M. A. *et al.* Type IV Pili-Independent Photocurrent Production by the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Front. Microbiol.* **11**, (2020).
65. Shlosberg, Y. *et al.* Electron mediation and photocurrent enhancement in *dunaliella salina* driven bio-photo electrochemical cells. *Catalysts* **11**, (2021).

66. Chan, S. S., Khoo, K. S., Chew, K. W., Ling, T. C. & Show, P. L. Recent advances biodegradation and biosorption of organic compounds from wastewater: Microalgae-bacteria consortium - A review. *Bioresour. Technol.* **344**, 126159 (2022).
67. Yang, J., Cao, J., Xing, G. & Yuan, H. Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341. *Bioresour. Technol.* **175**, 537–544 (2015).
68. Mustafa, S., Bhatti, H. N., Maqbool, M. & Iqbal, M. Microalgae biosorption, bioaccumulation and biodegradation efficiency for the remediation of wastewater and carbon dioxide mitigation: Prospects, challenges and opportunities. *J. Water Process Eng.* **41**, 102009 (2021).
69. Clesceri, L., Greenberg, A. & Eaton, A. *Standard Methods for the Examinations of Water and Wastewater*. (American Public Health Association, 1999).
70. HiMedia Labs. CHU's Medium No. 10. (2019).
71. The University of Texas at Austin. Bristol Medium Recipe. (2025).
72. The University of Texas at Austin. Bold Basal Medium Recipe. (2019).
73. The University of Texas at Austin. BG-11 Medium Recipe. (2025).
74. Arredondo, B. & Voltolina, D. *Métodos y Herramientas Análíticas En La Evaluación de Biomasa Microalgal*. (Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, Baja California, México, 2007).
75. Cai, H., Wang, J., Bu, Y. & Zhong, Q. Treatment of carbon cloth anodes for improving power generation in a dual-chamber microbial fuel cell. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **88**, 623–628 (2013).

76. Gobierno de México. NOM-001-SEMARNAT-2021. (2021).
77. Sigma Aldrich. Nutrient Agar. (2025).
78. Shields, P. Oxidase test protocol. (2010).
79. Reiner, K. Catalase test protocol. (2010).
80. Shields, P. Motility test medium protocol. (2011).
81. Tay, Z. H.-Y. *et al.* Evaluation of selected tropical marine microalgal cultures for use in biophotovoltaic platforms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **108**, 71 (2024).
82. Arraga, R., Dambruin, N. A., Barceló-Villalobos, M., Janssen, M. & Acién, F. G. A new method for the online determination of mass transfer and oxygen production rates in microalgae raceway reactors. *Algal Res.* **90**, 104235 (2025).
83. Aditya, L. *et al.* Role of culture solution pH in balancing CO₂ input and light intensity for maximising microalgae growth rate. *Chemosphere* **343**, 140255 (2023).
84. Wang, Z. *et al.* Mutation adaptation and genotoxicity of microalgae induced by Long-Term high CO₂ stress. *Chem. Eng. J.* **445**, 136745 (2022).
85. Pham, T.-L. & Bui, M. H. Removal of Nutrients from Fertilizer Plant Wastewater Using *Scenedesmus* sp.: Formation of Bioflocculation and Enhancement of Removal Efficiency. *J. Chem.* **2020**, 1–9 (2020).
86. Zawar, P. A., Javalkote, V. S. & Puranik, P. R. Optimization of the parameters of culture medium for chemo-photosynthetic carbon dioxide sequestration using response surface methodology. (2016).
87. Rathnayake, I. V. N., Megharaj, M., Beer, M. & Naidu, R. Medium composition affects the heavy metal tolerance of microalgae: a comparison. *J. Appl. Phycol.* **33**, 3683–3695 (2021).

88. Badr, A. A. & Fouad, W. M. Identification of culturable microalgae diversity in the River Nile in Egypt using enrichment media. *Afr. J. Biol. Sci.* **3**, 50 (2021).
89. Yadav, D. K. *et al.* Screening of best growth media for *Chlorella vulgaris* cultivation and biodiesel production. *Biofuels* **15**, 271–277 (2024).
90. Alazaiza, M. Y. D., Alzghoul, T. M., Abu Amr, S. S. & Ramu, M. B. Microalgae cultivation for dairy wastewater treatment: Insight from recent research and bibliometric analysis. *Results Eng.* **24**, 103052 (2024).
91. Silva-Gálvez, A. L. *et al.* Strategies for livestock wastewater treatment and optimised nutrient recovery using microalgal-based technologies. *J. Environ. Manage.* **354**, 120258 (2024).
92. Oruganti, R. K. *et al.* A comprehensive review on the use of algal-bacterial systems for wastewater treatment with emphasis on nutrient and micropollutant removal. *Bioengineered* **13**, 10412–10453 (2022).
93. Li, S., Ondon, B. S., Ho, S.-H., Jiang, J. & Li, F. Antibiotic resistant bacteria and genes in wastewater treatment plants: From occurrence to treatment strategies. *Sci. Total Environ.* **838**, 156544 (2022).
94. Jiménez, B., Chávez, A., Maya, C. & Jardines, L. Removal of microorganisms in different stages of wastewater treatment for Mexico City. *Water Sci. Technol.* **43**, 155–162 (2001).
95. Velazquez-Meza, M. E. *et al.* Multidrug-Resistant *Staphylococcus* sp. and *Enterococcus* sp. in Municipal and Hospital Wastewater: A Longitudinal Study. *Microorganisms* **12**, 645 (2024).

96. Nguema, P. P. M. *et al.* Identification of *Listeria* spp. with Antibiotic Resistance in Wastewater from Hospitals in Libreville, Gabon. *Int. J. Curr. Sci. Res. Rev.* **08**, (2025).
97. Horack, E. *et al.* Whole-genome sequence of 19 *Listeria monocytogenes* , isolated from municipal wastewater in State College, Pennsylvania. *Microbiol. Resour. Announc.* **14**, e00523-25 (2025).
98. Hu, Y. *et al.* Biofilm Biology and Engineering of *Geobacter* and *Shewanella* spp. for Energy Applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **9**, 786416 (2021).
99. Ikeda, S. *et al.* *Shewanella oneidensis* MR-1 as a bacterial platform for electro-biotechnology. *Essays Biochem.* **65**, 355–364 (2021).
100. Malik, S. *et al.* A Perspective Review on Microbial Fuel Cells in Treatment and Product Recovery from Wastewater. *Water* **15**, 316 (2023).
101. Nishio, K., Hashimoto, K. & Watanabe, K. Digestion of Algal Biomass for Electricity Generation in Microbial Fuel Cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **77**, 670–672 (2013).
102. Altın, N. & Uyar, B. Impact of anode surface modifications on microbial fuel cell performance and algal biomass production. *Environ. Technol.* **46**, 2306–2317 (2025).
103. Spiess, S. *et al.* Impact of Carbon Felt Electrode Pretreatment on Anodic Biofilm Composition in Microbial Electrolysis Cells. *Biosensors* **11**, 170 (2021).
104. Figueroa Hernández, E., Cercado Quesada, B., Morales Hernández, J., A. Gamboa, S. & Sandoval González, A. Tratamiento de agua residual de industria aeronáutica con celdas de electrólisis microbianas. *Química Hoy* **12**, 37–43 (2023).

105. Chang, S.-H., Tsao, Y.-T. & Tung, K.-W. Heat Treatment Effect on the Surface Properties of Carbon Cloth Electrode for Microbial Fuel Cell. *Mater. Sci.* **27**, 361–366 (2021).
106. Saifuddin, F. H. *et al.* Existence of sodium bicarbonate enhanced bioelectricity generation on *Chlorella* sp. biofilm in a Biophotovoltaic (BPV) system. *J. Appl. Phycol.* **34**, 2423–2436 (2022).