

DECOLORACIÓN DE NARANJA DE METILO Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA EN UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA POR *Chromobacterium rhizoryzae*, *Stenotrophomonas maltophilia* Y *Bacillus cereus*

Methyl orange decolorization and electrical energy production in a microbial fuel cell by *Chromobacterium rhizoryzae*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Bacillus cereus*

Cintha Berenice FOSADOS OSORIO¹, Rodrigo CUERVO GONZÁLEZ¹, Miguel Alberto PÉREZ VARGAS², Alejandro CRUZ HERNÁNDEZ² y Leandro CHAIRES MARTÍNEZ^{2*}

¹ Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Región Poza Rica - Tuxpan. Universidad Veracruzana. Carretera Tuxpan-Tampico km 7.5. Col. Universitaria. C.P. 92850. Tuxpan, Veracruz. México.

² Tecnológico Nacional de México: Instituto Tecnológico Superior de Álamo Temapache. km 6.5 Carretera Potrero del Llano-Tuxpan. Col. Xoyotitla. C.P. 92750. Álamo Temapache, Veracruz. México.

*Autor para correspondencia: leandro.cm@alamo.tecnm.mx

(Recibido: enero 2025; aceptado mayo 2025)

Palabras clave: energías renovables, compuestos azoicos, bacterias electroactivas, cinéticas de reducción, parámetros electroquímicos.

RESUMEN

El uso industrial de colorantes genera aguas residuales contaminadas que promueven serios problemas ambientales; las celdas de combustible microbianas (CCM) representan una alternativa sustentable al tratamiento de dichos efluentes y la capacidad exoelectrogénica de los microorganismos involucrados es un factor importante a considerar. En el presente trabajo, a nivel matraz, se obtuvieron datos cinéticos de biodecoloración del colorante azo naranja de metilo (NM), a través del uso de las bacterias *Stenotrophomonas maltophilia* (SM), *Bacillus cereus* (BC) y *Chromobacterium rhizoryzae* (CR) en concentraciones de 200 a 1000 mg/L. Posteriormente, se caracterizó el comportamiento electroquímico de las cepas en una CCM de doble compartimento y se monitoreó la reducción de la demanda química de oxígeno (DQO). Los resultados mostraron que las cepas empleadas degradan el colorante eficientemente (> 90 %) en un periodo de 48 a 72 h y el mejor ajuste cinético arrojó valores de la capacidad máxima de oxidación entre 0.807 y 0.998 h⁻¹. Al llegar a las 120 h de operación de la CCM, el tratamiento con CR alcanzó el valor máximo de generación de voltaje (526 mV), de densidad de corriente (619 mA/m²), de densidad de potencia (326 mW/m²) y de disminución de la DQO (77 %). La cepa CR presenta un potencial electroquímico viable en la degradación de naranja de metilo, ya que los valores promedio de los parámetros electroquímicos reportados son superiores en 52 % a los obtenidos con *Bacillus cereus* y en 28 % a *Stenotrophomonas maltophilia*.

Key words: renewable energies, azo compounds, electroactive bacteria, reduction kinetics, electrochemical parameters.

ABSTRACT

The industrial use of dyes generates contaminated wastewater that causes serious environmental problems. Microbial fuel cells (MFCs) represent a sustainable alternative to treating such effluents, and the exoelectrogenic capacity of the microorganisms involved is a crucial factor to consider. In the present work, at the flask level, decolorization tests of the azo dye methyl orange (NM) were carried out through the use of the bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* (SM), *Bacillus cereus* (BC), and *Chromobacterium rhizoryzae* (CR), and kinetic data of biodecolorization were obtained at concentrations of 200 to 1000 mg/L. Subsequently, the electrochemical behavior of the strains was characterized in a two-compartment MFC, and the reduction in chemical oxygen demand (COD) was monitored. The results showed that the strains employed degraded the dye efficiently (>90%) over a period of 48-72 h, and the best kinetic fit yielded maximum oxidation capacity values ranging from 0.807 to 0.998 h⁻¹. Upon reaching 120 hours of operation of the MFC, the CR treatment achieved the maximum values of voltage generation (526 mV), current density (619 mA/m²), power density (326 mW/m²), and COD removal (77%). The CR strain presents a viable electrochemical potential in the degradation of methyl orange, since the average values of the reported electrochemical parameters are 52% higher than those obtained with *Bacillus cereus* and 28% higher than those obtained with *Stenotrophomonas maltophilia*.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se producen más de 9 millones de toneladas de colorantes industriales y durante su síntesis o uso industrial se liberan al ambiente entre 10 a 25 % del total (Yoong-Sin et al. 2021), generando aguas residuales que poseen propiedades complejas que conllevan a diversos problemas ecológicos (Buscio et al. 2015). Los colorantes azo-derivados comprenden de 60 a 70 % del total de los colorantes industriales, contienen dos o tres enlaces azo con anillos de naftilo y fenilos sustituidos con grupos funcionales tales como metilo, nitro, amino, hidroxilo, sulfonato y cloro (Benkhaya et al. 2020). Este tipo de colorantes son solubles en agua, altamente polares, recalcitrantes y se caracterizan por ser compuestos mutagénicos y carcinogénicos, lo que los hace los mayores contaminantes ambientales (Hashemi y Kaykhah 2022).

Las celdas de combustible microbianas (CCM) pueden ofrecer de manera simultánea la degradación de colorantes presentes en efluentes industriales y la generación de electricidad, a partir del metabolismo de microorganismos electroactivos (Logan et al. 2015). Actualmente, el uso industrial de las CCM es aún un reto y, por lo tanto, se continúa contribuyendo sobre el diseño y los materiales de construcción, la identificación y caracterización de microorganismos exoelectrogénicos, sobre el estudio de los mecanismos de transferencia de electrones y sobre la diversificación de aplicaciones (Prathiba et al. 2022).

Con respecto a los microorganismos de uso común en las CCM, *Geobacter* y *Shewanella* son los de mayor estudio (Prathiba et al. 2022); pero también destacan los géneros *Desulfovibrio*, *Trichococcus* (Guo et al. 2014), *Stenotrophomonas* (Galai et al. 2015) y especies tales como *Pseudomonas monteilii*, *Bacillus pumilus*, *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus lactis* (Tacas et al. 2021) y *Pseudomonas gessardii* (Agrahari et al. 2024).

Sin duda alguna, la investigación sobre nuevas propuestas de microorganismos electroactivos sigue en pie, como se discute en las revisiones de Khan y Borah (2024), Kumaravel y Shanmugam (2024) y Singh et al. (2024). *Chromobacterium* representa un género bacteriano poco estudiado en biorremediación (Carepo et al. 2004, Prabhakaran et al. 2018), pero ya se encuentra un estudio en la literatura sobre la capacidad exoelectrogénica de *Chromobacterium rhizoryzae* (CR) a nivel matraz (Fosados et al. 2020), lo cual sugiere su posible aplicación en una CCM.

Por todo lo anterior, en el presente trabajo se tuvo como objetivo determinar las cinéticas de biodecoloración del naranja de metilo (NM) a nivel matraz y evaluar la capacidad de generación de voltaje y la remoción de la demanda química de oxígeno por *Chromobacterium rhizoryzae* en una celda de combustible microbiana, comparando los resultados con bacterias decolorantes como *Stenotrophomonas maltophilia* (SM) y *Bacillus cereus* (BC).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se trabajó con CR aislada de una planta de tratamiento de lodos residuales (Fosados et al. 2020) con SM aislada a partir de un suelo contaminado con hidrocarburos (Reyes et al. 2016) y con BC aislada de un estero contaminado con hidrocarburos (Vázquez 2021).

Ensayos de decoloración del naranja de metilo

En el grupo de trabajo, ya se habían reportado los porcentajes de decoloración del NM utilizando CR en comparación con la levadura *Candida tropicalis* (Fosados et al. 2020). Los ensayos realizados en tal reporte se llevaron a cabo en matraces de 250 mL, con un volumen de trabajo de 100 mL, colocados en una incubadora orbital a 150 rpm. Se adicionó NM (a partir de una solución madre concentrada) a los cultivos que se encontraban a una densidad óptica de 0.8; las concentraciones para cada lote fueron de 200, 400, 600, 800 y 1000 mg/L. Para el seguimiento de la decoloración, se tomó una alícuota de 5 mL cada 24 h durante 4 días, se centrifugó a 3500 rpm, se recuperó el sobrenadante y se tomaron lecturas en un espectrofotómetro UV-Vis (Unico 1000) a 465 nm. Los datos de dichos ensayos se retomaron para la presente investigación y siguiendo las mismas condiciones experimentales se amplió el estudio a la comparación con las cepas de SM y BC, y para la obtención de datos cinéticos novedosos para las tres cepas.

El porcentaje de decoloración (% D) se determinó mediante la expresión $\% D = (C_1 - C_2 / C_1) (100)$, donde C_1 es la concentración de NM (mg/L) al inicio de cada ensayo y C_2 la concentración al tiempo de la toma de muestra (concentración final). Posteriormente, se calcularon las constantes de velocidad de degradación del colorante mediante el uso de modelos cinéticos y se evaluó la confiabilidad de cada modelo mediante una regresión lineal y cálculo del coeficiente de determinación (R^2). El modelo de reacción de orden cero se expresó en su forma lineal como $C_t = C_0 - k_0 \times t$; el de primer orden como $\ln C_t = \ln C_0 - k_1 \times t$; el de segundo orden como $1/C_t = 1/C_0 + k_2 \times t$ (Sidney et al. 2019) y un modelo propuesto por Behnajady et al. (2007) se expresó como $t/1 - (C_t/C_0) = m + b \times t$, donde C_t es la concentración del colorante en algún tiempo dado, C_0 es la concentración inicial, t es el tiempo, k_0 , k_1 y k_2 son las constantes de velocidad cinética aparente, m es la constante relacionada con la velocidad inicial de la reacción y b es la capacidad de oxidación máxima, la cual para

el presente trabajo se considera como la capacidad de reducción máxima.

Características de la celda de combustible microbiana

Se utilizó una CCM comercial con un volumen total de 100 mL (INNOVA Investigación, S.A. de C.V.) de doble compartimento, fabricada de vidrio con tapa de teflón adaptada para insertar los electrodos y hacer la toma de muestras. El ánodo fue de carbono vidrioso de 4.2 mm de diámetro y 6.23 cm de largo, para un área de contacto total de 8.49 cm². El cátodo fue un cable de platino en espiral con un diámetro de 3.4 mm y 7.83 cm de largo, para un área de contacto total de 8.54 cm². La celda contó con una cámara de electrodo auxiliar la que permitió separar la parte anódica de la catódica por una frita de cerámica con un disco nanoporoso de Al₂O₃ de 0.5 mm de espesor, que se mantuvo con una solución a pH 6.7, compuesta por acetato de sodio (90.7 g/L), cloruro de amonio (18.7 g/L), cloruro de potasio (148.1 g/L), fosfato dipotásico (64.0 g/L) y fosfato de potasio monobásico (40.7 g/L).

Operación de la celda de combustible microbiana

Se establecieron cuatro tratamientos experimentales: los primeros tres incluyeron individualmente cada microorganismo y el último un testigo estéril. Los medios de cultivo previamente esterilizados (50 g/L glucosa y 10 g/L peptona), se inocularon e incubaron a 120 rpm durante 24 h a 30 °C hasta alcanzar una densidad óptica de 0.8. Posteriormente, se alimentaron a la celda y se dejó en funcionamiento durante tres días para asegurar la formación de una biopelícula en el ánodo. A las 72 h, se adicionó NM a una concentración de 1000 mg/L. La selección de una concentración alta de NM para los estudios en la CCM se fundamentó en los resultados obtenidos en las cinéticas de biodecoloración a nivel matraz y también por el hecho de comparar resultados con otros autores, quienes han determinado cinéticas en concentraciones de hasta 1000 mg/L (Cai et al. 2012) y a nivel de CCM trabajos con 800 mg/L (Guo et al. 2014). Las mediciones de generación de voltaje se realizaron cada 12 h utilizando un multímetro industrial, conectando las puntas de prueba directamente al ánodo y cátodo a través de pinzas caimán. La densidad de corriente fue calculada con base en la expresión: $I_A = V/RA$, donde V es el voltaje expresado en volts (V), R es la resistencia externa (1 kΩ) y A es el área de contacto del ánodo. La densidad de potencia se obtuvo con la expresión $P_A = V^2/RA$ (Guo et al. 2014). Para la determinación de la DQO

se siguió el proceso indicado en la norma NMX-AA-030/2-SCFI-2011 (SCFI 2011).

Análisis estadístico

Todos los experimentos a nivel matraz y en la CCM se llevaron a cabo por triplicado. Se verificó las medias y la desviación estándar de los tratamientos y sus réplicas. Asimismo, se llevó a cabo un análisis de varianza y una prueba post hoc (Tukey) mediante el uso del programa estadístico R© versión 3.1.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Decoloración del naranja de metilo

En la **figura 1** se muestran los resultados de la decoloración del NM a nivel matraz. Todas las cepas en todos los niveles de concentración incrementaron el % D a mayor tiempo del ensayo. El tratamiento testigo en las pruebas indicó 11 % de decoloración abiótica al término de cada ensayo (96 h), lo que demuestra que el resto de la decoloración del naranja

de metilo corresponde a la actividad de los microorganismos en estudio. Este resultado concuerda con el reporte de Pandey et al. (2024) quienes en sus testigos abióticos presentan porcentajes de decoloración entre 30 y 35 % a 120 h de ensayo. Autores como Wen et al. (2024) reportan que las condiciones abióticas en sus experimentos no promovieron un efecto decolorante significativo.

En las primeras horas de los ensayos y en cualquier concentración de NM, no se observó una tendencia específica de los microorganismos hacia la degradación del colorante; por ejemplo, en las primeras 24 h a 200 mg/L de NM, *Bacillus cereus* presentó el % D significativamente más bajo ($p < 0.05$); mientras que a 800 mg/L lo fue *Stenotrophomonas maltophilia*. A las 72 h de incubación, las diferencias en % D entre las cepas tienden a disminuir, de tal modo que a las 96 h no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$). De forma general, CR degrada el colorante ($> 90\%$) en todas las concentraciones en un lapso de 48 h; mientras que SM y BC lo hacen hasta las 72 h. Es importante notar que al aumentar la concentración del NM no hubo

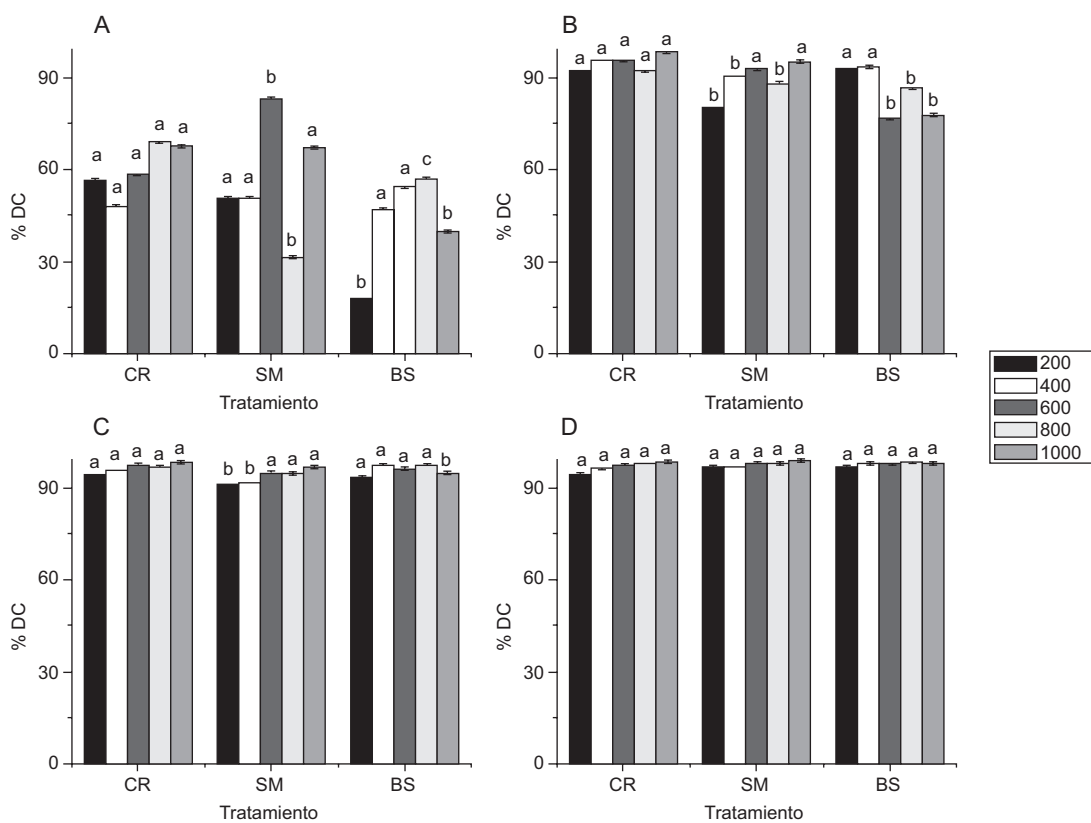


Fig. 1. Porcentajes de decoloración (% DC) de naranja de metilo (200-1000 mg/L) a las 24 (A), 48 (B), 72 (C) y 96 h (D). (CR) *Chromobacterium rhizoryzae*, (SM) *Stenotrophomonas maltophilia* y (BC) *Bacillus cereus*. a-c indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las cepas de estudio para cada concentración del colorante.

efectos negativos en los resultados de decolorización, contrario a reportes de Parshetti et al. (2010) y Shah et al. (2013) quienes observaron que concentraciones altas de colorante inhibían el crecimiento de las células.

En reportes previos de biodecolorización con las especies BC, SM y CR, Wanyonyi et al. (2017 y 2019) obtuvieron un extracto crudo de proteasas de *Bacillus cereus* KM201428 y lo utilizaron en la biotransformación de verde de malaquita y reactivo negro cinco. Galai et al. (2011 y 2013), estudiaron el aislamiento, purificación y clonación de una lacasa responsable de la decolorización de colorantes azo a partir de una cepa de *Stenotrophomonas maltophilia*. Fosados et al. (2020), reportaron la actividad decolorante de *Chromobacterium rhizoryzae* en ensayos con NM, resultados que se retomaron y ampliaron en la presente investigación.

El **cuadro I** muestra los resultados del análisis cinético de cada tratamiento y el R² indicó que los datos se ajustaron significativamente mejor (p < 0.05) al modelo propuesto por Behnajady et al. (2007). Jamee y Siddique (2019) sugieren que las reacciones de decoloración se ajustan mejor a un modelo de primer orden, aunque otros autores han ajustado a modelos de cero y segundo orden (Field y Brady 2003, Sponza e Isik 2004). Para el caso de CR, BC

y SM, el aumento en la concentración de NM hasta 1000 mg/L prácticamente no promovió cambios en el comportamiento cinético; sólo hubo excepciones en donde el mejor ajuste se dio con el modelo de primer orden (BC 600 y 1000 mg/L, SM 200 y 800 mg/L). Son pocas las publicaciones de biodecoloración que aportan datos cinéticos para comparación; por ejemplo, Njiki et al. (2020) reportaron un mejor ajuste al modelo cinético de pseudo-primer orden con valores de k₁ de 0.027 y 0.044 h⁻¹ para la biodegradación de café Bismark y cristal violeta, respectivamente. Ruscaso et al. (2021) reportaron valores de k₀, k₁ y k₂ de 2.0715 mg/L/h, 0.0548 h⁻¹ y 0.0019 L/mg/h respectivamente, en un ensayo de biodegradación del colorante reactivo naranja 16 con la cepa *Candida sake* 41E. Los datos cinéticos de la biorremediación de colorantes textiles permiten evaluar el efecto que tienen los parámetros de operación, tales como el pH, tiempo de residencia, concentración de biomasa, concentración inicial del colorante y agitación (Mahmoud et al. 2017), con la finalidad de establecer protocolos de trabajo eficientes en tiempo y costos.

Caracterización electroquímica

Los colorantes azo-derivados poseen al menos un grupo azo (-N=N-) que actúa como cromóforo

CUADRO I. DATOS CINÉTICOS DE LA REACCIÓN DE DECOLORACIÓN CON *Chromobacterium rhizoryzae* (CR), *Stenotrophomonas maltophilia* (SM) Y *Bacillus cereus* (BC).

NM	MO	BMG		Orden cero		Primer orden		Segundo orden	
		b	R ²	k ₀	R ²	k ₁	R ²	k ₂	R ²
200	CR	0.998	0.97 ^a	1.86	0.74 ^b	0.032	0.86 ^c	0.001	0.91 ^d
	SM	0.958	0.94 ^a	1.95	0.86 ^b	0.036	0.99 ^c	0.001	0.76 ^d
	BC	0.920	0.91 ^a	2.27	0.81 ^b	0.046	0.91 ^a	0.003	0.70 ^c
400	CR	0.922	0.92 ^a	1.99	0.78 ^b	0.037	0.81 ^c	0.001	0.82 ^c
	SM	0.934	0.93 ^a	1.95	0.80 ^b	0.036	0.94 ^a	0.001	0.82 ^b
	BC	0.922	0.92 ^a	2.05	0.79 ^b	0.045	0.85 ^c	0.002	0.93 ^a
600	CR	0.947	0.96 ^a	1.93	0.75 ^b	0.042	0.87 ^c	0.002	0.90 ^d
	SM	0.987	0.92 ^a	1.72	0.62 ^b	0.037	0.92 ^a	0.002	0.84 ^c
	BC	0.952	0.94 ^a	1.96	0.86 ^b	0.040	0.98 ^c	0.002	0.79 ^d
800	CR	0.983	0.98 ^a	1.85	0.72 ^b	0.041	0.95 ^c	0.002	0.93 ^c
	SM	0.807	0.68 ^a	2.17	0.86 ^b	0.047	0.97 ^c	0.003	0.69 ^a
	BC	0.946	0.96 ^a	1.97	0.81 ^b	0.045	0.97 ^a	0.002	0.73 ^c
1000	CR	0.969	0.98 ^a	1.89	0.71 ^b	0.047	0.81 ^c	0.003	0.81 ^c
	SM	0.970	0.98 ^a	1.89	0.72 ^b	0.046	0.95 ^b	0.004	0.82 ^c
	BC	0.883	0.84 ^a	2.08	0.90 ^b	0.042	0.97 ^c	0.002	0.77 ^d

NM: Concentración de naranja de metilo (mg/L). MO: Cepa en estudio. R²: coeficiente de determinación. Constantes de velocidad: b (h⁻¹), k₀ (mg/L/h), k₁ (h⁻¹) y k₂ (L/mg/h). ^{a-d} indican diferencias estadísticas significativas (p < 0.05) de los coeficientes de determinación entre las cepas en estudio para cada concentración del colorante.

(Cui et al. 2021). Para la decoloración extracelular, se requiere el rompimiento de los enlaces azo con la ayuda de enzimas (p. ej. azorreductasas y lacasas) o bien, a través de moléculas donadoras de electrones (Brüschweiler y Merlot 2017). Algunos colorantes azo son considerados mediadores electrónicos (Khalili et al. 2017) y se han propuesto como indicadores de actividad exoelectrogénica (Xiao et al. 2017).

La actividad electrogénica de cada cepa dentro de la CCM se monitoreó durante siete días. Como se puede observar en la **figura 2**, los tratamientos con los microorganismos mostraron actividad electrogénica importante desde las 72 horas (tiempo de adición del NM) hasta las 120 horas; posterior a este período la actividad decae significativamente ($p < 0.05$).

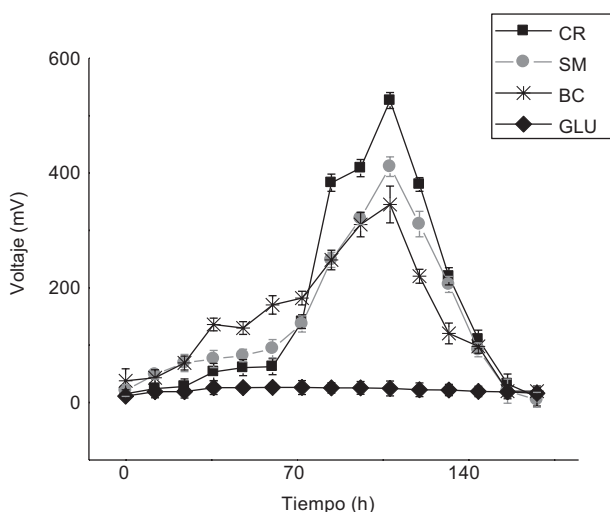


Fig. 2. Generación de energía en la celda de combustible microbiana. CR, *Chromobacterium rhizoryzae*, SM, *Stenotrophomonas maltophilia*, BC, *Bacillus cereus* y GLU, Glucosa.

La adición de NM en la CCM promovió un aumento en la generación de voltaje en presencia de glucosa en el medio (cosustrato), y como lo demostraron Guo et al. (2014) mediante un análisis de espectroscopía de impedancia electroquímica, este comportamiento se debe a que el NM actúa disminuyendo la resistencia interfacial de transferencia de electrones del ánodo y por tanto se concluye que el NM y sus productos de decoloración pueden servir como mediadores redox.

Se ha propuesto que la degradación biológica de los colorantes azo puede llevarse a cabo de manera secuencial o simultánea. En el presente trabajo no se controló ni se determinó la concentración de oxígeno disuelto residual a través del tiempo, por lo que se propone que la reducción del NM se llevó a cabo de manera simultánea; es decir, se aprovecha la formación de micronichos anaerobios y aerobios para lograr la efectiva degradación del NM (Stolz 2001, Pandey et al. 2007).

El tratamiento con CR alcanzó 526 mV a las 108 h de operación de la CCM. Wang et al. (2019) demostraron que cuando se adicionó azul 19 (50 mg/L), el voltaje se incrementó de 50 a 420 mV, comportamiento similar al del presente trabajo. En la literatura especializada se han reportado voltajes que van desde 400 a 790 mV con el uso de diversos sustratos (Bond y Lovley 2003, Min et al. 2005, Wen et al. 2010, Lin et al. 2015 y Rajeswari et al. 2016). Por su parte, Mateo et al. (2019) reportaron que no son deseables los voltajes en el rango de 200-300 mV, mientras que valores entre 400-500 mV son aceptables, por lo que los resultados obtenidos aquí se consideran prometedores.

Los parámetros electroquímicos calculados se muestran en el **cuadro II**. Significativamente ($p < 0.05$) el más alto valor de densidad de carga fue de 619 mA/m² y de densidad de potencia de 326 mW/m², registrados para la cepa CR. No se presentaron

CUADRO II. PARÁMETROS ELECTROQUÍMICOS A LAS 108 h DE TRATAMIENTO EN LA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA.

Tratamiento	Parámetros electroquímicos				
	V (V)	I (A)	P (W)	I _A (A/m ²)	P _A (W/m ²)
CR	0.526 ^a	0.000526 ^a	0.0002770 ^a	0.619 ^a	0.3260 ^a
SM	0.411 ^b	0.000411 ^b	0.0001690 ^b	0.484 ^b	0.1990 ^b
BC	0.345 ^b	0.000345 ^b	0.0001190 ^b	0.406 ^b	0.1400 ^b
GLU	0.024 ^c	0.000024 ^c	0.0000006 ^c	0.028 ^c	0.0007 ^c

CR, *Chromobacterium rhizoryzae*, SM, *Stenotrophomonas maltophilia*, BC, *Bacillus cereus* y GLU, Glucosa. ^{a-c} indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre las cepas en estudio para cada parámetro electroquímico analizado.

diferencias significativas entre las cepas BC y SM. Los valores observados para CR son comparables a los reportados por Guo et al. (2014), quienes en la decoloración del NM reportan valores máximos de densidad de potencia de 273 a 406 mW/m². Para otros colorantes azoicos como el naranja ácido 7 (Fernando et al. 2014), rojo congo (Hou et al. 2019) y negro ácido 10B (Yeruva et al. 2018), los valores obtenidos de densidad de potencia fueron de 51.9, 213 y 6.2 mW/m², respectivamente. De acuerdo con Hu et al. (2018), el nivel de densidad de potencia que libera una CCM es el parámetro de funcionamiento clave para su uso como una unidad de generación de energía. Logan (2009) propone que en un futuro cercano las CCM serán usadas como fuentes de energía práctica, ya que los valores de densidad de potencia se siguen incrementado conforme a las nuevas investigaciones.

En la actualidad, las CCM representan una opción más para el tratamiento de contaminantes que una opción viable para proveer energía eléctrica (Fornero et al. 2010). Sin embargo, la continuidad en las investigaciones puede ayudar a superar las limitaciones, por ejemplo, a través de contribuciones importantes en temas como el uso de nuevos materiales avanzados en los electrodos y la comprensión más profunda de los mecanismos de transferencia de electrones (Slate et al. 2019).

Aunque en el presente trabajo no fue un objetivo el obtener el mayor voltaje y densidad de potencia, los resultados reportados de la actividad que presentó CR son novedosos e interesantes, ya que no hay trabajos reportados en literatura para esta especie ni para el género como tal. Para el caso de estudios relacionados con SM y BC, se tienen los reportes de Galai et al. (2015) quienes lograron obtener hasta 595 mV utilizando una cepa de *Stenotrophomonas* sp. en una CCM de cámara simple con un efluente textil marino enriquecido con el colorante azoico negro reactivo 5 y utilizando como cosustrato glucosa. Krithika et al. (2021) en una CCM de doble cámara generaron hasta 673 mV, a partir de colorantes azoicos y glucosa como cosustrato, utilizando un consorcio bacteriano ligninolítico que incluía a la cepa *B. cereus* MT974232.

Disminución de la DQO

En el **cuadro III**, se presentan los resultados de la determinación de la DQO al tiempo inicial (0 h), al tiempo de adición del NM (72 h) y al tiempo final del uso de la CCM (168 h). Como se puede observar, el medio de cultivo constituido por peptona y dextrosa, presentó un valor de DQO promedio general de los tres tratamientos de 21.83 g O₂/L. Al adicionar el NM

CUADRO III. RESULTADOS DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO) EN LA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA.

Tratamiento	DQO (g de O ₂ /L)			% DQO
	MC	MCNM ₀	MCNM _F	
CR	21.18	27.32	6.25	77 ^a
SM	24.69	29.07	12.10	58 ^b
BC	19.64	25.34	8.52	66 ^c

MC, Medio de cultivo, MCNM₀, Medio de cultivo adicionado de naranja de metilo al tiempo 0, MCNM_F, Medio de cultivo a las 168 h, % DQO, porcentaje de disminución de la DQO, CR, *Chromobacterium rhizoryzae*, SM, *Stenotrophomonas maltophilia* y BC, *Bacillus cereus*. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) en los porcentajes de disminución de la DQO entre las cepas en estudio.

en el medio, la concentración de la DQO promedio se incrementó hasta un valor promedio de 27.24 g O₂/L y de este valor, la DQO disminuyó 77, 66 y 50 % al final del ensayo por la acción de las cepas CR, BC y SM, respectivamente. *Chromobacterium rhizoryzae* fue la bacteria que significativamente ($p < 0.05$) presentó los mejores resultados. En trabajos similares, Páez et al. (2019) reportaron una DQO inicial de 23.2 g O₂/L para un agua residual sintética adicionada de azul de metileno y la reducción de la DQO varió entre 3 y 11 %. Otros autores han demostrado también como disminuye la DQO en procesos de degradación de colorantes azoicos utilizando dextrosa como cosustrato (González-Gutiérrez y Escamilla-Silva 2009, Patel et al. 2021). La decoloración de agua residual va acompañada del decremento en la DQO, lo cual puede ser indicativo del grado de mineralización de los colorantes (Chaudhari et al. 2013). Por tal motivo, los resultados mostrados se consideran importantes, ya que en especial la cepa CR, presentó los valores más altos de degradación del NM y de reducción de la DQO.

CONCLUSIONES

El presente trabajo evidenció que *Chromobacterium rhizoryzae* presentó valores de degradación de naranja de metilo cercanos al 100 % en todas las concentraciones de estudio y los resultados se ajustaron perfectamente al modelo cinético BMG. En cuanto al ensayo en la celda de combustible microbiana para la degradación de naranja de metilo a 1000 mg/L, la disminución de la DQO fue de 80 %, la producción de densidad de corriente de 619 mA/m² y la

densidad de potencia de 326 mW/m². Se concluye que *Chromobacterium rhizoryzae* representa una opción viable para el tratamiento de efluentes con presencia de colorantes azo derivados, que tiene capacidad electroactiva, pero que se requiere de estudios más específicos para entender su desempeño electrogénico en la celda de combustible microbiana.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento del proyecto a través de la beca 8306.20-PD.

REFERENCIAS

- Agrahari R., Karmakar S. y Rani R. (2024). Bioelectricity generation and anodic decolorization of reactive dyes in H-type microbial fuel cell using *Pseudomonas gessardii*. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology* 6, 216-222. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2024.06.003>
- Behnajady M., Modirshahla N. y Ghanbary F. (2007). A kinetic model for the decolorization of C.I. Acid Yellow 23 by Fenton process. *Journal of Hazardous Materials* 148, 98-102. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.02.003>
- Benkhaya S., M'Rabet S. y El Harfi A. (2020). Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon* 6, e03271. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03271>
- Bond D. y Lovley D. (2003). Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 1548-1555. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.3.1548-1555.2003>
- Brüschweiler B.J. y Merlot C. (2017). Azo dyes in clothing textiles can be cleaved into a series of mutagenic aromatic amines which are not regulated yet. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 88 (Supplement C), 214-226. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.06.012>
- Buscio V., Marín M., Crespi M. y Gutiérrez-Bouzán C. (2015). Reuse of textile wastewater after homogenization-decantation treatment coupled to PVDF ultrafiltration membranes. *Chemical Engineering Journal* 265, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.12.057>
- Cai P.J., Xiao X., He Y.R., Li W.W., Chu J., Wu C., He M.X., Zhang Z., Sheng G.P., Lam M.H., Xu F. y Yu H.Q. (2012). Anaerobic biodecolorization mechanism of methyl orange by *Shewanella oneidensis* MR-1. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93, 1769-1776. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3508-8>
- Carepo M., Azevedo J., Porto J., Bentes-Sousa A., Batista J., Silva A. y Schneider M. (2004). Identification of *Chromobacterium violaceum* genes with potential biotechnological applications in environmental detoxification. *Genetics and Molecular Research* 3, 181-194.
- Chaudhari A., Tapase S., Markad V. y Kodam K. (2013). Simultaneous decolorization of reactive Orange M2R dye and reduction of chromate by *Lysinibacillus* sp. KMK-A. *Journal of Hazardous Materials*, 262, 580-588. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.09.006>
- Cui, M., Liu W., Tang Z. y Cui D. (2021). Recent advancements in azo dye decolorization in bio-electrochemical systems (BESs): Insights into decolorization mechanism and practical application. *Water Research* 203, 117512. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117512>
- Fernando E., Keshavarz T. y Kyazze G. (2014). Complete degradation of the azo dye Acid Orange-7 and bioelectricity generation in an integrated microbial fuel cell, aerobic two-stage bioreactor system in continuous flow mode at ambient temperature. *Bioresource Technology* 156, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.036>
- Field J. y Brady J. (2003). Riboflavin as redox mediator accelerating the reduction of the azo dye Mordant Yellow 10 by anaerobic granular sludge. *Water Science and Technology* 48, 187-193.
- Fornero J.J., Rosenbaum M. y Largus T. (2010). Electric power generation from municipal, food, and animal wastewaters using microbial fuel cells. *Electroanalysis* 22, 832-843. <https://doi.org/10.1002/elan.200980011>
- Fosados C., Cruz A., Pérez M.A. y Chaires L. (2020). Determinación de la capacidad exoelectrogénica de *Candida tropicalis* y *Chromobacterium rhizoryzae*. *Journal Coloquio de Investigación Multidisciplinaria* 8, 1589-1595.
- Galai S., Lucas-Elio P., Marzouki M. y Sanchez-Amat A. (2011). Molecular cloning of a copper-dependent laccase from the dye-decolorizing strain *Stenotrophomonas maltophilia* AAP56. *Journal of Applied Microbiology* 111, 1394-1405. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05164.x>
- Galai S., Korri-Youssoufi H. y Marzouki M. (2013). Characterization of yellow bacterial laccase SmLac/role of redox mediators in azo dye decolorization. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 89, 1741-1750. <https://doi.org/10.1002/jctb.4254>
- Galai S., Pérez de los Ríos A., Hernández-Fernández F., Kacem S., Ramírez F. y Quesada-Medina J. (2015). Microbial fuel cell application for azoic dye decolorization with simultaneous bioenergy production using *Stenotrophomonas* sp. *Chemical Engineering and Technology* 38, 1511-1518. <https://doi.org/10.1002/ceat.201400608>

- González-Gutiérrez, L.V. y Escamilla-Silva, E.M. (2009). Reactive red azo dye degradation in a UASB bioreactor: Mechanism and kinetics. *Engineering Life Sciences* 9, 311-316. <https://doi.org/10.1002/elsc.200900036>
- Guo W., Feng J., Song H. y Sun J. (2014). Simultaneous bioelectricity generation and decolorization of methyl orange in a two-chambered microbial fuel cell and bacterial diversity. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 11531-11540. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3071-9>
- Hashemi S.H. y Kaykhaii M. (2022). Azo dyes: sources, occurrence, toxicity, sampling, analysis, and their removal methods. En: *Emerging Freshwater Pollutants*. (T. Dalu y N.T. Tavengwa, Eds.) Elsevier, Nueva York, EUA. pp. 267-287. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822850-0.00013-2>
- Hou B., Lu J., Wang H., Li Y., Liu P., Liu Y. y Chen J. (2019). Performance of microbial fuel cells based on the operational parameters of biocathode during simultaneous Congo red decolorization and electricity generation. *Bioelectrochemistry* 128, 291-297. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.04.019>
- Hu J., Zhang Q., Lee D. y Ngo H. (2018). Feasible use of microbial fuel cells for pollution treatment. *Renewable Energy* 129, 824-829. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.02.001>
- Jamee R. y Siddique R. (2019). Biodegradation of synthetic dyes of textile effluent by microorganisms: an environmentally and economically sustainable approach. *European Journal of Microbiology and Immunology* 9, 114-118. <https://doi.org/10.1556/1886.2019.00018>
- Khalili H., Mohebbi-Kalhor D. y Afarani M.S. (2017). Microbial fuel cell (MFC) using commercially available unglazed ceramic wares: low-cost ceramic separators suitable for scale-up. *International Journal of Hydrogen Energy* 42 (12), 8233-8241. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.02.095>
- Khan S. y Borah D. (2024). Microbial cell factories in the degradation of azo-dye and their limiting factors: An insight. *Cleaner Water* 2, 100034. <https://doi.org/10.1016/j.clwat.2024.100034>
- Krithika T., Kavitha R., Dinesh M. y Angayarkanni J. (2021). Assessment of ligninolytic bacterial consortium for the degradation of azo dye with electricity generation in a dual-chambered microbial fuel cell. *Environmental Challenges* 4, 100093. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100093>
- Kumaravel R. y Shanmugam V.K. (2024). Biomimetic and ecological perspective towards decolorization of industrial important Azo dyes using bacterial cultures-A review. *Sustainable Chemistry for the Environment* 7, 100130. <https://doi.org/10.1016/j.scenv.2024.100130>
- Lin C., Wu C., Huang W. y Tsai S. (2015). Evaluation of different cell-immobilization strategies for simultaneous distillery wastewater treatment and electricity generation in microbial fuel cells. *Fuel* 144, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.12.009>
- Logan B. (2009). Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology* 7, 375-381.
- Logan B., Wallack M., Kim K., He W., Feng Y. y Saikaly P. (2015). Assessment of microbial fuel cell configurations and power densities. *Environmental Science and Technology Letters* 2, 206-214. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.5b00180>
- Mateo S., Cañizares P., Rodrigo M. y Fernández-Morales F. (2019). Reproducibility and robustness of microbial fuel cells technology. *Journal of Power Sources* 412, 640-647. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.12.007>
- Mahmoud M.S., Mostafa M.K., Mohamed S.A., Sobhy N.A. y Nasr M. (2017). Bioremediation of red azo dye from aqueous solutions by *Aspergillus niger* strain isolated from textile wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 5, 547-554. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.030>
- Min B., Cheng S. y Logan B. (2005). Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Research* 39, 1675-1686. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.02.002>
- Njiki A., Kamgang-Youbi G., Nola M. y Laminsi S. (2020). Biodegradation kinetic studies and optimization for the elimination of azoic and triphenylmethane dyes using an integrated process combining biological treatment and gliding arc plasma. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 96, 273-282. <https://doi.org/10.1002/jctb.6539>
- Páez A., Lache-Muñoz A., Medina S. y Zapata J. (2019). Electric power production in a microbial fuel cell using *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, synthetic wastewater as substrate, carbon cloth and graphite as electrodes, and methylene blue as mediator. Laboratory scale. *Tecnología y Ciencias del Agua* 10, 261-282. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2019-06-11>
- Pandey A., Pathak V.M., Navneet y Rajput M. (2024). A feasible approach for azo-dye (methyl orange) degradation by textile effluent isolate *Serratia marcescens* ED1 strain for water sustainability: AST identification, degradation optimization and pathway hypothesis. *Heliyon* 10, e32339. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32339>
- Pandey A., Singh P. e Iyengar L. (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration and Biodegradation* 59, 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.08.006>

- Parshetti G., Telke A., Kalyani D. y Govindwar S. (2010). Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye methyl orange by *Kocuria rosea* MTCC 1532. *Journal of Hazardous Materials* 176, 503-509. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.058>
- Patel D., Bapodra S., Madamwar D. y Desai C. (2021). Electroactive bacterial community augmentation enhances the performance of a pilot scale constructed wetland microbial fuel cell for treatment of textile dye wastewater. *Bioresource Technology* 332, 125088. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125088>
- Prabhakaran D., Krishnan S., Ramamurthy PC., Sivry Y., Quantin C. y Subramanian S. (2018). Utility of *Chromobacterium violaceum* SUK1a, an indigenous bacterial isolate for the bioremediation of Cr (VI). *Physicochemical Problems of Mineral Processing* 54, 1266-1281.
- Prathiba S., Senthil Kumar P. y Dai-Viet N. (2022). Recent advancements in microbial fuel cells: A review on its electron transfer mechanisms, microbial community, types of substrates and design for bio-electrochemical treatment. *Chemosphere* 286, 131856. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131856>
- Rajeswari S., Vidhya S., Krishnaraj R., Saravanan P., Sundarapandiyan S., Maruthamuthu S., Ponmariappan S. y Vijayan M. (2016). Utilization of soak liquor in microbial fuel cell. *Fuel* 181, 148-156. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.04.121>
- Reyes S., Jiménez H., Pérez M. y Chaires L. (2016). Remoción de cromo (VI) en una columna de burbujeo utilizando *Candida tropicalis*. *Journal Coloquio de Investigación Multidisciplinaria* 4, 598-604.
- Ruscasso F., Cavello I., Butler M., Lopez Loveira E., Curutchet G. y Cavalitto S. (2021). Biodegradation and detoxification of reactive orange 16 by *Candida sake* 41E. *Bioresource Technology Reports* 15, 100726. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100726>
- SCFI (2011). Norma Mexicana NMX-AA-030/2-SCFI-2011. Análisis de agua-Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y tratadas-método de prueba-Parte 2-Determinación del índice de la demanda química de oxígeno-Método de tubo sellado. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Diario Oficial de la Federación, México. 27 de junio de 2013.
- Shah M., Patel K. y Darji A. (2013). Microbial degradation and decolorization of methyl orange dye by an application of *Pseudomonas* spp. ETL-1982. *International Journal of Environmental Bioremediation and Biodegradation* 1, 26-36.
- Sidney C., Nicodemos M., Vieira C. y Aguiar A. (2019). Kinetic evaluation of dye decolorization by Fenton processes in the presence of 3-hydroxyanthranilic acid. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16, 1602. <https://doi.org/10.3390/ijerph16091602>
- Singh G., Vinayak A., Mudgal G. y Kesari K. (2024). Azo dye bioremediation: An interdisciplinary path to sustainable fashion. *Environmental Technology and Innovation* 36, 103832. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2024.103832>
- Slate A.J., Whitehead K.A., Brownson D. y Banks C.E. 2019. Microbial fuel cells: An overview of current technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 101, 60-81. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.09.044>
- Sponza D. e Isik M. (2004). Decolorization and inhibition kinetic of Direct Black 38 azo dye with granulated anaerobic sludge. *Enzyme and Microbial Technology* 34, 147-158. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.10.006>
- Stolz A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 56, 69-80. <https://doi.org/10.1007/s002530100686>
- Tacas A.C.J., Tsai P-W., Tayo L.L., Hsueh C-C., Yun S-Y. y Chen B-Y. (2021). Degradation and biotoxicity of azo dyes using indigenous bacteria-acclimated microbial fuel cells (MFCs). *Process Biochemistry* 102, 59-71. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.12.003>
- Vázquez K. (2021). Remoción de hidrocarburos totales mediante bacterias aisladas de la laguna Tampamachoco en Tuxpan, Veracruz. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico Superior de Álamo Temapache. Veracruz, México, 43 pp.
- Wang H., Wang Q., Li X., Wang Y., Jin P., Zheng Y., Huang J. y Li Q. (2019). Bioelectricity generation from the decolorization of reactive blue 19 by using microbial fuel cell. *Journal of Environmental Management* 248, 109310. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109310>
- Wanyonyi W., Onyari J., Shiundu P. y Mulaa F. (2017). Biodegradation and detoxification of malachite green dye using novel enzymes from *Bacillus cereus* strain KM201428: kinetic and metabolite analysis. *Energy Procedia* 119, 38-51. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.07.044>
- Wanyonyi W., Onyari J., Shiundu P. y Mulaa F. (2019). Effective biotransformation of reactive black 5 dye using crude protease from *Bacillus cereus* strain KM201428. *Energy Procedia* 157, 815-824. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.11.247>
- Wen Q., Wu Y., Zhao L. y Sun Q. (2010). Production of electricity from the treatment of continuous brewery wastewater using a microbial fuel cell. *Fuel* 89, 1381-1385. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.11.004>

- Wen X., Hou Y.N., Guo J., Liu., Ren N., Wang A.J., Wei W., Ni B.J. y Huang C. (2024). Mechanistic insight into enhanced methyl orange degradation by *Raoultella planticola*/MoS₂ biohybrid: Implication for electron transfer and microbial metabolism. *Journal of Cleaner Production* 469, 143201. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.143201>
- Xiao X., Liu Q.Y., Li T.T., Zhang F., Li W.W., Zhou X.T., Xu M.Y., LI Q., y Yu H.Q. (2017). A high-throughput dye-reducing photometric assay for evaluating microbial exoelectrogenic ability. *Bioresource Technology* 241 743-749. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.013>
- Yeruva D., Shanthi Sravan J., Butti S., Annie Modestra J. y Venkata Mohan S. (2018). Spatial variation of electrode position in bioelectrochemical treatment system: design consideration for azo dye remediation. *Bioresource Technology* 256, 374-383. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.030>
- Yoong-Sin O., Soon-An O., Li-Nge Ho., Yee-Shian W., Yoong-Ling O., Harvinder K. y Wei-Eng T. (2021). Innovative baffled microbial fuel cells for azo dye degradation: Interactive mechanisms of electron transport and degradation pathway. *Journal of Cleaner Production* 295, 126366. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126366>