



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Boca del Río
División de Estudios de Posgrado e Investigación



SECRETARIA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“CONSORCIOS MICROBIANOS COMO MÉTODO DE REMEDIACIÓN PARA
RESIDUOS DE UN SOLO USO: CASO CUBREBOCAS”**

TESIS

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA

I.A. LUZ MARÍA CAMPOS GARCÍA

DIRECTOR

DRA. MARÍA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHÁVEZ

CODIRECTOR

DRA. ISABEL ARACELI AMARO ESPEJO

ASESOR

M.C. DAVID REYNIER VALDES

ASESORA

DRA. FABIOLA LANGO REYNOSO

FEBRERO 2024

BOCA DEL RÍO, VERACRUZ, MÉXICO



Km. 12 Carretera Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver. C.P. 94290.

Tel. (229) 690 5010 ext. 113 depi_bdelrio@tecnm.mx | tecnm.mx | bdelrio.tecnm.mx



2024
AÑO DE

**Felipe Carrillo
PUERTO**

MANIFIESTO DEL PROLETARIADO
REVOLUCIONARIO Y DEFENSA
DEL MUNDO



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Número Registro: A-01405-170122

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 10:00 horas del día 08 del mes de febrero de 2024 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Consejo del Posgrado de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del ITBOCA, para examinar la Tesis de Grado titulada:

“CONSORCIOS MICROBIANOS COMO MÉTODO DE REMEDIACIÓN PARA RESIDUOS DE UN SOLO USO: CASO CUBREBOCAS”

Que presenta el (la) alumno(a):

LUZ MARÍA CAMPOS GARCÍA

Aspirante al Grado de:

Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental

Después de escuchar las opiniones sobre el documento escrito e intercambiar puntos de vista, los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes para su defensa ante el jurado correspondiente.

LA COMISIÓN REVISORA:

DRA. MARÍA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHÁVEZ

Director

DRA. ISABEL ARACELI AMARO ESPEJO

Co-Director

M.C. DAVID REYNIER VALDES

Asesor

DRA. FABIOLA LANGO REYNOSO

Asesor





Boca del Río, Ver **11/ENERO/2024**

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

**LUZ MARÍA CAMPOS GARCÍA
PASANTE DEL PROGRAMA MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL
PRESENTE**

De acuerdo con el fallo emitido por los integrantes del Comité Revisor de la **TESIS PARA OBTENCIÓN DE GRADO**, desarrollada por usted cuyo título es:

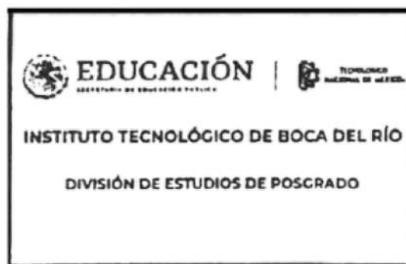
“CONSORCIOS MICROBIANOS COMO MÉTODO DE REMEDIACIÓN PARA RESIDUOS DE UN SOLO USO: CASO CUBREBOCAS”

Esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le concede **AUTORIZACIÓN** para que proceda a su impresión.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
Por nuestros mares responderemos*

**DR. JUAN DAVID GARAY MARIN
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



c.c.p. Coordinación del Programa MCIAMB
c.c.p. Expediente





Boca del Río, Ver., **11/ENERO/2024**
Asunto: **CONSTANCIA DE
NO INCONVENIENCIA**

ING. VICTOR HUGO MUÑOZ ROBLEDO
JEFE DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
Presente.

AT'N.LIC. SONIA CONCEPCIÓN SOLÍS SOLÍS
GESTOR DE TITULACIÓN
Presente.

Por medio del presente, me permito hacer constar que el(a) candidato(a) a Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental **C. LUZ MARÍA CAMPOS GARCÍA**, de la generación agosto 2021 – junio 2023 con número de control **21990859**, cumplió con todos los requisitos para su liberación como tesista, mismos que incluyen la presentación del manuscrito final de tesis autorizado por su director de tesis **DRA. MARÍA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHÁVEZ** y el envío del artículo derivado de su tesis de grado a una revista indexada.

Por lo anterior no tengo inconveniente en que realice los trámites correspondientes para el acto recepcional para la obtención del grado de Maestro en Ciencias, en la fecha y hora que defina el candidato con su Director de tesis.

Sin otro particular y para los fines legales que corresponda, quedo de usted.

A T E N T A M E N T E

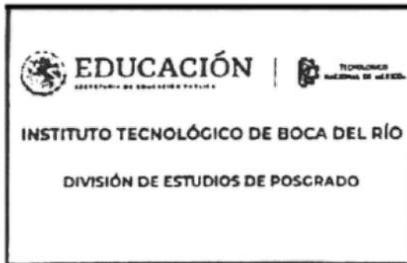
*Excelencia en Educación Tecnológica®
Por nuestros mares responderemos*

DR. JUAN DAVID GARAY MARIN
**JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIO DE
POSGRADO E INVESTIGACION**

Vo.Bo.

DRA. MARÍA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHÁVEZ
DIRECTOR DE TESIS

c.c.p. Coordinador de MCIAMB
c.c.p. Expediente





Boca del Río, Veracruz, **31/enero/2024**

Asunto: **CESION DE DERECHOS Y NO PLAGIO**

**H. CONSEJO DE POSGRADO
PROGRAMA DE POSGRADO MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA AMBIENTAL
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO/ INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO
PRESENTE**

En la Ciudad de Boca del Río, Veracruz a los **31** días del mes **enero** de **2024** . El que suscribe **Luz María Campos García** por mi propio derecho y en calidad de autor de la tesis titulada: **Consortios microbianos como método de remediación para residuos de un solo uso: Caso cubrebocas.** _ (en lo sucesivo la “TESIS”) manifiesto que cedo a título gratuito la totalidad de los derechos patrimoniales de autor que sobre ella me corresponden, a favor del Tecnológico Nacional de México (en lo sucesivo el “TecNM”). Lo anterior en términos de los antecedentes y consideraciones siguientes:

- I. Que la presente cesión de derechos de la “TESIS” se transfiere en virtud de lo estipulado en los establecido en los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México, sin reservarme acción legal de ningún tipo.
- II. Manifiesto bajo protesta de decir verdad, que la “TESIS” es original, inédita y propia, no existiendo impedimento de ninguna naturaleza para la cesión de derechos que se está haciendo, respondiendo además por cualquier acción de reivindicación, plagio u otra clase de reclamación que al respecto pudiera sobrevenir.
- III. Que la titularidad de derechos de autor de la “TESIS” en términos del artículo 27 de la Ley Federal del Derecho de Autor (reproducción, en todas sus modalidades, transformación o adaptación, comunicación pública, distribución y en general cualquier tipo de explotación que de la “TESIS” se pueda realizar por cualquier medio conocido o por conocer, son propiedad única y exclusiva del “TecNM”, adquiriendo el derecho de reproducción en todas sus modalidades, el derecho de transformación o adaptación, comunicación pública, distribución y en general cualquier tipo de uso que de la “TESIS” se pueda realizar por cualquier medio conocido o por conocer. La cesión de derechos se realiza con carácter permanente e irrevocable.
- IV. El TecNM podrá exhibir la “TESIS” a través de cualquier medio, en cualquier parte del mundo, incluso ser modificada, comprendida, traducida y de cualquier forma explotada en su totalidad o parcialidad.





- V. Que no he otorgado, ni otorgaré por ningún motivo, consentimiento alguno para la utilización de la "TESIS" por cualquier medio y su materialización en productos o servicios de cualquier naturaleza, a favor de ninguna persona física o moral, distinta a el "TecNM".
- VI. Estoy enterado del contenido y alcance legal de la presente cesión de derechos, firmando al final del presente documento para su certificación.

Señalo como correo electrónico para recibir futuras notificaciones: m21990859@bdelrio.tecnm.mx.

Agradeciendo de antemano sus atenciones, le envío un cordial saludo

ATENTAMENTE

I.A. Luz María Campos García

c.c.p. Archivo



La Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del Instituto Tecnológico de Boca del Río está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT con la referencia 005071.

La presente tesis fue financiada por el Tecnológico Nacional de México por el proyecto de investigación: "*Consortios microbianos como método de remediación para residuos de un solo uso: caso cubrebocas*". Con el número de registro: A – 01405 – 170122.

DEDICATORIAS

A Dios sobre todas las cosas...

A mi padre, José Manuel Campos Martínez, mi primo José Pablo García Márquez y mi tío Onésimo García Domínguez, que en paz descansen. Con mi tesis respeto y cumpla la promesa de defender mi vocación profesional y personal. A pesar del dolor por su irreparable pérdida fueron mi mayor fortaleza para continuar.

A mi madre Sara García Domínguez y hermano Jesús Manuel Campos García, por ser mi pilar en todo momento de debilidad, que a pesar de las dificultades han estado firmes a mi lado para cumplir nuestras metas.

A mis abuelos y familia, porque hemos pasado tiempos difíciles pero estas victorias nos mantienen firmes y unidos como un gran hogar.

A todas esas personas que se cruzaron en mi camino, que con una palabra y acción positiva lograron motivarme y a seguir mis ideales.

Veni, vidi, vici
(llegué, vi, vencí)

Julio César

AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT, agradezco su respaldo a través de la beca otorgada durante mi formación profesional mediante el programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental, registrado en el PNPC como posgrado de calidad.

Expreso mi gratitud al Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Boca del Río por la formación recibida en sus instalaciones y el respaldo brindado al proyecto de investigación titulado "Consortios microbianos como método de remediación para residuos de un solo uso: caso cubrebocas", con el número de registro A – 01405 – 170122.

Quiero agradecer a mi comité académico, al Dr. David Reynier Valdés, Dra. Isabel Araceli Amaro Espejo, en especial a la Dra. María del Refugio Castañeda Chávez, por su confianza, paciencia y apoyo continuo. Así mismo, reconocer el respaldo, orientación y motivación de la Dra. Fabiola Lango Reynoso desde mi ingreso al posgrado.

Al M.C. Christian Reyes Velásquez, agradezco sinceramente su disposición incondicional al orientarme con sus valiosos consejos y su perspicaz opinión crítica durante el desarrollo de mi trabajo de tesis.

Agradezco profundamente a la M.C. Marimar Lara Acosta y al M.C. Ángel de Jesús Isidoro Pío por su continuo asesoramiento y disposición en el laboratorio.

A la I.B.Q. Sara Luz Corona López, por su especial e importante amistad, la cual se convirtió en un importante pilar en mi vida.

Agradezco al M.C. Uriel Iván Saavedra Martínez por su sincera amistad, compañerismo y asesoramiento desde nuestro ingreso al posgrado.

A la Biol. Adriana Andrea Roldan Ubaldo y su hijo Santiago, por su incondicional amistad y compañía en tiempos difíciles.

A mis compañeros, amigos y profesores de la maestría en las generaciones agosto 2021 - enero 2023 y enero 2022 – agosto 2023, quienes formaron parte importante de mi formación académica y personal.

ÍNDICE

Contenido

I	INTRODUCCIÓN	3
II	MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL.....	5
2.1	Petróleo y su composición.....	5
2.2	El plástico.....	6
2.3	Producción de plástico	6
2.4	Plástico Polipropileno	7
2.5	Residuos	8
2.6	Clasificación de los residuos	9
2.6.1	Clasificación de los Residuos Sólidos Urbanos	10
2.7	Gestión Integral de Residuos	11
2.8	El impacto ambiental de los Residuos Sólidos Urbanos	11
2.9	Los Residuos Sólidos Urbanos durante la pandemia de Covid 19.....	13
2.9.1	Cubrebocas como producto derivado del petróleo.	15
2.9.2	Impacto ambiental de los residuos COVI-19	17
2.10	Tecnologías de tratamiento o remediación	18
2.11	Consortios microbianos y biorremediación de residuos de un sólo uso	20
2.11.1	Tipos de microorganismos	21
2.12	Aplicaciones industriales de los microorganismos	23
2.13	Bioquímica de la biodegradación de hidrocarburos por microorganismos	25
2.14	Biorreactores de Columna de Burbujeo (BCB)	26
III	ANTECEDENTES	29
IV	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	34
V	JUSTIFICACIÓN	35
VI	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	36
VII	HIPÓTESIS.....	36
VIII	OBJETIVOS.....	37
8.1	Objetivo general	37
8.2	Objetivos específicos.....	37
IX	MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
9.1	Obtención del cultivo de consorcios microbiano de reactores semilla.....	38
9.2	Recolección de muestras de sedimentos	38
9.2.1	Generación de un microcosmos previo al aislamiento y escalamiento	40
9.2.2	Mantenimiento y escalamiento de biorreactores madre.....	41

9.2.3	Evaluación del diseño	41
9.2.4	Elección de la fuente de carbono	42
9.2.5	Manejo del sustrato	42
9.2.6	Densidad del sustrato.....	43
9.2.7	Esterilización del sustrato.....	45
9.2.8	Inoculación.....	45
9.2.9	Determinación de pH.....	46
9.3	Evaluación de la biodegradación del sustrato.....	47
9.3.1	Evaluación física de la biodegradación del sustrato	48
9.4	Cinética de crecimiento del consorcio microbiano por la escala de McFarland y espectrofotometría	48
9.5	Identificación de microorganismos	50
9.5.1	Morfología macroscópica y microscópica de los microorganismos.....	51
9.5.2	Tinción de Gram.....	52
9.5.3	Prueba de Oxidasa	53
9.5.4	Prueba de Catalasa.....	54
9.6	Integración de datos.....	55
9.6.1	Datos de la biodegradación del sustrato.....	55
9.6.2	Datos de la cinética de crecimiento de los consorcios microbianos.....	55
9.6.3	Datos de la identificación microbiana	55
X	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
10.1	Elección de la fuente de carbono	56
10.2	Evaluación de la biodegradación del sustrato.....	57
10.2.1	Evaluación física de la biodegradación del sustrato	59
10.3	Cinética de crecimiento del consorcio microbiano mediante la escala de McFarland y espectrofotometría	62
10.3.1	Cinética de crecimiento del consorcio Golfo de México (BR1).....	63
10.3.2	Cinética de crecimiento del consorcio Golfo de México (BR1).....	64
10.4	Identificación bacteriana de los consorcios Puerto y Golfo de México	65
XI	CONCLUSIÓN	72
XII	REFERENCIAS.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procesos de biodegradación natural y dirigidos.....	24
Figura 2. Reacciones bioquímicas en la biodegradación de hidrocarburos.....	25
Figura 3. Biorreactor de columna de burbujeo (BCB) .	27
Figura 4. Ubicación puntos de muestreo de sedimento.	39
Figura 5. Área de muestreo (antepuerto).....	40
Figura 6. Elaboración de microcosmos del consorcio microbiano Puerto.	40
Figura 7. Mantenimiento y escalamiento en volumen de consorcios microbianos.	41
Figura 8. Tela SMS correspondiente a mascarillas de tipo tricapa.	43
Figura 9. Sustrato para cálculo de densidad.....	44
Figura 10. Inoculación de biorreactores experimentales.....	46
Figura 11. Adaptación de biorreactores de vidrio.....	46
Figura 12. Análisis del sustrato.....	48
Figura 13. Elaboración de medios selectivos.....	51
Figura 14. Pseudomonas Agar F y gram negativo.....	52
Figura 15. Elaboración de tinción de Gram.....	53
Figura 16. Elaboración de prueba Oxidasa.....	54
Figura 17. Elaboración de prueba Catalasa.....	54
Figura 18. Cubrebocas tricapa en vía pública.....	57
Figura 19. Secado y pesaje de sustrato.	58
Figura 20. Muestras de cubrebocas tricapa antes y después de la biodegradación observadas en microscopio binocular de marca OPTIKA modelo B-600B con un objetivo de 40X.	60
Figura 21. Muestras de cubrebocas tricapa antes y después de la biodegradación observadas en microscopio binocular estereoscópico de marca MICAPSA con una resolución de 4X.....	60
Figura 22. Curva de calibración experimental de la absorbancia y la densidad bacteriana.....	62
Figura 23. Cinética de crecimiento microbiano del biorreactor 1.....	63
Figura 24. Cinética del crecimiento microbiano del biorreactor 2.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Pesaje del sustrato para obtener densidad.....	44
Tabla 2. Diferencias entre bacterias.	53
Tabla 3. Valores del peso de las muestras de cubrebocas en crisoles.	57
Tabla 4. Biodegradación de cubrebocas en biorreactores con consorcio microbiano.	58
Tabla 5. Absorbancia experimental obtenida de turbidez estándar.....	62
Tabla 6. Absorbancia experimental obtenida de las muestras tomadas del biorreactor 1.....	63
Tabla 7. Absorbancia experimental obtenida de las muestras tomadas del biorreactor 2.....	64
Tabla 8. Identificación de bacterias en medios selectivos.....	68
Tabla 9. Identificación de bacterias (Catalasa, Oxidasa y Gram).....	70

ÍNDICE DE ECUACIONES

Formula (1) Promedio del peso de cubrebocas en probeta	44
Formula (2) Obtención de la densidad	44
Formula (3) Obtención de la cantidad de sustrato a inocular.....	44
Formula (4) Obtención de la cantidad de sustrato a inocular a escala.....	44
Formula (5) Valor por diferencia de peso expresado en gramos	47
Formula (6) Porcentaje de biodegradación	47
Formula (7) Calculo del crecimiento de microorganismos aproximada (UFC/mL)	49

NOMENCLATURA

General

BCB: Biorreactores de columna de burbujeo.

BR: Biorreactor.

FFP2: Filtering Face Piece-nivel 2 con certificado europeo.

FFP3: Filtering Face Piece-nivel 3 con certificado europeo.

KN95: Korean Filter - Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH)95%.

MP: Microplásticos.

N95: Filter - Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH)95%.

N99 Filter - Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH)99%.

PE: Polietileno.

PEAD: Polietileno de alta densidad.

PEBD: Polietileno de baja densidad.

PELBD: Polietileno lineal de baja densidad.

PET: Polietileno tereftalato.

PP: Polipropileno.

PP: Polipropileno.

PS: Poliestireno en sus formas sólida.

PS-E: Poliestireno en sus formas sólida e xpandida.

PUR: Poliuretano.

PVC: Policloruro de vinilo.

RME: Residuos de Manejo Especial.

RODs: Documentos de Registro de Decisiones por la United States Environmental Protection Agency.

RP: Residuos Peligrosos.

RSU: Residuos Sólidos Urbanos.

SARS-COV-2 (COVID-19): Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (neumonía por coronavirus2019).

SMS: Tela no-tejida tipo SMS (Spunbond / Melt-blown / Spunbond).

TST: Tela sin tejer.

Química

BaCl₂: Cloruro de bario.

BaCl₂: Cloruro de bario.

BaSO₄: Sulfato de bario.

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno.

H₂SO₄: Ácido sulfúrico.

HCl: Cloruro de hidrógeno.

K₂HPO₄: Fosfato dipotásico.

KCl: Cloruro de potasio.

MgSO₄ · 5H₂O: Sulfato de potasio hidratado.

NaNO₃: Nitrato de sodio.

pH: Potencial de Hidrógeno.

Matemáticas

D: Diámetro.

H: Altura.

Log: Logaritmo natural.

M: Masa.

R²: Coeficiente de determinación.

UFC: Densidad de bacterias aproximada.

V: Volumen.

P: Densidad.

ABSTRACT

In this study, the research results on hydrocarbonoclastic consortia are presented to assess their efficiency in the biodegradation of microplastics obtained from single-use trilayer face masks made of polypropylene. The choice of this carbon source was based on the need to address the increase in single-use waste generated during the recent SARS-CoV-2 pandemic, where the use of face masks became a mandatory protective measure. This surge created challenges in the management and final disposal of these wastes.

Two bubble column bioreactors were employed, each containing hydrocarbonoclastic consortia obtained from different sampling points—one from the Port of Veracruz and the other from the Gulf of Mexico. The degrading activity of the consortia was assessed by observing the physical appearance of the microplastic samples using a stereoscope and a microscope, as well as by measuring the weight loss of the plastic material over a 15-day period.

The results revealed that the consortium from the Gulf of Mexico exhibited a higher capacity for microplastic biodegradation, achieving a degradation of 19.98% in a mineral medium with a ratio of 90% microplastics and 10% consortium, at a pH of 6.5 with a constant supply of aeration. This consortium also demonstrated a more stable kinetic behavior during the experimental period. On the other hand, the younger consortium from the Port of Veracruz showed a lower percentage of polypropylene biodegradation, reaching 3.77%, and exhibited variable growth kinetics.

Hydrocarbonoclastic bacteria present in the consortia were identified, including *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, and *Vibrio parahaemolyticus*, among others. These results highlight the potential of hydrocarbonoclastic consortia in the biodegradation of microplastics derived from single-use face masks.

RESUMEN

En este estudio, se presentan los resultados de la investigación realizada en consorcios hidrocarbonoclastas, para evaluar su eficiencia en la biodegradación de microplásticos obtenidos de cubrebocas tricapa de un solo uso hechos de polipropileno. La elección de esta fuente de carbono, se basó en la necesidad resolver el aumento de residuos de un solo uso que se generaron durante la reciente pandemia de SARS-CoV-2, donde el uso de cubrebocas fue medida de protección obligatoria. Este incremento generó problemas en el manejo y disposición final de estos residuos.

Se utilizaron dos biorreactores de columnas de burbujeo, con dos consorcios hidrocarbonoclastas obtenidos de diferentes puntos de muestreo, uno del Puerto de Veracruz y otro del Golfo de México. La actividad degradadora de los consorcios se evaluó mediante la observación del aspecto físico de las muestras de microplásticos utilizando un estereoscopio y un microscopio, mediante la medición de la pérdida de peso del material plástico durante un período de 15 días.

Los resultados revelaron que el consorcio obtenido del Golfo de México mostró una mayor capacidad de biodegradación de los microplásticos, logrando una biodegradación del 19.98% en un medio mineral con una proporción de 90% de microplásticos y 10% de consorcio, a un pH de 6.5 y suministro constante de aireación. Este consorcio también demostró una cinética más estable durante el tiempo de experimentación. Por otro lado, el consorcio más joven el del puerto de Veracruz presentó un porcentaje de biodegradación de polipropileno menor, alcanzando el 3.77%, y mostró una cinética de crecimiento variable.

Se identificó a las bacterias hidrocarbonoclastas presentes en los consorcios, entre las cuales se encontraron *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* y *Vibrio parahaemolyticus*, entre otras. Estos resultados demuestran el potencial de los consorcios hidrocarbonoclastas en la biodegradación de microplásticos derivados de cubrebocas de un solo uso.

I INTRODUCCIÓN

La enfermedad aguda respiratoria por SARS-CoV-2 o COVID-19 se detectó por primera vez en diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan en la República Popular de China, fue declarada Pandemia por la Organización Mundial de la Salud el 12 de marzo del 2020, entre las medidas para controlar o retrasar la propagación de la infección por SARS-CoV-2 (COVID-19) la Organización Mundial de la Salud ha recomendado el lavado de manos, el uso de guantes desechables, algunos desinfectantes como cremas, geles, aerosoles y bajo cierta reserva los cubrebocas o mascarillas faciales de grado N95, el uso masivo de mascarillas desechables o lavables, que pudo reducir significativamente la cantidad de veces que una persona se tocara la cara, la nariz y la boca, con eso, se disminuía la posibilidad de infección, con cierta efectividad al proteger contra infecciones por respiración aguda.

La contaminación por los plásticos de un solo uso como los cubrebocas, es una problemática de carácter mundial y de amplia distribución geográfica, afecta a lagos, suelos, zonas freáticas, ríos y playas por procesos biológicos y físicos, que sufren estos al ser depositados sin un manejo como residuos sólidos; tienen como destino final los mares y océanos. Actualmente de los contaminantes de mayor interes a nivel mundial son los residuos plásticos de un solo uso, que llegan a diario a los océanos debido a la alta producción y uso excesivo de estos materiales. Se destacan los cubrebocas, su incremento en el medio es resultado de su obligado uso durante la Pandemia COVID 19. Son pocos los programas de gestión ambiental para el tratamiento o disposición final de estos residuos sólidos urbanos, y están llegando a las zonas costeras y por la acción de las olas, la luz solar estos cubrebocas plásticos ingresan al mar al ser fragmentados en partículas denominadas microplásticos (REMARCO, 2020). Este tipo de contingencias ambientales origina efectos directos sobre la biota, ya que son derivados del petróleo y junto con otros contaminantes químicos son tóxicos y producen daños a plantas, animales y la salud publica (Vasudevan & Rajaram, 2001).

El uso de los consorcios microbianos para la biodegradación de diversos contaminantes se ha convertido en una tendencia importante para fines de biorremediación. Los microorganismos representan una de las principales fuentes de enzimas, en el cual las actividades enzimáticas desempeñan un papel importante por su relación con la

evolución y procesos degradativos pudiendo ser considerados como catalizadores que generan información importante para el beneficio del ecosistema (Avellaneda *et al.*, 2012).

En el proceso de biorremediación, existen factores que deben tomarse en cuenta, tales como las situaciones en las que se tienden a presentar procesos más lentos en términos de la reducción de un agente contaminante en específico; de cualquier manera, tienden a tener resultados positivos en cuanto a la biodegradación. En el proceso de la biodegradación de plásticos, existen dos situaciones diferentes: una acción directa, en donde la transformación de los plásticos provee alimento para un crecimiento microbiano, y una acción indirecta en la que el producto metabólico de los microorganismos afecta la estructura del plástico (Singh & Nisha, 2008).

Un Consorcio Microbiano es una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás. La asociación refleja estilos de vida sinérgicos o sintróficos que significa “comiendo juntos” en el que el crecimiento y el flujo cíclico de nutrientes se conduce más efectiva y eficientemente que en poblaciones individuales. Los consorcios microbianos podrían ser una alternativa en la biodegradación microbiana de los plásticos, se han considerado para solucionar el problema de la disposición final de estos residuos que, a diferencia de la incineración, presentan condiciones de operación que no serían drásticas ni costosas (López *et al.*, 2006).

Por lo tanto, la biodegradación es una opción aplicable para el tratamiento de polipropileno, a través de colonias o grupos de microorganismos que interactúan entre sí, para acelerar el proceso de biodegradación en un corto periodo de tiempo, contribuyendo en la disminución de niveles significativos de contaminación por plásticos al medio ambiente.

II MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1 Petróleo y su composición

A través del descubrimiento del petróleo surgió una revolución e impulso en el crecimiento económico e innovación tecnológica en el mundo. Se menciona que la invención del automóvil ha sido parte importante del desarrollo entorno al petróleo, volviéndose en un recurso importante e indispensable para las actividades de la sociedad en especial las que implican el transporte y la generación de energía. Sin embargo, el petróleo es un recurso energético fósil no renovable, por lo cual llegara el tiempo en que este disminuya considerablemente hasta su desaparición en los diversos yacimientos en todo el mundo (Arzata, 2012).

El petróleo está conformado por diversas características químicas y físicas, entre los más generales son su color negro y amarillo, es líquido denso, inflamable y está conformado por distintas fracciones de hidrocarburos. De los cuales se encuentran los alifáticos que se componen de 18 a 38 átomos de carbonos (parafinas), aromáticos que cuentan con uno o más anillos con benceno, naftaleno y fenantreno y los polares como los asfaltenos condensados y resinas (Hidalgo, 2009; Acuña *et al.*, 2010). Se considera que la composición del petróleo depende en muchas ocasiones del lugar en donde se encuentre el yacimiento de origen. En promedio el petróleo se compone del 86% se estima de carbono y el 13% de hidrogeno (Hidalgo, 2009). También, se debe considerar que el petróleo se clasifica según su densidad, esta será menor mientras sea mayor la relación entre el hidrogeno con el carbono (Wauquier, 2004).

El petróleo después de ser extraído es procesado en donde se separa en diversos componentes que se destinaran a diferentes usos. Entre los productos derivados se encuentran las gasolinas para uso automotriz, los asfaltos que es un residual refinado utilizado en la pavimentación de calle (Arzata, 2012). Hay que mencionar que el petróleo cuenta con componentes muy tóxicos que son los volátiles y solubles en agua, lo que implica un peligro ambiental y de salud en el mundo (Hidalgo, 2009).

2.2 El plástico

El término "plástico", deriva del griego y que denota su maleabilidad al calor, es también llamado "polímero", refiriéndose a compuestos de carbono con cadenas moleculares largas. Debido a su alta flexibilidad, el plástico se puede incorporar en diversas etapas de producción y en productos finales, lo que explica su relevancia económica (Pérez, 2014). Las categorías de plásticos se establecen según su tamaño, siendo los microplásticos (MP) típicamente descritos como fragmentos plásticos que miden menos de 5 mm en cualquiera de sus dimensiones, con un límite inferior que no está definido de manera precisa. Por otro lado, el término "nanoplástico" generalmente se refiere a partículas plásticas que son más pequeñas que 100 nm (Picó & Barceló, 2019).

Los microplásticos también tienen la posibilidad de ser categorizados de acuerdo a su estructura, incluyendo formas como fibras, fragmentos y cuentas esféricas. (Soundararajan *et al.*, 2019), señalan que otra manera de clasificar los plásticos es basándose en su estructura y propiedades químicas, resultando en las categorías de termoendurecibles y termoestables. (Sánchez, 2020), especifica que los polímeros termoendurecibles son aquellos que experimentan una solidificación irreversible al ser calentados, siendo aplicados en campos como el automotriz, la construcción y revestimientos. Por otro lado, los termoestables experimentan transformaciones químicas cuando se calientan y, una vez sometidos a dicho proceso, no pueden ser refundidos o remodelados.

2.3 Producción de plástico

Desde 1950, la producción de plásticos ha mantenido un crecimiento constante, comenzando con una producción de 1.7 millones de toneladas. A partir de ese momento, se ha observado un incremento promedio anual del 13.6% durante un período de 26 años (Pérez, 2014).

Respecto a la producción de diferentes tipos de plásticos, según Plastics Europe, es posible identificar seis amplias categorías:

- Polietileno, que abarca tanto el polietileno de baja densidad (PEBD), el polietileno lineal de baja densidad (PELBD) y el polietileno de alta

- densidad (PEAD).
- Polipropileno (PP).
- Policloruro de vinilo (PVC).
- Poliestireno en sus formas sólida (PS) y expandida (PS-E).
- Polietileno tereftalato (PET).
- Poliuretano (PUR).

Hoy en día, la producción global de plástico sobrepasa los 430 millones de toneladas por año. De esta cifra, aproximadamente dos tercios corresponden a productos plásticos de corta vida útil o de un solo uso que se convierten rápidamente en residuos, aportando al problema de la contaminación de ríos, arroyos, lagos, costas, mares y océanos. El plástico está profundamente integrado en nuestra vida diaria, presente en el envasado de alimentos, prendas de vestir y artículos de belleza. No obstante, también es lamentablemente el origen de una problemática de vastas dimensiones. Anualmente, más de 280 millones de toneladas de productos plásticos de un solo uso terminan en vertederos (ONU, 2023).

2.4 Plástico Polipropileno

El polipropileno pertenece a la categoría de los plásticos termoplásticos. Estos plásticos tienen la particularidad de ablandarse y hacerse moldeables al ser sometidos al calor, lo que posibilita su modelado en distintas fases de manufactura. Después, al enfriarse, recuperan su rigidez original sin sufrir alteraciones químicas permanentes. Este material se encuentra entre los polímeros más empleados en todo el mundo y se utiliza en una amplia gama de aplicaciones, que incluyen envases, productos domésticos y equipamiento médico (Czajczyńska *et al.*, 2017).

En el polipropileno, cada átomo de carbono se enlaza a un grupo metilo, resultado de la reacción de polimerización experimentada por el propileno. Este polímero puede encontrarse en estado incoloro, con maleabilidad y resistencia, aunque estas características están sujetas a las condiciones de manufactura en las que se produzca (Maddah, 2016). La configuración del polipropileno posibilita la creación de diversos isómeros, lo cual confiere a este material una elevada cristalinidad, junto con una serie de características mecánicas distintivas. El polipropileno se solidifica y carece de olor.

Su aspecto es transparente y blanco, adoptando la forma de gránulos esféricos conocidos como pellets. Posee un punto de ebullición de 320 °F (160°C) y su temperatura de fusión es de 173°C. Su densidad varía entre 0.89 y 0.91 gr/cm³, siendo la más baja entre los polímeros comerciales, lo que facilita la fabricación de productos ligeros en función de su relación entre masa y volumen. Debido a su naturaleza apolar, presenta una resistencia sólida frente a productos químicos. No obstante, el polipropileno muestra una resistencia limitada a la radiación UV y exhibe también resistencia a disolventes orgánicos (Corso *et al.*, 2016).

2.5 Residuos

La sociedad desde su origen ha sido un agente transformante de los recursos naturales para la generación de objetos, sustancias, materiales o elementos que le propicien un beneficio a corto, mediano y largo plazo. Sin embargo, durante el proceso para obtenerlos se generan residuos y de igual manera al finalizar su vida útil. Los residuos son objeto de diversas definiciones o conceptos según lo que acontece históricamente, según los gobiernos o políticas, los avances científicos y el desarrollo tecnológico. En contexto, según el (DOF, 2022), define en la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente a un residuo como:

“Cualquier material generado en los procesos de extracción, beneficio, transformación, producción, consumo, utilización, control o tratamiento cuya calidad no permita usarlo nuevamente en el proceso que lo generó”.

Mientras que el (DOF, 2021), puntualiza en la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Los Residuos lo siguiente:

“Material o producto cuyo propietario o poseedor desecha y que se encuentra en estado sólido o semisólido, o es un líquido o gas contenido en recipientes o depósitos, y que puede ser susceptible de ser valorizado o requiere sujetarse a tratamiento o disposición final conforme a lo dispuesto en esta Ley y demás ordenamientos que de ella deriven”.

Por otro lado, (Ochoa, 2018), especifica que un residuo son las sustancias o materiales que al paso del tiempo y uso pierden su valor original para quien lo utilizo, por tal motivo deciden desecharlo o descartarlo. Sin embargo, estos pueden eliminarse en vertederos o en rellenos sanitarios o reciclarse para un nuevo uso. Los residuos también son

considerados como vectores de cualquier actividad doméstica, industrial, agrícola entre otras, siendo el último eslabón en estas (Elías, 2009).

Con el paso del tiempo la producción de residuos ha incrementado considerablemente en todos los sectores, entre ellos el doméstico. Esto se ve reflejado en la problemática mundial en la gestión, manejo y disposición de los residuos, lo cual repercute determinantemente con la contaminación ambiental. Una contaminación que se refiere a la presencia en el ambiente de uno o más contaminantes como cualquier materia en estado físico, sólido o gaseoso que al ser incorporado en los ecosistemas modifica o altera la condición natural del mismo, causando un desequilibrio ecológico (DOF, 2021) (DOF, 2022).

2.6 Clasificación de los residuos

De acuerdo con la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR) (DOF, 2021) y en su reglamento (DOF, 2014), clasifica a los residuos como sólidos urbanos, peligrosos y de manejo especial con la finalidad de regular la generación, la valorización y la gestión integral de los residuos, para minimizar la contaminación de sitios y llevar a cabo su remediación, así como toma de decisiones basada en criterios de riesgo y en el manejo de los mismos.

Los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) son aquellos que se generan en casa habitación por eliminación de objetos, materiales o elementos utilizados o consumidos en las actividades del hogar, se derivan envases, embalajes o empaques. De igual manera, se consideran a los residuos con características domiciliarias que provienen de otra actividad en establecimientos y vía pública (DOF, 2021).

Mientras que los Residuos Peligrosos (RP) los determinan como los que posean características del criterio CRETIB (corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad, inflamabilidad y biológicos-infecciosos), así como los embalajes y embaces que hayan sido contaminados por los mismos. Los Residuos de Manejo Especial (RME) son considerados a aquellos que no posean características de los RP Y RSU. Son los generados durante procesos productivos como residuos de las rocas o los productos de su descomposición, residuos de servicios de salud con excepción de los biológico-infecciosos, así como de actividades primarias y secundarias (DOF, 2021)

2.6.1 Clasificación de los Residuos Sólidos Urbanos

La LGPGIR en su artículo 18 del título tercero establece que los RSU son partícipes de una subclasificación que los divide en orgánicos e inorgánicos con la finalidad de facilitar la separación primaria y secundaria, todo en conformidad con los Programas Estatales y Municipales referentes a la prevención y gestión de residuos (DOF, 2021). Barradas, 2009, menciona que, respetando la estructura química, el origen y destino final potencial de los residuos sólidos, se pueden clasificar de la siguiente manera:

1. Los residuos sólidos orgánicos son aquellos materiales desechados que en algún momento tuvieron vida, perteneciendo al medio natural o que se deriva de procesos de transformación de combustibles fósiles. Y estos mismos se dividen entre putrescibles que son los que provienen de procesos de producción que utilizan materiales naturales sin una transformación significativa. Y que por ello su grado de humedad no es totalmente modificado manteniendo un alto margen de biodegradabilidad. Entre los ejemplos se encuentran los residuos agropecuarios, de comida, forestales o de jardinería. Por otro lado, los no putrescibles son aquellos con características biológicas modificadas al grado de perder su capacidad de biodegradabilidad, tales como los combustibles.

Los residuos no putrescibles se clasifican en:

- Los naturales en donde la falta de humedad condiciona la pérdida de biodegradabilidad entre ellos se encuentran: papel, cartón, textiles de fibras naturales y madera.
- Los sintéticos son aquellos residuos no biodegradables y con un alto grado de combustión, provienen de la síntesis petroquímica como: plásticos y fibras sintéticas.

2. En segundo término, los residuos sólidos inorgánicos son los no biodegradables ni combustibles como son el vidrio, metales y escombros. Que provienen en su mayoría del proceso de extracción de los recursos minerales.

Sin duda alguna, conocer la composición de los RSU es importante para la planificación y determinación de estrategias nacionales y políticas públicas para el manejo y gestión integral de residuos (Lopez & Iannacone, 2021).

2.7 Gestión Integral de Residuos

Es importante destacar que la Gestión Integral de Residuos en México debe seguir considerándose una parte integral de la Gestión Ambiental (Sáez & Urdaneta, 2014). La gestión integral conlleva más acciones o elementos a parte de las actividades de los sistemas de limpieza de las ciudades (Jiménez, 2015). Según la fracción X del artículo 5 presente en la LGPGIR, define a la Gestión Integral de Residuos como el conjunto de acciones legales, operativas, financieras, de planeación, administrativas, sociales, educativas, monitoreo, técnicas, supervisión y de evaluación, con la finalidad de conllevar el manejo de residuos desde su generación hasta su disposición final, para responder favorablemente a las necesidades regionales o locales y así propiciar un beneficio ambiental, económico y social referente a la posible inadecuada gestión de los residuos (DOF, 2021).

Para los efectos de la Gestión Integral de Residuos es importante precisar la distinción entre lo antes mencionado referente a la gestión y lo que implica el manejo de residuos. La creación de un Plan de Manejo Integral con el objetivo de que sus acciones conlleven a minimizar la generación y maximizar la valorización de residuos sólidos urbanos, residuos de manejo especial y residuos peligrosos específicos, siguiendo los criterios de eficiencia ambiental, tecnológica, económica y social (DOF, 2021). Así mismo, el Manejo Integral implica una serie de actividades relacionadas con la vida del residuo, desde la fuente de origen hasta su disposición final. Lo que conlleva una serie de técnicas individualmente realizadas o combinadas de manera apropiadas para cumplir con la valorización, eficiencia sanitaria en todos los sectores principalmente el ambiental. Las técnicas o acciones son resumidas en reducción en la fuente de origen, separación, reutilización, reciclaje, co-procesamiento, tratamiento biológico, químico, físico o térmico, acopio, almacenamiento, transporte y disposición final de residuos (Karak *et al.*, 2012; DOF, 2021).

2.8 El impacto ambiental de los Residuos Sólidos Urbanos

La óptima gestión de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) es una de las problemáticas más importantes en atender por la agenda internacional del desarrollo sostenible antes del 2030 (Cabrera, 2022). Con el crecimiento de la población, los desarrollos

tecnológicos, la globalización y el consumismo, el incremento en los RSU ha sido eminente. Aunado a los problemas que cada lugar enfrenta en cuanto a la aplicación de la correcta recolección y disposición de los residuos se originan riesgos ambientales de alto impacto para la sociedad y los ecosistemas afectando el equilibrio ecológico en ellos. Esto se ha convertido en un gran desafío que obliga a las autoridades responsables a mejorar de manera inmediata el sistema de gestión integral de los residuos para la prevención de estos riesgos y los costos que se generarían a largo plazo por una inadecuada disposición de los RSU (Gallardo *et al.*, 2006; Jiménez, 2015; Chávez & Leonardo, 2018).

Colomina (2005) menciona que a largo plazo los riesgos o impacto en el medio por la mala gestión de los RSU pueden derivarse en los siguientes aspectos:

- ✓ En el aspecto ecológico y ambiental esta situación genera una alteración a través de la contaminación de diversos recursos naturales, lo que afecta los servicios ecosistémicos que se encuentran dentro de un determinado bioma según la región.
- ✓ Respecto a la contaminación del aire, repercute patógenamente a través de infecciones propagadas por la exposición de los residuos en un medio no controlado como son los tiraderos a cielo abierto, y que pueden ser causantes de graves lesiones para el sistema respiratorio, los cuales no cuentan con medidas estrictas de control de los residuos. También, por esta exposición y la descomposición orgánica se generan gases que son contaminantes orgánicos persistentes considerados un factor influyente en los efectos invernaderos, tal como el metano que es un gas combustible.
- ✓ La incorrecta gestión de los residuos también impacta mediante la contaminación del agua a través de los lixiviados que se originan en la acumulación de los residuos en un sitio mediante la reacción de filtrado de los elementos o materiales que conforman los residuos, y que en forma disuelta se infiltran a los cuerpos de agua subterráneos y superficiales modificando sus características o propiedades afectando a la biota presente en ella. Así mismo, los residuos viajan sólidamente llegando a los mantos freáticos creándose acumulaciones grandes de los mismos que modifican el hábitat de varias especies y por ende de la salud humana (Colomina, 2005; DOF, 2021).

En los suelos la contaminación se presenta mediante la alteración en su estructura

química y biológica, debido a la acción de los lixiviados o líquidos percolados, que, al contaminarlos, pueden quedar sin las propiedades necesarias para su aprovechamiento agrícola u otra actividad (Colomina, 2005; Fernández, 2010).

De igual manera, la modificación en el paisaje natural mediante la acumulación de los residuos de una manera descontrolada, todo contribuye a un deterioro visual, sin ninguna armonía con el medio. Además, para la sociedad representa una amenaza de gravedad, ya que esto implica la propagación de enfermedades que se transmiten por el contacto directo con los residuos y por los vectores más comunes como insectos y mamíferos rastreros que entran en contacto con la basura (Colomina, 2005).

2.9 Los Residuos Sólidos Urbanos durante la pandemia de Covid 19

A partir de que se dio a conocer el surgimiento de un nuevo cuadro respiratorio (COVID-19) que se presentaba en Wuhan (China), y que sería declarada una pandemia por la OMS la crisis sanitaria se desencadenó en todo el mundo y de manera muy grave en países específicos (García *et al.*, 2021). A partir de esta declaratoria se estableció en todo el mundo una cuarentena o confinamiento como medida de mitigación o control de propagación de la enfermedad. Este virus se propaga de forma rápida por la importancia de la aplicación de las medidas preventivas, ya que afecta al sistema respiratorio mediante una gripe común hasta una fuerte neumonía, síndrome respiratorio agudo grave (SARS), insuficiencia renal e incluso la muerte. Los síntomas clínicos más comunes son fiebre, tos, fatiga, producción de esputo, dificultad para respirar y dolor de cabeza (Chhikara *et al.*, 2020; García *et al.*, 2021).

Desde que la pandemia se declaró, inició un nuevo estilo de vida a distancia y con nuevas normas de protección. Con la aplicación de estas normas en todo el mundo las personas del sector salud implementaron la utilización de equipos de protección especiales, sin embargo, la ciudadanía también tenía que ocupar ciertos equipos básicos por la gravedad en la propagación del virus. Esta crisis desequilibró el sistema de salud de todos los países, pero también se vio reflejado a través de los cambios impuestos en la dinámica global de generación y manejo de residuos sanitarios y urbanos, esos residuos generados por personas con la sintomatología no atendida medicamentosa, como aquellos que se generan en el domicilio y en los espacios públicos, modificando la

composición y cantidad de desechos en todo el mundo (Jiménez, 2020; Sanchez, 2021). Los equipos de protección personal son los más abundantes desde el inicio de la pandemia, entre los más comunes e importantes según su proporción de generación las mascarillas o cubrebocas. De igual manera, la generación de residuos plásticos de un sólo uso por la creciente compras en línea o a domicilio de productos básicos o de limpieza. Todos estos factores y la gestión deficiente de residuos, dejó en claro que el sistema de separación y recolección de basura es deficiente antes y durante de la pandemia, lo que acrecentó los problemas ambientales y de salud ya presentes, y sobre todo en los países en desarrollo que padecieron con mayor complicación los estragos del confinamiento (Cervantes *et al.*, 2020; Sanchez, 2021).

El Gobierno Federal a través de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT, 2020), publicaron la Cartilla de Mejores Prácticas para la Prevención del COVID-19 en el Manejo de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU). Este documento tiene como objetivo establecer el manejo adecuado que deben seguir el gobierno federal, estatales y municipales, así como prestadores de servicios respecto a los residuos sólidos urbanos generados durante la pandemia, todo ello aplicando las practicas establecidas en la guía. En este documento se estipulan las dos fuentes de prioridad en el manejo y generación de RSU – COVID-19:

1. RSU sin presencia patógena: los generados en casas y organizaciones no hospitalarias con individuos sin contagio aparente.
2. Residuos con presencia patógena: los generados en un hogar u organización no hospitalaria con presencia de personas contagiadas, así como todos los RSU generados por los aeropuertos y terminales de pasajeros, marítimas o terrestres.

Teniendo en cuenta que la permanecía del virus en los RSU es de importancia los convierte en un vector de transmisión y fuente de riesgo epidemiológica. Por ello, es de importancia el tomar medidas prioritarias en el tratamiento y disposición final de los RSU-COVID-19 que se encuentren libres o con un agente patógeno.

2.9.1 Cubrebocas como producto derivado del petróleo.

Mediante el procesamiento de polimerización de carbono en cadenas moleculares del petróleo se obtienen productos sintéticos como el plástico. Debido a sus propiedades como resistencia al medio, impermeabilidad, facilidad al moldear y bajo costo, su producción es muy solicitada (Segura *et al.*, 2007).

Un ejemplo de ello se observa en la situación de salud actual. Debido a la pandemia COVID-19 originada por el virus SARS-CoV-2, que ha representado un gran problema de salud y ha modificado la vida cotidiana de todo individuo (Wang *et al.*, 2020). Por lo cual la Organización Mundial de la Salud determino el establecer medidas de protección más severas, como el confinamiento, distanciamiento social y el uso de equipo de protección personal por parte del sector salud y público en general, con la finalidad de evitar una creciente en la curva de la enfermedad por transmisión de gotas y aerosoles que contienen el virus (Servín *et al.*, 2020).

El equipo de protección personal consta de diversos artículos como guantes, protección ocular y ropa de protección, pero el que más relevancia tomo fue la mascarilla o cubrebocas. El cubrebocas es parte de equipos de protección personal que se han ocupado desde las primeras pandemias históricas y que actualmente es un producto derivado del petróleo, y la finalidad de este es reducir la dispersión de gotas o aerosoles entre la persona y su entorno (Servín *et al.*, 2020; Anzures *et al.*, 2022). Existen varios tipos de cubrebocas desde los elaborados caseramente con telas y son reutilizables, los quirúrgicos de doble y triple capa, así como los respiradores KN95 o N95:

- **Mascarillas médicas o quirúrgicas:** Estas mascarillas o cubrebocas están aprobadas para evitar la proliferación de microbios por las personas que lo aporten. Pueden clasificarse en tres grupos dependiendo de su calidad en filtración microbiana, para la clasificación europea definen tipo I con el 95% en filtración microbiana, tipo II con 98% de filtración microbiana y el tipo II que además de su porcentaje de filtración es resistente a salpicaduras. En general los cubrebocas o mascarillas quirúrgicas son de un solo uso, y son componen de tres capas de polipropileno comprimido, con filtro de microfibras, aunque pueden existir variaciones. El polipropileno es utilizado frecuentemente para la elaboración de

embalajes o envoltorios. Por sus características es un polímero termoplástico con alta resistencia a la compresión y tensión, así como un bajo coeficiente de absorción de humedad (Schwarz, 2002). Algo muy importante es que el desecharlo inadecuadamente lo hace un residuo participe en la contaminación ambiental (Servín *et al.*, 2020; Lopez *et al.*, 2020).

- **Mascarillas no-médicas:** Existen mascarillas o cubrebocas desechables sin un certificado para su ampliación en el sector salud, sin embargo, para la población en general es de uso común, pero esto implica que la filtración en este tipo de mascarillas es inferior. También existen los cubrebocas de tela de algodón o sintéticas de dos a tres capas, que permiten la respiración. Estas implican un bajo costo en su producción, ya que suelen ocupar tela reutilizable o de un costo menor. Por lo general son reutilizables después de un lavado óptimo (Lopez *et al.*, 2020; Osorio & Vilar, 2021).
- **Respiradores, tipo N-95 o de alta eficiencia:** Por lo general, en las áreas donde se atienden pacientes de COVID-19, se requiere el uso de cubrebocas o mascarillas filtrantes de partículas al 95%, sobretodo partículas virales pequeñas como el coronavirus. Este tipo de cubrebocas se elabora con cuatro capas de polipropileno no tejido. Los modelos más utilizados son el N95 y N99 certificados por el Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH); el modelo quirúrgico N95 de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA); así como los establecidos en norma de la Unión Europea o su equivalente como la FFP2 con el 94% en filtración o FFP3 con el 99.95 % de filtración. Los N95 generalmente se utilizan para actividades industriales, además estos dispositivos que cuentan con una variante que aplica una válvula de respiración diseñada para filtrar aire para proteger al usuario contra el polvo. Sin embargo, la OMS no recomienda el uso de cubrebocas con válvulas como medio para reducir la transmisión del SARS-CoV o COVID-19 (OMS, 2020; Servín *et al.*, 2020; Lopez *et al.*, 2020; Osorio & Vilar, 2021; OMS, 2020).

Para el caso de México, se utilizaron la misma clasificación de cubrebocas o mascarillas que Estados Unidos. La clase N para los que no son resistentes al aceite, la clase R para los que son resistentes al aceite y los P que aplican para cualquier partícula, Esto está

estipulado igualmente bajo la normativa vigente NOM-116- STPS-2009 (Servín *et al.*, 2020).

Si se toma en cuenta las características de los cubrebocas y la variación de la dinámica social respecto a la generación de residuos de un solo uso, se generan impactos negativos para el ambiente como consecuencia del aumento masivo de utilización del equipo de protección personal, en específico el cubrebocas y del desconocimiento en el tratamiento para su disposición final (Galvis, 2014; Pariona & Ormeño, 2022). Sin embargo, Hidalgo (2009) mencionó que el petróleo al ser un material natural, aún puede ser procesado mediante tratamientos biológicos por microorganismos en su estado natural. Pero debido a la complejidad de su composición del petróleo y sus derivados la biodegradación o descomposición del mismo dependerá la proporción de sus fracciones (Acuña *et al.*, 2010). Por ello, son muy selectas los tipos de bacterias o microorganismos que puedan llevar a cabo este proceso (Wauquier, 2004).

2.9.2 Impacto ambiental de los residuos COVI-19

La contaminación es la presencia de algunas sustancias no deseables en el agua, suelo o aire que afectan su equilibrio, y estas pueden ser de origen antropogénica o no. Durante mucho tiempo en el sector salud se han utilizado materiales biomédicos con propiedades plásticas, sin embargo, desde el inicio de la pandemia el incremento de estos materiales en el sector fue eminente, ya que se volvieron materiales de uso más prioritarios. Como consecuencia de estas actividades es el efecto positivo en la disminución de emisiones de gases contaminantes a la atmosfera, ya que muchas actividades antropogénicas fueron perjudicadas en su cotidianeidad, lo que confirma que la sociedad con sus acciones influye en los impactos del medio que nos rodea, esto es directamente proporcional a la salud pública y ambiental (González, 2021; Vilca *et al.*, 2021).

Sin embargo, con la pandemia de COVID-19 también se vio incremento el uso en general de los productos de plásticos que son de un sólo uso, estos han sido esencial en la protección de los individuos. Desde el inicio de la pandemia, la mayoría de los gobiernos han seguido las recomendaciones de la OMS para reducir la cantidad de personas contagiadas mediante el uso de equipo de protección personal, entre ellos los

cubrebocas o mascarillas, lo que resultó en una producción excesiva de RSU y contaminación ambiental por residuos plásticos de un sólo uso. La cantidad de residuos plásticos generados a nivel mundial a partir del brote de la enfermedad por el virus SARS-CoV-2 se estima en 1.6 millones de toneladas al día, aproximadamente 3400 millones de cubrebocas o protectores fáciles de un solo uso (Benson *et al.*, 2021).

Los cubrebocas de un solo uso están hechos de materiales como el polietileno, polipropileno entre otros materiales duraderos y resistentes, lo que a través de la mala gestión les permitirá llegar a los ambientes marinos convirtiéndose en contaminantes persistentes, que estos se descomponen en partículas más pequeñas (<5 mm) llamadas microplásticos (Rodríguez & Vera, 2022). Flores (2020) menciona que la basura plástica es una problemática climática a nivel completo, ya que se almacena en el ambiente a través de las cadenas tróficas, detectados como macroplásticos y microplásticos.

2.10 Tecnologías de tratamiento o remediación

El término "tecnología de tratamiento" se utiliza para describir cualquier conjunto de procesos que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante mediante métodos químicos, biológicos o físicos. Estos procesos tienen como objetivo principal reducir la toxicidad, la movilidad o el volumen de los materiales contaminados que están siendo tratados (EPA, 2001). Los Documentos de Registro de Decisiones (RODs) para las acciones de remediación tienen como objetivo principal abordar la fuente de contaminación, que puede involucrar suelo, lodo, sedimentos y desechos sólidos. Estos RODs, centrados en el "control de la fuente", eligen las correspondientes "tecnologías de control de la fuente". Con el paso del tiempo, la metodología utilizada para identificar los tipos de ROD y las soluciones ha experimentado un proceso evolutivo. A medida que surgen nuevas tecnologías y se aplican enfoques innovadores en la remediación de sitios, esta metodología se ha adaptado y expandido para incorporar estas novedades (EPA, 2001).

Categorización de los tipos de tratamiento basada en el principio de la tecnología de remediación según la U.S. Environmental Protection Agency (EPA):

- **Tratamientos biológicos (biorremediación):** Estos procedimientos se valen de las actividades metabólicas de organismos específicos, como plantas, hongos y

bacterias, con la finalidad de degradar, transformar o eliminar los contaminantes y convertirlos en productos metabólicos inofensivos. Por lo general, cuentan con efectividad en cuanto a costos, estas tecnologías tienen un impacto ambiental más positivo, ya que los contaminantes son eliminados o degradados (EPA, 2001). La velocidad y eficiencia de la biodegradación de los contaminantes orgánicos dependen tanto de la estructura química del compuesto en cuestión como de las especies microbianas encargadas de llevar a cabo su biodegradación y transformarlos en compuestos inofensivos como biomasa mediante procesos bioquímicos. La biorremediación puede emplear organismos autóctonos del lugar contaminado o provenientes de otras áreas (exógenos). Además, puede realizarse este proceso *in situ* (en el sitio contaminado), o *ex situ* (fuera de él). Este proceso también puede tener lugar en condiciones aeróbicas, con la presencia de oxígeno, o anaeróbicas en ausencia de oxígeno (Eweis *et al.*, 1998). Usualmente, este proceso conlleva la administración de una mezcla compuesta por oxígeno, nutrientes y humedad, al mismo tiempo que se monitorea y regula rigurosamente la temperatura y el pH. En ciertas instancias, se recurre a la aplicación de microorganismos previamente adaptados a la biodegradación de contaminantes particulares con el propósito de optimizar el procedimiento (EPA, 2001).

- **Tratamientos fisicoquímicos:** Las tecnologías de remediación fisicoquímicas son métodos que se basan en procesos físicos y químicos para tratar y eliminar contaminantes del medio ambiente. Estas tecnologías incluyen una variedad de métodos, como la extracción con solventes, la oxidación química, la precipitación, la adsorción y otros procesos que se centran en la alteración de las propiedades químicas de los contaminantes o del medio contaminado para lograr su eliminación o inmovilización. Estas tecnologías son utilizadas en la remediación de suelos, aguas subterráneas y otros medios contaminados para reducir o eliminar la presencia de sustancias tóxicas o peligrosas (EPA, 2001). Suelen ser económicamente eficientes y tienen plazos de ejecución más cortos en comparación con las tecnologías de biorremediación. Sin embargo, los costos pueden aumentar cuando se emplean técnicas de separación que exigen un tratamiento o eliminación adicional de los contaminantes (Van Deuren *et al.*, 1997).

- **Tratamientos térmicos:** Las tecnologías de remediación térmicas son métodos que utilizan calor como principal agente de tratamiento para eliminar o reducir la presencia de contaminantes en suelos, aguas subterráneas o residuos sólidos. Estas tecnologías pueden incluir la incineración, la desorción térmica, la pirolisis y otros procesos que aplican altas temperaturas para volatilizar, degradar o inmovilizar los contaminantes. La remediación térmica se utiliza en situaciones donde la biodegradación biológica o las técnicas fisicoquímicas no son eficaces o prácticas (EPA, 2001). La implementación de tecnologías de remediación térmica suele conllevar costos significativos, principalmente debido al alto consumo de energía necesario para generar y mantener las elevadas temperaturas requeridas. Esto se suma al hecho de que estas tecnologías demandan cantidades considerables de energía para calentar el suelo o el medio contaminado, lo que no solo incrementa los costos operativos, sino que también contribuye a la huella de carbono del proceso. Además, con frecuencia se genera una cantidad considerable de residuos, algunos de los cuales pueden ser peligrosos, lo que implica la necesidad de gestionar y disponer de ellos adecuadamente. Esto, a su vez, agrega una capa adicional de costos y desafíos ambientales al proceso de remediación (Van Deuren *et al.*, 1997).

2.11 Consorcios microbianos y biorremediación de residuos de un sólo uso

Los residuos de un solo uso producidos por las actividades antropogénicas, aunado a la situación de salud por la pandemia han incrementado la acumulación de ellos en el ambiente, ya que este tipo de productos conserva las características de resistencia por ser derivados de hidrocarburos, por ello la biodegradación de plásticos en el ambiente puede ser muy lenta. Los macroplásticos suelen fragmentarse hasta llegar a ser microplásticos, los cuales han llegado a acumularse en los ecosistemas, principalmente los marinos, perturbando a la ecología de los mismos (Segura *et al.*, 2007; Allsopp *et al.*, 2007). Sin embargo, existen tecnologías de tratamiento que buscan remediar este tipo de situaciones, tales como los biológicos, ya que han demostrado su eficiencia y adecuación por el impacto positivo en su aplicación (Acuña *et al.*, 2010). Según Gutiérrez (2013) define a la biodegradación microbiana como la transformación bioquímica de polietileno de baja densidad, donde los microorganismos liberan varias enzimas sobre el

material polimérico, el cual sirve como fuente de carbono para su biodegradación. Los consorcios microbianos se definen como un agrupamiento de bacterias u hongos que se sincronizan para llevar a cabo una variedad de funciones de manera colectiva, todas en pro de un beneficio común en el contexto de su cinética de crecimiento (Díaz *et al.*, 2018). Diversos estudios han analizado el uso de consorcios microbianos como medio de tratamiento para biodegradación de petróleo en agua y suelo. Gómez *et al.*, (2017) demostraron la capacidad de degradar diversas fracciones de hidrocarburos por un consorcio fúngico hidrocarbonoclasta nativo de Cancún en un medio controlado, estos consorcios fueron capaces de metabolizar el carbono presente en el hidrocarburo para su desarrollo. Mientras que, Acuña *et al.*, (2010) extrajeron una muestra de suelo contaminado por hidrocarburo para determinar el potencial de biodegradación del consorcio microbiano presente en ella. Determinaron que el consorcio tiende a degradar los hidrocarburos presentes en el suelo, con mayor posibilidad en la fracción alifática del hidrocarburo. Por otro lado, Uribe *et al.*, (2010) obtuvieron que el peso perdido de polietileno fue del 5.4% mediante el tratamiento con un consorcio específico de bacterias, durante esta actividad degradadora el grupo carbonilo se libera por la interacción existente con la luz y es asimilado como fuente energética para el consorcio. Por estas características simbióticas entre los microorganismos, la utilización de consorcios microbianos se ha vuelto una alternativa en el tratamiento de hidrocarburos y sus derivados (Hamouda *et al.*, 2016; Suresh *et al.*, 2011).

2.11.1 Tipos de microorganismos

Los microorganismos anaerobios: presentan una serie de características distintivas que les permiten sobrevivir y prosperar en entornos carentes de oxígeno. Algunas de estas características incluyen (Rivas & Mota, 2006; Corrales *et al.*, 2015):

1. Sensibilidad al oxígeno: Estos son sensibles al oxígeno y pueden ser dañadas o incluso morir en presencia de cantidades significativas de oxígeno.
2. Adaptaciones metabólicas: Las bacterias anaerobias han evolucionado para utilizar procesos metabólicos alternativos, como la fermentación y la respiración anaeróbica, para obtener energía en ausencia de oxígeno.
3. Hábitats específicos: Suelen encontrarse en entornos anaerobios como el tracto

intestinal de humanos y animales, suelos profundos, sedimentos marinos y ambientes acuáticos donde el oxígeno es limitado.

4. Importancia en la industria y el medio ambiente: Algunos microorganismos son de importancia industrial, ya que se utilizan en la producción de alimentos, la fermentación de productos lácteos y la eliminación de desechos. Además, desempeñan un papel crucial en la descomposición de la materia orgánica y en los ciclos biogeoquímicos en la naturaleza.

Estas características reflejan la capacidad única de los microorganismos anaerobios para adaptarse y prosperar en condiciones ambientales específicas sin la presencia de oxígeno.

Los microorganismos aeróbicos: presentan una serie de características que les permiten prosperar en entornos ricos en oxígeno. Algunas de estas características son las siguientes (Frioni, 2006; Prescott *et al.*, 1999):

1. Requerimiento de oxígeno: Estos requieren oxígeno para llevar a cabo la respiración aeróbica y obtener energía de los compuestos orgánicos.
2. Mayor diversidad de hábitats: Suelen encontrarse en ambientes bien oxigenados, como la superficie del suelo, el agua oxigenada y en algunos ambientes biológicos como los tractos respiratorios de humanos y animales.
3. Metabolismo aeróbico: Utilizan el oxígeno en la respiración para descomponer moléculas orgánicas complejas y generar energía.
4. Papel en los ciclos biogeoquímicos: Algunos microorganismos aeróbicos participan activamente en los ciclos del carbono, nitrógeno y azufre, desempeñando un papel importante en la descomposición de materia orgánica y la mineralización de nutrientes.

Estas características subrayan la adaptabilidad de los microorganismos aeróbicos a entornos bien oxigenados y su importancia en numerosos procesos biológicos y ecológicos.

Microorganismos estrictos (Frioni, 2006): se refiere a varios tipos de microorganismos que tienen características específicas en cuanto a sus requerimientos ambientales y nutricionales. Una interpretación común de este término es que se refiere a que tienen necesidades muy específicas en su entorno de crecimiento y que no pueden adaptarse

a condiciones diferentes a las que necesitan para sobrevivir. Pueden tener requisitos específicos de pH, temperatura, nutrientes y otros factores ambientales para su crecimiento óptimo.

En microbiología, a menudo se clasifican en categorías como anaerobias estrictas, que requieren la ausencia total de oxígeno para crecer, o aerobias estrictas, que necesitan oxígeno para su metabolismo. Además, también pueden referirse a aquellas que tienen requerimientos nutricionales específicos, como la necesidad de ciertos compuestos orgánicos o inorgánicos para su supervivencia.

En resumen, el término "microorganismos estrictos" generalmente se utiliza para referirse a microorganismos que tienen necesidades ambientales y nutricionales muy específicas y que no pueden adaptarse a condiciones ambientales diferentes a las que requieren para su crecimiento y supervivencia.

Microorganismos facultativos (Frioni, 2006): son microorganismos que pueden adaptarse y prosperar en entornos con o sin oxígeno. Estos microorganismos tienen la capacidad de cambiar su metabolismo dependiendo de la disponibilidad de oxígeno en su entorno. En presencia de oxígeno, utilizan la respiración aeróbica para obtener energía, mientras que, en ausencia de oxígeno, recurren a la fermentación o a la respiración anaeróbica.

Estos microorganismos se consideran extremadamente adaptables y pueden sobrevivir en una amplia gama de entornos, lo que les brinda una ventaja competitiva significativa en términos de adaptabilidad. Algunos ejemplos comunes de bacterias facultativas incluyen *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*. Estos microorganismos pueden prosperar en diversos entornos, desde el tracto intestinal humano hasta el suelo y el agua, lo que las convierte en componentes cruciales de numerosos ciclos biogeoquímicos y sistemas biológicos.

2.12 Aplicaciones industriales de los microorganismos

Los microorganismos tienen una amplia variedad de aplicaciones en la industria debido a su capacidad para realizar una serie de funciones útiles. Algunas de las aplicaciones industriales más comunes de los microorganismos incluyen (Frioni, 2006; Madigan *et al.*, 2015):

1. Producción de alimentos: Los microorganismos se utilizan en la fermentación de alimentos y bebidas, como el yogur, el queso, el vino, la cerveza y el pan. También se emplean en la producción de enzimas utilizadas en la industria alimentaria.
2. Biotecnología: Se utilizan en la producción de productos farmacéuticos, como antibióticos, vacunas y hormonas. Además, los microorganismos son utilizados en la síntesis de productos químicos y biocombustibles.
3. Tratamiento de aguas residuales: Los microorganismos desempeñan un papel fundamental en la eliminación de contaminantes en las aguas residuales, ya sea a través de procesos aeróbicos o anaeróbicos, lo que contribuye a la depuración y saneamiento de aguas residuales.
4. Biorremediación: Los microorganismos pueden utilizarse para limpiar y descontaminar suelos y aguas contaminados por compuestos tóxicos y contaminantes, contribuyendo así a la restauración de ecosistemas contaminados (Figura 1).
5. Agricultura: Los microorganismos beneficiosos se utilizan como agentes de biocontrol para combatir enfermedades de las plantas y mejorar la salud del suelo. También se utilizan como inoculantes en la agricultura para fomentar el crecimiento de las plantas y aumentar la disponibilidad de nutrientes en el suelo.

Estas son solo algunas de las muchas aplicaciones industriales de los microorganismos, que demuestran su importancia en una amplia gama de sectores y su potencial para contribuir de manera significativa a la sostenibilidad y eficiencia en la industria.



Figura 1. Procesos de biodegradación natural y dirigidos (Froni, 2006).

2.13 Bioquímica de la biodegradación de hidrocarburos por microorganismos

El fundamento bioquímico de la biodegradación de hidrocarburos involucra la participación de microorganismos, como bacterias y hongos, que tienen la capacidad de utilizar los hidrocarburos como fuente de carbono y energía. Estos microorganismos llevan a cabo una serie de reacciones bioquímicas para descomponer los hidrocarburos en compuestos más simples y menos tóxicos (Figura 2) (Maroto & Rogel, 2004; Jiménez *et al.*, 2018).

Degradación aerobia:



Degradación anaerobia:

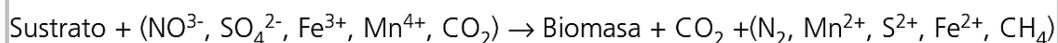


Figura 2. Reacciones bioquímicas en la biodegradación de hidrocarburos (Maroto & Rogel, 2004).

La biodegradación de hidrocarburos involucra etapas bioquímicas fundamentales. En primer lugar, los microorganismos especializados se adhieren a la superficie del hidrocarburo mediante biosorción. Luego, secretan enzimas extracelulares que rompen los enlaces químicos en los hidrocarburos, dividiéndolos en fragmentos más pequeños. Estos fragmentos son transportados al interior de las células microbianas, donde experimentan procesos de oxidación y metabolismo a través de reacciones bioquímicas específicas, utilizando rutas metabólicas como la beta-oxidación o la vía de catecol. Durante este proceso, se libera energía que impulsa el crecimiento y la reproducción de los microorganismos, resultando en un aumento de la biomasa microbiana. En última instancia, los hidrocarburos se descomponen en productos finales más simples, como dióxido de carbono y agua (Maroto & Rogel, 2004; Jiménez *et al.*, 2018).

Durante el proceso de biodegradación de hidrocarburos, se encuentran diversos factores que ejercen influencia tanto directa como indirecta en la capacidad de consumo de compuestos orgánicos, así como en la concentración y composición de la comunidad microbiana. El crecimiento óptimo de una amplia variedad de microorganismos

generalmente está condicionado por un pH próximo a la neutralidad, y niveles extremadamente alcalinos o ácidos pueden ocasionar una reducción significativa en la velocidad de biodegradación microbiana. En términos generales, la mayoría de los microorganismos prospera en un rango de pH que se sitúa entre 6 y 8, proporcionando así un ambiente óptimo para su crecimiento (Maroto & Rogel, 2004; Jiménez *et al.*, 2018). En segundo término, las bacterias tienden a prosperar en rangos de temperatura relativamente estrechos, generalmente entre 15 y 45°C, en lo que se considera condiciones mesófilas. Por encima de los 40°C, la biodegradación puede verse afectada negativamente debido a la desnaturalización de las enzimas, mientras que por debajo de 0°C, la actividad microbiana tiende a inhibirse (Maroto & Rogel, 2004). Castañeda *et al.*, (2022) señala que, aunque las variaciones en los parámetros de pH y viscosidad tomadas en dos temperaturas diferentes (19° y 26°C) en cada biorreactor inoculado por consorcios microbianos fueron mínimas, esto podría indicar un efecto significativo al modificar este factor crucial en la operación del biorreactor para la biodegradación de hidrocarburos.

La biodegradabilidad inherente de un hidrocarburo se fundamenta principalmente en su estructura molecular, donde factores críticos incluyen la halogenación, la presencia de ramificaciones, la baja solubilidad en agua y las diferencias en la carga atómica (Maroto & Rogel, 2004). Por ejemplo, la estructura molecular del dibenzotiofeno es considerablemente más compleja en comparación con la del antraceno y el fenantreno. La incorporación de un grupo funcional de azufre en el anillo aromático ejerce un impacto significativo en la actividad de las enzimas dioxigenasas, que tienen un papel esencial en la oxidación de los enlaces carbono-carbono que se encuentran en compuestos aromáticos (Bracho *et al.*, 2009).

2.14 Biorreactores de Columna de Burbujeo (BCB)

En la ingeniería ambiental, se utilizan diversos tipos de reactores, por lo que es crucial que el ingeniero tenga un sólido entendimiento de cómo los diferentes microorganismos eliminan los sustratos, así como de las propiedades clave de los variados tipos de reactores. Esto le permite seleccionar el reactor más idóneo o una combinación de ellos para resolver de manera efectiva un problema específico de tratamiento de residuos,

considerando factores pertinentes. Algunos de los factores que afectan la elección de los distintos tipos de reactores incluyen las propiedades físicas y químicas de los residuos en cuestión, la concentración de los contaminantes a tratar y la presencia o ausencia de oxígeno, además de la eficacia de tratamiento y la confiabilidad del sistema requerido. Los biorreactores pueden ser clasificados según los sistemas de crecimiento suspendido, como los biorreactores de tanque agitado, airlift, columna de burbujeo, reactores de membrana y biorreactores de flujo de Taylor (Rittmann & McCarty, 2001). Los biorreactores de columna de burbujeo (BCB) son dispositivos utilizados en procesos bioquímicos y biotecnológicos para llevar a cabo reacciones que involucran microorganismos. Estos biorreactores operan mediante la inyección de gas, generalmente aire u oxígeno, a través del fondo del reactor en forma de burbujas. Las burbujas facilitan la transferencia de oxígeno al medio de cultivo, lo que resulta crucial para el crecimiento y la actividad metabólica de los microorganismos presentes (García *et al.*, 2018; Merchán, 2018).

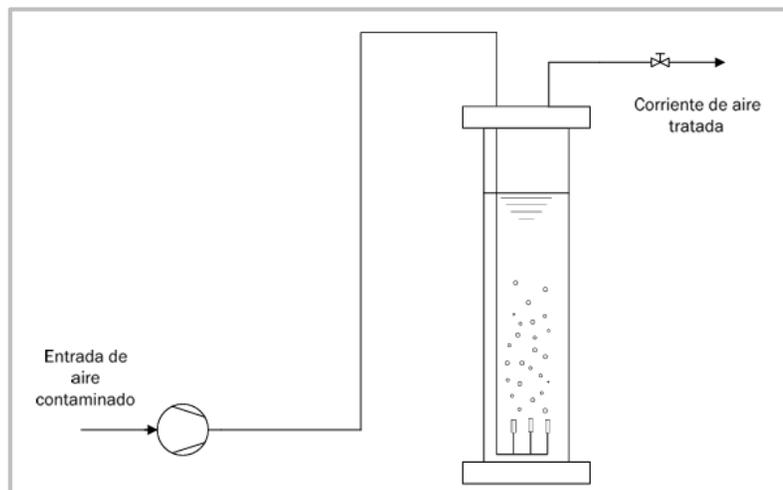


Figura 3. Biorreactor de columna de burbujeo (BCB) (Merchán, 2018).

Este tipo de biorreactor es particularmente útil en la industria de la fermentación y la producción de biomasa, ya que permite un control eficiente de las condiciones ambientales, como la concentración de oxígeno, pH y temperatura. La configuración de columna de burbujeo permite una mayor interacción entre el gas y el líquido, lo que

promueve una transferencia de oxígeno más efectiva y, por lo tanto, una mejor eficiencia en la producción de productos biotecnológicos.

Los biorreactores de columna de burbujeo son ampliamente utilizados en aplicaciones de cultivo de células, producción de proteínas recombinantes, tratamiento de aguas residuales y procesos de biorremediación, entre otros. Su diseño versátil y su capacidad para mantener un entorno controlado hacen que sean una opción popular en una variedad de procesos industriales y de investigación en biotecnología (García *et al.*, 2018; Merchán, 2018).

III ANTECEDENTES

Los investigadores Bracho *et al.*, (2004) retomaron la idea de utilizar la biorremediación como una alternativa para mitigar el impacto causado en los recursos ecosistémicos debido a los constantes derrames de hidrocarburos. En este estudio, llevaron a cabo una evaluación cualitativa de la capacidad biodegradativa de bacterias autóctonas, centrándose específicamente en 14 cepas de *Pseudomonas sp.* aisladas de suelos contaminados con petróleo. El enfoque principal de la investigación se dirigió a la biodegradación de hidrocarburos aromáticos dicíclicos, tricíclicos y heterocíclicos.

Con el propósito de mantenimiento y estabilización, las cepas fueron incubadas en 50 ml de medio mínimo mineral, utilizando naftaleno, antraceno, fenantreno y DBT al 0,05% p/v como sustratos de hidrocarburos. La evaluación de la biodegradación la llevaron a cabo mediante la técnica modificada de Kiyohara y Nagao. En este proceso, las placas con *Pseudomonas sp.* y el sustrato se incubaron a 37°C durante 15 días en donde monitorearon la desaparición de fluorescencia del hidrocarburo alrededor de las colonias. Los resultados indicaron que todas las cepas evaluadas tenían la capacidad de degradar tanto el naftaleno como el antraceno. Respecto al fenantreno, el 78.57 % de las cepas mostraron capacidad de biodegradación, mientras que el 71.42 % logró degradar el dibenzotiofeno. Además, el 50 % de las cepas demostró la capacidad de degradar los cuatro hidrocarburos evaluados. Estos hallazgos destacaron las diversas capacidades de las cepas de *Pseudomonas sp.* para la biodegradación de estas fuentes de carbono.

En el estudio llevado a cabo por Cáceres (2011), se evaluó la biodegradación bacteriana del polietileno de baja densidad. Para este propósito, se utilizaron bolsas plásticas de tres marcas diferentes como sustrato portador de carbono. Las bacterias empleadas en el experimento fueron aisladas de muestras de residuos plásticos recolectadas en un vertedero ubicado en Tingo María, Perú.

El diseño experimental se desarrolló en biorreactores airlift de vidrio con una altura de 20 cm, utilizando una bomba de aire de pecera como fuente de aeración. La cinética de la degradación se llevó a cabo durante un período de 7 días, y la evaluación de la degradación del polietileno se basó en la disminución de su concentración en los biorreactores.

Los resultados obtenidos revelaron que la bolsa de la marca Metro mostró la mayor disminución de peso a una concentración de 50 mg/L, con una reducción de 4.6 mg. Asimismo, a concentraciones de 100 mg/L, 150 mg/L y 200 mg/L, la disminución de peso fue de 4.2 mg, 3.2 mg y 1.6 mg, respectivamente.

Adicionalmente, se llevaron a cabo análisis para identificar las bacterias que desempeñaron un papel crucial en la biodegradación de este sustrato. Las especies identificadas como participantes en el proceso fueron *Pseudomonas sp.*, *Edwardsiella sp.* y *Alcaligenes sp.*

Por su parte, Medina *et al.*, (2014), inocularon una muestra de consorcio microbiano autóctono, obtenido de un cenote contaminado por hidrocarburos en Playa del Carmen, Xca-Ha, en un biorreactor airlift de lotes secuenciales con medio mineral salino. El objetivo fue evaluar su capacidad hidrocarbonoclástica frente al diésel como fuente de carbono durante un período de 14 días. Los resultados mostraron que el consorcio logró una biodegradación del 98.47 ± 0.38 % en los primeros 4 días de la cinética. Además, se llevó a cabo la identificación bacteriana mediante pruebas bioquímicas, revelando la presencia de tres bacterias dominantes de los géneros *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Diplococcus*.

Uribe *et al.*, (2010) detallan en su investigación el aislamiento de microorganismos, incluyendo *Pseudomonas sp.* MP3a y MP3b, *Penicillium sp.* MP3a, *Rhodotorula sp.* MP3b, *Hyalodendron sp.* MP3c, y una levadura no identificada. Estos microorganismos fueron aislados en un medio mineral salino con un pH de 5.5 a 7, inicialmente encontrados en residuos plásticos en un vertedero. Utilizaron perlas de polietileno de baja densidad como fuente de carbono en el medio mineral, observando una biodegradación por parte de los microorganismos del 5.4 % para el medio mineral a pH 7 y del 4.8 % para el medio mineral a pH 5.5.

En investigaciones realizadas por el equipo de Lizardi *et al.*, (2015) se emplearon consorcios microbianos hidrocarbonoclastas autóctonos con el propósito de degradar naftaleno, fenantreno y benceno presente en acuíferos y sumideros marinos en el estado de Quintana Roo. Para llevar a cabo este proceso, se implementó un biorreactor airlift con medio mineral salino y sustrato de los hidrocarburos mencionados a concentraciones de 1.3, 3 y 13 g L⁻¹ durante un período de 14 días. Se logró una eficiencia en la

biodegradación del $83.73 \pm 11.09\%$ de la fuente de carbono. Además, mediante pruebas bioquímicas, se identificaron las bacterias dominantes de los géneros *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*.

Tirado *et al.*, (2015) llevaron a cabo una revisión sobre consorcios microbianos empleados en la biorremediación, concluyendo que su utilización muestra un considerable potencial en la biodegradación de hidrocarburos. El mayor tiempo de exposición a los hidrocarburos favorece su adaptación, volviéndolos más eficientes al emplear estos compuestos como fuente de carbono. Además, sostienen que el uso de medio mineral salino, la técnica de diluciones seriadas y el estriado en placa in vitro son los métodos más idóneos y comúnmente empleados para lograr la adaptación de las bacterias. Esto contribuye a un aislamiento e identificación más efectivos de las bacterias, ya que gestiona y controla los procesos de biorremediación.

Trabajando con bacterias autóctonas obtenidas de agua residual según el estudio de Yaya (2017) se implementó el acondicionamiento de un sistema de biorreactores. En el primer biorreactor, inóculo *Pseudomonas Auriginosas*, mientras que en el segundo utilizo bacterias autóctonas, incluyendo *Pseudomonas Auriginosas*, *Rhodococcus* y *Micrococcus*. Ambos biorreactores fueron alimentados con sustratos de fracciones de hidrocarburos (C5-C10), (C10-C28) y (C28-C40). Como resultado, observon una mejora en la cinética de la densidad bacteriana autóctona, con una biodegradación del 55.3% para la fracción (C5-C10) y del 65.3% para la fracción de hidrocarburos (C10-C28 y C28-C40).

Gómez *et al.*, (2017) evidenciaron que un consorcio aislado de muestras de un cenote en Cancún, Quintana Roo, y tratado en biorreactores airlift, está compuesto por un hongo de la especie *Cladosporium* y bacterias *Pseudomonas*, *Diplococcus* y *Enterobacter*. Este consorcio demuestra capacidad para degradar diversas fracciones de hidrocarburos mediante la biomasa fúngica.

Mientras que, Hermoza (2019) utilizó biorreactores airlift durante 7 días bajo condiciones controladas. Inoculó estos biorreactores con muestras de polietileno de baja densidad y microorganismos de las especies *Pseudomonas aeruginosa*, logrando una biodegradación del 2% del sustrato. Además, con *Aspergillus brasilensis*, alcanzó una biodegradación del 7%. Con esto, se confirma que este método es una alternativa en

desarrollo para el tratamiento y mitigación del polietileno de baja densidad, el cual es un derivado del hidrocarburo.

En el caso de Sandoval *et al.*, (2020) realizaron un muestro en el que determinaron la presencia de eicosano y venzo(a)pireno en playas del Puerto de Veracruz. Así mismo, realizaron una propuesta de remediación con la aplicación de consorcios microbianos y biorreactores airlift con un volumen operacional de 1L. Los biorreactores fueron inoculados con un consorcio microbiano compuesto por *Xanthomonas sp.*, *Acinetobacter bouvetii*, *Shewanella sp.* y *Defluviobacter lusatiensis*. El medio utilizado consistió en agua de mar, con una fuente de nitrógeno y sustrato de diésel. Mediante esta técnica, el consorcio logró una biodegradación del 98 % del sustrato, confirmando así la viabilidad de este método para ser aplicado en la remediación de playas contaminadas en el Puerto de Veracruz.

En un estudio sucesor, Narciso *et al.*, (2021) investigaron la presencia de hidrocarburos mediante cromatografía de gases en la cuenca y arrecifes en el Golfo de México próximos al estado de Veracruz. Encontrando en el mes de abril del 2018 la presencia de octano y nonano de 0.7 ppm y en julio hidrocarburos de cadenas largas, así como aromáticos. La mitad de los hidrocarburos detectados sobrepasaron los límites permisibles en aguas establecido por la NOM143-SEMARNAT-2003. A continuación, llevaron a cabo una investigación para desarrollar biorreactores adaptados a cada tipo de contaminación. En esta instancia, seleccionaron un biorreactor de tipo airlift confeccionado en vidrio y con un volumen de 0.9 L, el cual se airó mediante un difusor de tipo L. Estos biorreactores fueron utilizados con medios salino y mineral, y se les inoculó con un consorcio microbiano compuesto por *Acinetobacter bouvetii*, *Defluviobacter lusatiensis*, *Xanthomonas sp* y *Shewanella sp*, empleando gasolina y diésel como sustratos. Lograron una biodegradación del diésel con una concentración de 20 g L⁻¹ en un entorno salino del 91.39 ± 1.32%, y en un medio mineral del 97.55 ± 0.74%. En cuanto a la biodegradación de la gasolina, alcanzaron un porcentaje del 95.05 ± 4.75 % en un medio salino y del 98.79 ± 1.19% en un medio mineral.

En el trabajo realizado por Castañeda *et al.*, (2022-A) se llevó a cabo la identificación de un consorcio microbiano hidrocarbonoclasta, utilizando como base el consorcio previamente obtenido por Medina *et al.*, (2014) en un cenote de Playa del Carmen, Xca-

Ha. En una primera etapa, se inoculó el 10 % del consorcio en un biorreactor tipo airlift, con un 90% de medio de agua de mar y 13 g/L de diésel, manteniendo un pH de 6.5 durante periodos de 14 días. Posteriormente, a través de pruebas bioquímicas y fenotípicas, se logró la caracterización del consorcio, identificando microorganismos como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*, *Vibrio cholerae pacini*, *Vibrio parahemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus bovis*, así como *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cepacia*, los cuales demostraron tener características hidrocarbonoclastas.

En su investigación, Castañeda *et al.*, (2022-B) emplearon diésel como sustrato en biorreactores de columna de burbujeo. Este hidrocarburo, de fracción media, se seleccionó como referencia de los 14 hidrocarburos detectados en la zona central del Golfo de México, que incluyen compuestos con cadenas de carbono que van desde C9 hasta C27, como el benzo(a)pireno. Se inoculó el consorcio previamente caracterizado por García *et al.*, (2019) el cual está compuesto por *Phylum Proteobacteria*, *Planctomycetes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Acidobacteria*, en un medio mineral, con un periodo cinético de 14 días. Los resultados mostraron una biodegradación del diésel, pasando de 13.0 a 0.00 g/L en la concentración en tan solo 12 días.

IV PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020), emite el 31 de diciembre del 2019 un comunicado alertando sobre la existencia de una enfermedad de alto riesgo, que para ese momento era considerada neumonía de etiología desconocida detectada en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei (China), actualmente identificada como SARS CoV-2 o COVID-19 y sus diversas variantes.

El alto riesgo que implicó esta enfermedad hacia la salud requirió que en todo el mundo se aplicaran medidas estrictas para proteger a la ciudadanía. Entre las más comunes y básicas fue el uso de cubrebocas o mascarillas, uniformes para el sector sanitario, caretas, guantes y productos de desinfección de manos. Todo lo anterior contribuyó a la generación y acumulación de residuos biocontaminantes en todas las ciudades. Aunado al crecimiento del consumo de recursos y de plásticos para la fabricación de estos equipos de protección para el personal médico y uso doméstico.

Esta situación planteó un desafío significativo en cuanto a la gestión de residuos a nivel global. Mensualmente, se utilizaban aproximadamente 129 mil millones de cubrebocas, lo que resultaba en la generación anual de unos 280 millones de toneladas de residuos de un solo uso (Prata *et al.*, 2020; ONU, 2023). La insuficiencia en los planes de gestión de residuos por parte de algunos países, así como la falta de conciencia ambiental en la educación de los ciudadanos, subraya la necesidad imperante de revisar y modificar los planes de gestión y disposición adecuada de los residuos sólidos urbanos y de un solo uso que representan una amenaza para el medio ambiente. Esto debe ir acompañado de un refuerzo en las prácticas ambientales entre la ciudadanía.

V JUSTIFICACIÓN

La pandemia de COVID-19 ha tenido un impacto significativo en el aumento de la producción de desechos de un solo uso. Con la creciente preocupación por la transmisión del virus, se ha observado un incremento en la utilización de productos desechables, tales como mascarillas, guantes, envases de alimentos para llevar y productos de limpieza de un solo uso. Esto ha dado lugar a un aumento considerable en la generación de residuos plásticos y otros desechos, ya que muchos de estos elementos desechables están fabricados con materiales no reciclables.

Además, los protocolos de limpieza y desinfección más rigurosos han generado una mayor cantidad de envases de productos químicos de un solo uso y toallas de limpieza, lo que ha contribuido aún más a la generación de residuos. La adecuada gestión de estos desechos se ha convertido en un desafío de gran relevancia durante la pandemia. Es importante señalar que la gestión final de estos desechos no está completamente regulada, a pesar de que en México se haya emitido la Cartilla de Mejores Prácticas para la Prevención del Covid-19 en el Manejo de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) por parte de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

A pesar de que estas medidas de un solo uso son esenciales para contener la propagación del virus, han destacado la necesidad apremiante de abordar de manera más eficaz la gestión de residuos y de promover prácticas sostenibles, como el reciclaje y la reducción de desechos. Esto se vuelve especialmente crucial en situaciones de crisis como la que hemos experimentado con la pandemia de COVID-19.

En la actualidad, es imperativo abordar la biodegradación mediante el uso de consorcios microbianos hidrocarbonoclastas de los desechos de un solo uso y generar conocimiento científico. Estos consorcios tienen el potencial de demostrar su capacidad para biodegradar polímeros plásticos como el polipropileno, que se encuentra presente en productos como los cubrebocas que son derivados de hidrocarburos. Los microorganismos pueden desencadenar la transformación de los grupos carbonilo y lograr la biodegradación de los microplásticos, lo que conlleva beneficios notables para el medio ambiente. Los resultados obtenidos podrán dar pauta para proponer alternativas de biorremediación en la disposición final de residuos, garantizando tasas de eliminación eficientes mediante el estudio de las cinéticas de biodegradación de estos polímeros.

VI PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la eficiencia del uso de consorcios microbianos hidrocarbonoclastas obtenidos del Puerto de Veracruz y del Golfo de México para la biodegradación de polipropileno utilizado como fuente de carbono en biorreactores de columna de burbujeo (BCB) como método de remediación de residuos de un solo uso: caso cubrebocas?

VII HIPÓTESIS

Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, que componen los consorcios microbianos hidrocarbonoclastas obtenidos del Puerto de Veracruz y del Golfo de México, demostrarán la capacidad de degradar el polipropileno utilizado como fuente de carbono en biorreactores de columna de burbujeo (BCB), manteniendo una cinética de crecimiento estable como método de remediación de residuos de un solo uso: caso cubrebocas.

VIII OBJETIVOS

8.1 Objetivo general

Evaluar la eficiencia de consorcios microbianos hidrocarbonoclastas obtenidos del Puerto de Veracruz y del Golfo de México para la biodegradación de cubrebocas de un solo uso como fuente de carbono en biorreactores de columna de burbujeo (BCB) como método de remediación.

8.2 Objetivos específicos

1. Determinar la biodegradación de microplásticos derivados de cubrebocas de un solo uso como fuente de carbono, en consorcios microbianos obtenidos del Puerto de Veracruz y Golfo de México.
2. Evaluar la cinética de crecimiento de los consorcios microbianos del Puerto de Veracruz y Golfo de México alimentados con microplásticos derivados de cubrebocas de un solo uso como fuente de carbono.
3. Identificar los microorganismos hidrocarbonoclastas predominantes en los consorcios microbianos del Puerto de Veracruz y Golfo de México.

IX MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo de la investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos (LIRA), del Instituto Tecnológico de Boca del Río del Tecnológico Nacional de México, ubicado en el municipio de Boca del Río, Veracruz.

9.1 Obtención del cultivo de consorcios microbiano de reactores semilla

El presente estudio utilizó dos grupos de consorcios microbianos, uno del Golfo de México obtenido a través de la Universidad Autónoma Metropolitana, el cual fue aislado de la rizósfera de *Cyperus laxus*, planta nativa de pantanos del sureste mexicano, capaz de crecer en suelos contaminados con petróleo. La identificación del consorcio se llevó a cabo mediante el análisis y amplificación del gen ribosomal 16s (Lizardi & Gutiérrez, 2011). El consorcio microbiano degradador de petróleo estuvo constituido inicialmente por cuatro cepas bacterianas: *Xanthomonas sp*, *Acinetobacter bouvetii*, *Shewanella sp* y *Deffluvibacter lusatiensis*. El siguiente grupo de consorcios microbianos fue aislado de muestras de sedimento extraído del puerto de Veracruz, el cual siguió la siguiente metodología.

9.2 Recolección de muestras de sedimentos

Siguiendo la metodología de Pucci *et al.*, 2010 se realizó la selección de estaciones en el Puerto de Veracruz para aislar el consorcio microbiano. Estas estaciones se eligieron considerando un radio de incidencia de 1.5 km en la zona portuaria, teniendo en cuenta las interacciones relacionadas con el tráfico y desembarque de barcos, así como la posible exposición a hidrocarburos (Figura 5). Las coordenadas geográficas de las estaciones fueron las siguientes: Estación 1 (19°11'52.07"N - 96° 7'47.42"O) y Estación 2 (19°11'51.15"N - 96° 7'46.75"O), con una distancia de 34 m entre ellas (Figura 4). En cada estación, se obtuvieron dos muestras de sedimento de 100 g cada una, en una profundidad de 20 cm en zona de bajamar. Estas muestras se recolectaron utilizando una pala de acero inoxidable. Posteriormente, se depositó cada muestra de sedimento en un contenedor adecuado para eliminar piedras, palos, entre otros elementos no deseados. Luego, se mezcló cada muestra con una espátula para asegurar su

homogeneidad. A continuación, se tomó una porción de 30 g de cada muestra para obtener una muestra compuesta, la cual se colocó en bolsas plásticas estériles selladas de inmediato. Estas muestras compuestas se almacenaron a una temperatura de 4°C hasta su utilización en el laboratorio.



Figura 4. Ubicación puntos de muestreo de sedimento.



Figura 5. Área de muestreo (antepuerto).

9.2.1 Generación de un microcosmos previo al aislamiento y escalamiento

La muestra se colocó en dos recipientes de vidrio y se incubó durante 30 días a 40 revoluciones por minuto (Figura 6), siguiendo el sistema de microcosmos que permite controlar factores que influyen en la eficacia de los procesos (García *et al.*, 2019). Para ello, se agregó el 90 % de medio mineral (g/L) compuesto por los siguientes reactivos: 6.75 g de NaNO_3 (J.T. Baker, 99.9%), 2.15 g de K_2HPO_4 (J.T. Baker, 99.3%), 1.13 g de KCl (J.T. Baker, 99.9%), 0.54 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker, 100.1%). Además, se añadió el 10 % de la muestra de sedimento recolectada, 1 mL de diésel esterilizado para el primer microcosmo y 1 mL de petróleo para el segundo. Se ajustó el pH a 6.5 con 1.0 N HCl y BaCl_2 al 99 % (Medina *et al.*, 2013).



Figura 6. Elaboración de microcosmos del consorcio microbiano Puerto.

9.2.2 Mantenimiento y escalamiento de biorreactores madre

Posterior a la conformación del microcosmos durante 30 días, se llevó a cabo el escalonamiento del consorcio Puerto (Figura 7). Este proceso se realizó en condiciones estériles utilizando un 90% de medio mineral y un 10% de muestra del consorcio microbiano, con una concentración de 13 g/L de diésel como fuente de carbono. El consorcio Puerto obtenido en el microcosmos se trabajó en matraz Erlenmeyer a un volumen de 250 mL. Mientras que el consorcio hidrocarbonoclasta obtenido por Lizardi & Gutiérrez (2011) en el Golfo de México, se encontraba en mantenimiento y maduración de un año, bajo las mismas condiciones trabajado en matraz Erlenmeyer con volumen de 500 mL (Medina *et al.*, 2013). Además, se ajustó el medio hasta un pH de 6.5 mediante el uso de 1.0 N HCl y BaCl₂ al 99 % y se proporcionó aireación por bombas compresor de oxígeno Elite 800 para Acuarios y/o Peceras de hasta 37.8 L, con un caudal de 1.5 L/m, durante un período de 15 días. Todo esto se hizo con el objetivo de mantener el consorcio en una fase estacionaria y prevenir que la curva de crecimiento decaiga hacia la muerte celular antes de la inoculación en biorreactores de mayor volumen (Quiroga 2021).



Figura 7. Mantenimiento y escalamiento en volumen de consorcios microbianos.

9.2.3 Evaluación del diseño

Se seleccionó el material del biorreactor, considerando las características de los consorcios microbianos para evitar efectos adversos.

9.2.4 Elección de la fuente de carbono

Se eligió un sustrato que contuviera la cantidad adecuada de carbono para satisfacer las necesidades de los microorganismos hidrocarbonoclastas. Se consideró que este sustrato fuera uno de los contaminantes potenciales durante la pandemia de COVID-19. Posteriormente se calculó la cantidad de sustrato que se añadiría a cada biorreactor durante el proceso de inoculación.

9.2.5 Manejo del sustrato

Se seleccionó un tipo específico de cubrebocas como sustrato para cada biorreactor. Con el fin de mejorar la eficiencia del experimento, se llevó a cabo la exclusión de componentes tales como resortes y bordes, ya que se determinó que carecían de cantidades significativas de polipropileno. Seguidamente, el remanente de cada cubrebocas fue meticulosamente fragmentado en pequeñas piezas con el propósito de facilitar su distribución homogénea dentro de los biorreactores (Lizardi & Gutiérrez, 2011; Quiroga, 2021; Isidoro, 2020). Esta cuidadosa preparación del sustrato busca garantizar condiciones óptimas para la investigación y maximizar la obtención de datos relevantes en el estudio.

Las características del cubrebocas utilizado según el distribuidor se describen a continuación:

- 3 capas de protección.
- 100% Polipropileno.
- Plisado.
- Filtro Antibacterial.
- Ajuste nasal Con laminilla flexible para ajuste en tabique nasal.
- Desechable.
- Resistente a líquidos.
- Filtración bacteriana 99%
- Dimensiones; Fondo 8 cm ancho 9 cm longitud 17.5 cm.
- Para uso industrial y personal.
- 3 capas de tela no tejida SMS.

- Resistente a líquidos y fluidos, antiestático, hipo alergénico, con bandas.

Tela no-tejida tipo SMS (Spunbond / Melt-blown / Spunbond). La tela de los cubrebocas tricapa está hecha 100% a base de polipropileno TST, esta mascarilla de tela se encuentra compuesta por tres capas, dos externas de Spunbond y una intermedia de Meltblown (membrana de filtración del tejido de microfibras) (Figura 8). Al combinarse las 3 capas del cubrebocas, se conjuntan las buenas propiedades de ambos tipos de telas. Maximizando las ventajas de protección y minimizando el riesgo de contraer alguna enfermedad.



Figura 8. Tela SMS correspondiente a mascarillas de tipo tricapa.

9.2.6 Densidad del sustrato

Para la determinación de la densidad, se empleó una probeta de 10 mL, la cual fue sometida previamente a tres mediciones de peso. Posteriormente, se procedió a llenar la probeta con el material del cubrebocas hasta alcanzar un nivel de 5 mL, seguido de otras tres mediciones de peso (Figura 9). Este procedimiento proporcionó tres valores individuales, los cuales fueron promediados para obtener el peso total del cubrebocas (Tabla 1). El peso promedio resultante se utilizó posteriormente en la fórmula de densidad para realizar el cálculo correspondiente. Este enfoque meticuloso garantiza una precisión adecuada en la determinación de la densidad del material del cubrebocas.



Figura 9. Sustrato para cálculo de densidad.

Tabla 1. Pesaje del sustrato para obtener densidad.

Objeto	Peso	Peso cubrebocas
Probeta	32.29 g	0.47 g
Probeta con cubrebocas	32.76 g	
Probeta	32.32 g	0.43 g
Probeta con cubrebocas	32.75 g	
Probeta	32.31 g	0.57 g
Probeta con cubrebocas	32.88 g	
Total		1.47 g

Obtención del promedio del peso de cubrebocas en probeta con la siguiente Formula (1).

$$\bar{x} = \frac{1.47 \text{ g}}{3} \quad (1)$$

Obtención de la densidad con la siguiente Formula (2).

$$\rho = \frac{\text{masa}}{\text{volumen}} \quad (2)$$

Obtención de la cantidad de sustrato a inocular con la siguiente Formula (3).

$$m = V * \rho = 13 \text{ gL} * 0.098 \text{ gL} = 1.27 \text{ gL} \quad (3)$$

Se especifica que 1.27 gL serían para un volumen de 1 L.

Obtención de la cantidad de sustrato a inocular con la siguiente Formula (4)

$$m = 3 \text{ L} * 1.27 \text{ gL} \quad (4)$$

9.2.7 Esterilización del sustrato

Después de seleccionar el área apropiada del material, se procedió a cortarlo en fragmentos más pequeños con el objetivo de distribuirlo de manera eficiente en el medio. Para esterilizarlo, se utilizó una autoclave a una temperatura de 121°C (15 lb) durante 15 min.

9.2.8 Inoculación

En la Figura 11 se visualiza la utilización dos biorreactores por columna de burbuja de vidrio debido a las propiedades resistentes del consorcio microbiano, con una relación de altura a diámetro (H/D) = 4 obteniendo un volumen total de 4 L de cada biorreactor, 50 cm de altura, 10 cm de diámetro y 2 mm de grosor. Se trabajó a un volumen de 3 L y se adaptó un difusor en forma de L con siete orificios de 1 mm conectados a mangueras de silicón en cada biorreactor, las cuales se aseguraron con cinchos para mantenerlas en su lugar. Estas mangueras se conectaron a bombas compresoras de oxígeno del modelo Elite 800 para Acuarios y/o Peces de hasta 37.8 L, con un caudal de 1.5 L/m. (Angeles *et al.*, 2017). Se prepararon un total de 2,850 L de medio mineral para cada biorreactor, con 6.75 g de NaNO_3 (J.T. Baker, 99.9%), 2.15 g de K_2HPO_4 (J.T. Baker, 99.3%), 1.13 g de KCl (J.T. Baker, 99.9%), y 0.54 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker, 100.1%), disueltos en agua destilada (Medina *et al.*, 2013). Se inoculó cada biorreactor con 150 ml del consorcio microbiano y se agregó una fuente de carbono (cubre bocas de polipropileno) a una concentración de 13 g/L (Denis *et al.*, 2017) (Figura 10). Se midió y mantuvo el pH en 6.5 mediante el uso de 1.0 N HCl y BaCl_2 al 99 % utilizando un potenciómetro Consor C6010. Para evitar, contaminación externa se colocó tapas de corcho a cada biorreactor adaptadas para la entrada del difusor. Una vez establecidos los biorreactores se dejaron trabajar durante 15 días (Medina *et al.*, 2013).



Figura 10. Inoculación de biorreactores experimentales.



Figura 11. Adaptación de biorreactores de vidrio.

9.2.9 Determinación de pH

Con ayuda de un potenciómetro marca HANNA INSTRUMENTS previamente calibrado, se llevó a cabo la determinación del pH. Para lograr que el valor se mantuviera en 6.5 se

agregó HCl 1 N y BaCl₂ al 99 %.

9.3 Evaluación de la biodegradación del sustrato

Después de 15 días de operación de los biorreactores, se extrajo el sustrato para determinar la cantidad que había sido degradada por el consorcio microbiano. El contenido de cada biorreactor se transfirió a recipientes de vidrio de 1 L y se esterilizó en una autoclave a una temperatura de 121°C (15 lb) durante 20 minutos. Después de alcanzar la temperatura ambiente, se filtró el contenido utilizando una coladera y se lavó con agua destilada durante 3 minutos. Luego, se eliminó la materia orgánica agregando peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 30% y se dejó actuar durante aproximadamente 60 minutos hasta cubrir completamente el sustrato.

Una vez transcurrido el tiempo de remoción de la materia orgánica, se redujo parcialmente la cantidad de peróxido de hidrógeno absorbido por el sustrato. A continuación, se colocó en cápsulas de porcelana y se secó en una estufa a 125°C durante 24 horas hasta que alcanzó un peso constante. Esto se hizo con el fin de obtener el porcentaje de biodegradación. Se presentan las fórmulas utilizadas para calcular la biodegradación. Para obtener un valor por diferencia de peso expresado en gramos se utilizó la siguiente Formula (5) (Quiroga, 2021):

$$P_0 - P_1 = PP \quad (5)$$

Donde:

P_0 = peso inicial, P_1 = peso final y PP = peso perdido

Para determinar el porcentaje de biodegradación, se utilizó la siguiente Formula (6) (Quiroga, 2021):

$$((PP) (100)) / P_0 = \% \text{ de biodegradación } (6)$$

9.3.1 Evaluación física de la biodegradación del sustrato

Se realizó un análisis cualitativo del sustrato obtenido después de haber estado durante 15 días en los biorreactores utilizando un microscopio binocular estereoscópico de color claro marca MICAPSA con una resolución de 4X. Además, se utilizó un microscopio binocular marca OPTIKA modelo B-600B con un objetivo de 40x para llevar a cabo una observación más detallada (Figura 12).

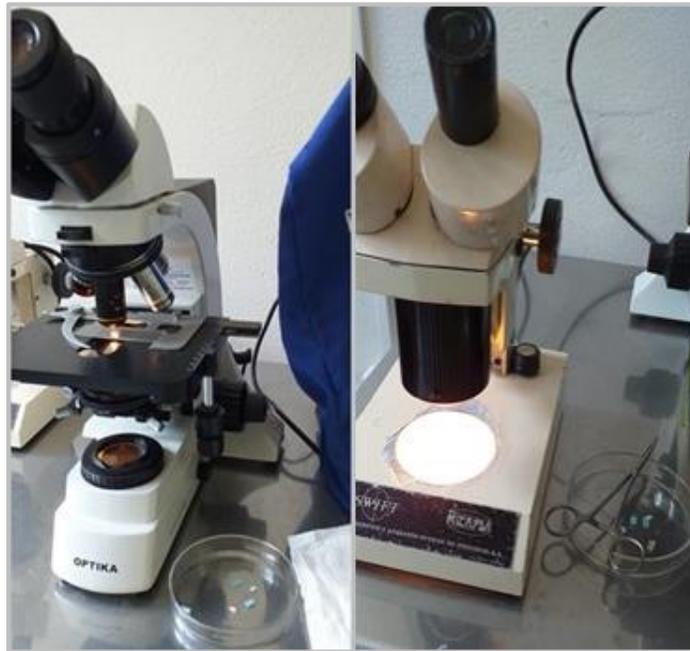


Figura 12. Análisis del sustrato.

9.4 Cinética de crecimiento del consorcio microbiano por la escala de McFarland y espectrofotometría

Se realizó una evaluación del crecimiento bacteriano en el medio utilizando la escala de turbidez conocida como de McFarland. Esta escala se utiliza en microbiología para evaluar la concentración de células en suspensiones microbianas mediante la apreciación visual de la turbidez, proporciona valores numéricos que indican la densidad celular. Esta escala, con valores típicos de 0.5 a 4 que corresponden a diversos niveles de turbidez y concentraciones celulares, se emplea para estandarizar la concentración de microorganismos en preparaciones microbiológicas, como ajuste de la densidad

celular en experimentos. La comparación visual implica cotejar la turbidez de la suspensión con patrones estándar de turbidez en la escala, y cuando coincide visualmente con un valor específico, se asume que la concentración celular es aproximadamente equivalente. Este método simple, aunque rápido y práctico, requiere la habilidad del observador para una precisión adecuada (Koneman *et al.*, 2006; Gerhardt, Murray *et al.*, 1994).

Se llevaron a cabo una serie de disoluciones utilizando cloruro de bario (BaCl_2) y ácido sulfúrico (H_2SO_4). Estas sustancias reaccionaron y generaron un precipitado de sulfato de bario (BaSO_4), lo cual produjo un cambio en la turbidez de las soluciones. Este cambio de turbidez corresponde a una concentración específica de microorganismos en suspensión. Se presentan las equivalencias entre la turbidez de las soluciones de $\text{BaCl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ y la turbidez de los microorganismos en suspensión, de acuerdo con la escala establecida. Se elaboró una curva de calibración por regresión lineal utilizando la escala de McFarland después de medir la absorbancia de las soluciones de sulfato de bario (BaSO_4) preparadas. Los valores fueron obtenidos mediante un espectrofotómetro UV-VIS 300 de la marca Thermo Scientific.

Los resultados de absorbancia obtenidos del espectrofotómetro (D.O. experimental) resultaron positivos según el coeficiente de determinación, y se procedió a representarlos gráficamente en. Cabe resaltar que los valores están significativamente próximos a la línea de tendencia, lo que resultó en un valor de R^2 de 0.99, indicando una mayor precisión en la determinación de la concentración de microorganismos en suspensión.

Posteriormente, con el fin de medir el crecimiento de microorganismos del consorcio presente en el Golfo de México y Puerto, se realizaron pruebas utilizando un espectrofotómetro UV-VIS 300 de la marca Thermo Scientific. Para ello, se tomaron muestras cada 24 horas durante un período de 15 días. Estas muestras se colocaron en una celda de cuarzo y se ajustó el equipo a una longitud de onda de 625 nm para medir la absorbancia mediante espectrofotometría. Los datos de absorbancia obtenidos fueron utilizados en la siguiente fórmula.

Calculo del crecimiento de microorganismos aproximada (UFC/mL) con la siguiente Fórmula (7).

$$\log [UFC / mL] = 3E10x [Abs] + 0.0236 \quad (7)$$

(Escobar *et al.*, 2010)

9.5 Identificación de microorganismos

En el procedimiento de identificación microbiana, se utilizan métodos fenotípicos y bioquímicos. Los métodos fenotípicos se basan en características observables que proporcionan información sobre la morfología, transición, metabolismo y propiedades bioquímicas de los microorganismos. En el caso de que el cultivo presente atributos adecuados para la observación, estos métodos permiten además el aislamiento y la identificación (Bou *et al.*, 2011).

La caracterización fenotípica abarca la realización de pruebas preliminares, como la Tinción de Gram, el análisis morfológico, la evaluación de la catalasa y la prueba de oxidasa. El empleo de estas pruebas suele facilitar una clasificación provisional de las bacterias (Barrow & Feltham, 1993). Con el objetivo de identificar los microorganismos hidrocarbonoclastas presentes en los consorcios microbianos Golfo de México y Puerto en biorreactores experimentales de mayor volumen, responsables de la biodegradación del polipropileno en los cubrebocas, se llevó a cabo la inoculación de muestras de ambos consorcios en medios selectivos. Estos medios incluyeron Agar Pseudomonas F, Agar Pseudomonas P, Agar Bilis Esculina, Agar MacConkey, Agar TCBS y Agar Endo, y fueron incubados durante 24 horas a una temperatura de 35°C (Figura 13).

Después del período de incubación, se procedió a sembrar las colonias aisladas de los medios selectivos en Agar de Soja Trípico (TSA) y se incubaron a 35°C durante 24 horas. Posteriormente, se seleccionaron las colonias aisladas para realizar la tinción de Gram, con el fin de observar las características morfológicas de las bacterias empleando un microscopio binocular marca OPTIKA modelo B-600B con un objetivo de 40x. También se llevaron a cabo pruebas de oxidasa y catalasa en las colonias seleccionadas.



Figura 13. Elaboración de medios selectivos.

9.5.1 Morfología macroscópica y microscópica de los microorganismos

La morfología macroscópica se centra en las características visibles a simple vista de las colonias de bacterias cuando se desarrollan en medios de cultivo sólidos. Estas características, que incluyen el tamaño, forma, color, textura de la superficie y bordes de la colonia, ofrecen información valiosa sobre la apariencia global y las propiedades físicas de las colonias bacterianas. La evaluación de estos aspectos macroscópicos, como el tamaño de la colonia, su forma específica, el color que puede variar según la producción de pigmentos, la textura de la superficie y la configuración de los bordes, resulta esencial en la identificación preliminar de bacterias. Estas observaciones complementan la información obtenida mediante técnicas microscópicas y de tinción, consolidando así la morfología macroscópica bacteriana como una componente integral en los estudios microbiológicos (Figura 14) (Barrow & Feltham, 1993; Pérez & Mota, 2008; Tortora *et al.*, 2007; Vargas & Kuno, 2014). La morfología microscópica bacteriana abarca las características estructurales y morfológicas de las bacterias observadas a través de un microscopio, desempeñando un papel crucial en su identificación y clasificación. Estos detalles, que incluyen la forma diversa como esferas (cocos), bastones (bacilos) o espirales, así como la variabilidad en longitud y ancho, son determinantes para su

reconocimiento. La agrupación bacteriana, como diplococos, estreptococos o estafilococos, también se considera relevante. Además, ciertas bacterias exhiben estructuras distintivas, como flagelos para la movilidad o esporas para resistir condiciones adversas. Las tinciones específicas, como la tinción de Gram, proporcionan información adicional al diferenciar entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Baker & Breach, 1990; Barrow & Feltham, 1993; Pérez & Mota, 2008; Vargas & Kuno, 2014).

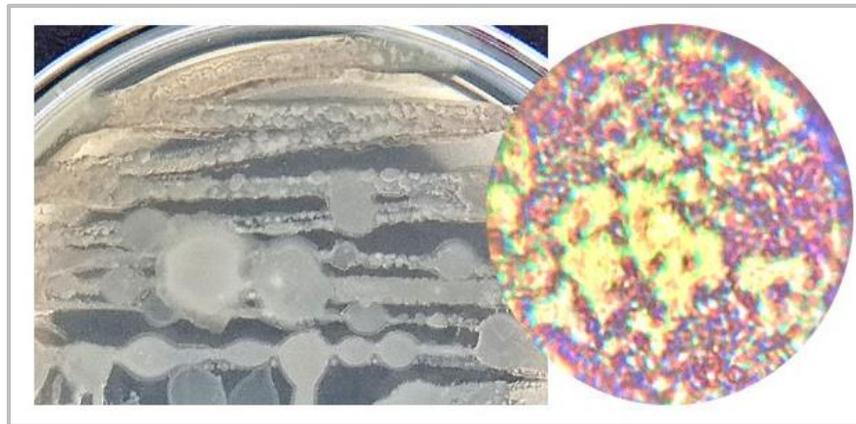


Figura 14. Pseudomonas Agar F y gram negativo.

9.5.2 Tinción de Gram

La tinción de Gram, concebida por Hans Christian Gram en 1884, emerge como una técnica primordial en el campo de la microbiología al permitir la distinción de bacterias en dos categorías fundamentales: Gram-positivas y Gram-negativas, basándose en las características de su pared celular (Tabla 2). El procedimiento comprende la aplicación secuencial de cristal violeta, yodo, alcohol o acetona, y safranina (Figura 15), lo cual resulta en la retención del color violeta para las bacterias Gram-positivas y la adquisición de un matiz rojo para las Gram-negativas (Barrow & Feltham, 1993; Pérez & Mota, 2008; Rodríguez & Arenas, 2018).

Tabla 2. Diferencias entre bacterias (Rodríguez y Arenas, 2018).

	Bacterias Gram positivas	Bacterias Gram negativas
Color con tinción Gram	Violeta	Rojo
Pared celular	Gruesa	Delgada
Presencia de lipopolisacáridos en pared celular	Ausente	Presente
Presencia de ácidos lipoteicoicos y teicoicos en pared celular	Presente	Ausente



Figura 15. Elaboración de tinción de Gram

9.5.3 Prueba de Oxidasa

La prueba de oxidasa en microbiología se utiliza para detectar la presencia de enzimas, especialmente el citocromo oxidasa, en microorganismos. Esta enzima, vinculada a la cadena de transporte de electrones, facilita la transferencia de electrones al oxígeno molecular. El procedimiento implica la aplicación de la muestra en escobillones impregnados con reactivo de oxidasa (N-N-dimetil-p-fenilenediamina diclorhidrato, 10 mg) (Figura 16). Si la bacteria es oxidasa-positiva, se produce un cambio de color en el papel morado debido a la oxidación del reactivo. Una reacción positiva indica que el microorganismo puede utilizar oxígeno como aceptor final de electrones en su cadena de transporte de electrones. Un cambio a color amarillo o incolora indica reacción negativa, por lo tanto, el organismo no emplea oxígeno como aceptor final de electrones en su cadena de transporte electrónico. Esta prueba es valiosa para diferenciar entre bacterias oxidasa-positivas, como *Pseudomonas*, y bacterias oxidasa-negativas, como *Enterobacterias*, proporcionando detalles sobre su capacidad metabólica específica en

relación con el oxígeno (Tortora *et al.*, 2007; Romero *et al.*, 2019).



Figura 16. Elaboración de prueba Oxidasa.

9.5.4 Prueba de Catalasa

La prueba de catalasa se utiliza para detectar la presencia de la enzima catalasa en bacterias. Esta enzima tiene la capacidad de degradar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, y su presencia está asociada con diversos grupos bacterianos. El procedimiento implica aplicar peróxido de hidrógeno a una muestra bacteriana, y la observación de la liberación de burbujas de oxígeno indica la actividad catalítica de la enzima, confirmando una prueba de catalasa positiva (Figura 17). Este método es valioso para discernir entre bacterias que son catalasa-positivas, como *Staphylococcus*, y aquellas que son catalasa-negativas, como *Streptococcus* y *Enterococcus* (Tortora *et al.*, 2007; Romero *et al.*, 2019).



Figura 17. Elaboración de prueba Catalasa.

9.6 Integración de datos

9.6.1 Datos de la biodegradación del sustrato

Sea realizó una base de datos en Excel para concentrar los datos en la biodegradación del sustrato para cada consorcio obtenidos después de lavado, secado y pesaje, así como de la aplicación de las formulas mencionadas anteriormente. En la tabla se presenta, P_0 = peso inicial, P_1 = peso final y P_P = peso perdido.

9.6.2 Datos de la cinética de crecimiento de los consorcios microbianos

Los datos obtenidos mediante un espectrofotómetro UV-VIS 300 de Thermo Scientific para generar la curva de calibración se registraron en Excel. Se consideró el registro de la absorbancia de las soluciones de sulfato de bario ($BaSO_4$) como parte de la escala de McFarland, que representó los niveles de UFC/ml a través de la variación en la turbidez. Posteriormente, mediante la aplicación de un modelo de regresión lineal a los datos registrados para la calibración, se obtuvo la ecuación para el cálculo específico de crecimiento microbiano para los consorcios en estudio. Para facilitar la comprensión, se graficaron los datos obtenidos en la calibración.

Por consiguiente, se capturaron en Excel, cada 24 horas durante 15 días, las absorbancias obtenidas para cada muestra de medio inoculado en los biorreactores, y luego se incorporaron los datos resultantes de la aplicación de la fórmula para UFC/ml. A partir de estos datos, se generaron dos gráficos de cinética de crecimiento microbiano, uno para cada consorcio. Estas representaciones gráficas resultaron útiles al mostrar las variaciones en las absorbancias en relación con el crecimiento de los microorganismos a lo largo del tiempo. Este enfoque permitió evaluar la estabilidad y comparar el crecimiento de cada consorcio durante la cinética.

9.6.3 Datos de la identificación microbiana

En primer lugar, se ingresaron los datos en una base de datos en Excel, a partir de la cual se creó una tabla que considera los medios selectivos utilizados, las bacterias identificadas, las características fenotípicas y las imágenes de los microorganismos que crecieron en los medios selectivos. En una segunda tabla, se registraron los medios

selectivos utilizados, las bacterias identificadas, las características bioquímicas relacionadas con la catalasa y la oxidasa, la estructura de Gram y las imágenes de los microorganismos. Esto facilitó la identificación y comparación entre los microorganismos presentes en cada consorcio microbiano.

X RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1 Elección de la fuente de carbono

Durante la pandemia de COVID-19, los cubrebocas se convirtieron en una medida esencial para contener la propagación del virus, superando a otras alternativas en eficacia y convirtiéndose en la elección predominante a nivel mundial. A pesar de su efectividad en términos de salud pública, el uso generalizado de cubrebocas ha tenido un impacto ambiental adverso, generando una cantidad significativa de residuos plásticos de un solo uso (Figura 18).

Ante este escenario, la necesidad de encontrar soluciones para reducir el impacto ambiental de las mascarillas se ha vuelto apremiante. En este contexto, surge la exploración del potencial de las mascarillas como una fuente de carbono, con el objetivo de aprovechar y transformar estos materiales en recursos que tengan menor impacto en el ambiente.

Para llevar a cabo este estudio, se decidió emplear cubrebocas de tres capas, que son comúnmente fabricadas con polipropileno. Esta elección se basa en la composición del polipropileno, un polímero ampliamente utilizado en la fabricación de este producto debido a sus propiedades de filtración y durabilidad. Investigar la viabilidad de convertir estos cubrebocas en una fuente de carbono no solo aborda la problemática de los residuos plásticos, sino que también podría ofrecer una solución innovadora para mitigar el impacto ambiental de este elemento crucial en la lucha contra la pandemia.



Figura 18. Cubrebocas tricapa en vía pública.

10.2 Evaluación de la biodegradación del sustrato

Tras someter las muestras a un proceso de eliminación de biomasa hasta alcanzar un peso constante, se procedió a cuantificar la biodegradación del sustrato (Figura 19). En la tabla 3 se presentan los valores obtenidos, incluyendo el peso inicial, que corresponde al peso de los crisoles al llegar al peso constante; el peso húmedo, que representa el peso de la muestra en el crisol en estado húmedo; y, por último, el peso seco. Este análisis proporciona una evaluación completa de las variaciones en el peso de las muestras a lo largo del proceso de eliminación de biomasa, ofreciendo así una visión detallada de la biodegradación del sustrato.

Tabla 3. Valores del peso de las muestras de cubrebocas en crisoles.

Consortio	Peso inicial (g)	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Cubrebocas
Puerto	76.2389	100.766	80.123	Tricapa
Golfo de México	77.2155	104.507	80.4038	Tricapa



Figura 19. Secado y pesaje de sustrato.

En la Tabla 4 se presentan los porcentajes de biodegradación de los cubrebocas, los cuales se calcularon a partir de los valores de la cantidad inicial de sustrato introducido en cada biorreactor, que fue de 3.822 g y se redondeó a 4 g para un volumen de trabajo de 3 L, considerando la densidad de 0.098 g/mL del cubrebocas tricapa. Estos cálculos detallados en la metodología fueron empleados para determinar los porcentajes. Se destaca que el consorcio del Golfo de México alcanzó el mayor porcentaje de biodegradación, mientras que el consorcio Puerto mostró el menor porcentaje de biodegradación.

Tabla 4. Biodegradación de cubrebocas en biorreactores con consorcio microbiano.

Biodegradación de cubrebocas					
Consortio	Cubrebocas	P_0 (g)	P_1 (g)	P_p (g)	% Biodegradación
Puerto	Tricapa	4	3.8841	0.151	3.77
Golfo de México	Tricapa	4	3.1884	0.7992	19.98

10.2.1 Evaluación física de la biodegradación del sustrato

En la Figura 20, se aprecia una separación entre las fibras del sustrato sometido a la biodegradación por los consorcios microbianos, en comparación con el sustrato intacto. Las aberturas de las fibras en el sustrato expuesto al consorcio Puerto son más pequeñas que las presentes en el sustrato tratado por el consorcio Golfo de México. Estos cambios estructurales fueron más evidentes en los microplásticos tratados con el consorcio Golfo de México. Sin embargo, indica que el sustrato experimentó cambios estructurales durante los 15 días de cinética de biodegradación en ambos biorreactores. Mientras que en la Figura 21, se resalta que, en las muestras intactas, los bordes son uniformes y las fibras se presentan compactas. En contraste, en las muestras sometidas a biodegradación, los bordes se vuelven irregulares, y las fibras que constituyen las capas muestran una mayor apertura y menor uniformidad. Este cambio es aún más evidente en el sustrato sometido al consorcio del Golfo de México.

Es relevante destacar que, a lo largo del periodo cinético de observación de 15 días, se evidenció una modificación en la saturación del color. Especialmente en el sustrato expuesto al consorcio Puerto, se notó un leve amarillamiento, posiblemente relacionado con el desarrollo de biomasa. Por otro lado, el sustrato tratado con el consorcio Golfo de México experimentó una disminución ligera en la saturación, adoptando un tono más suave.

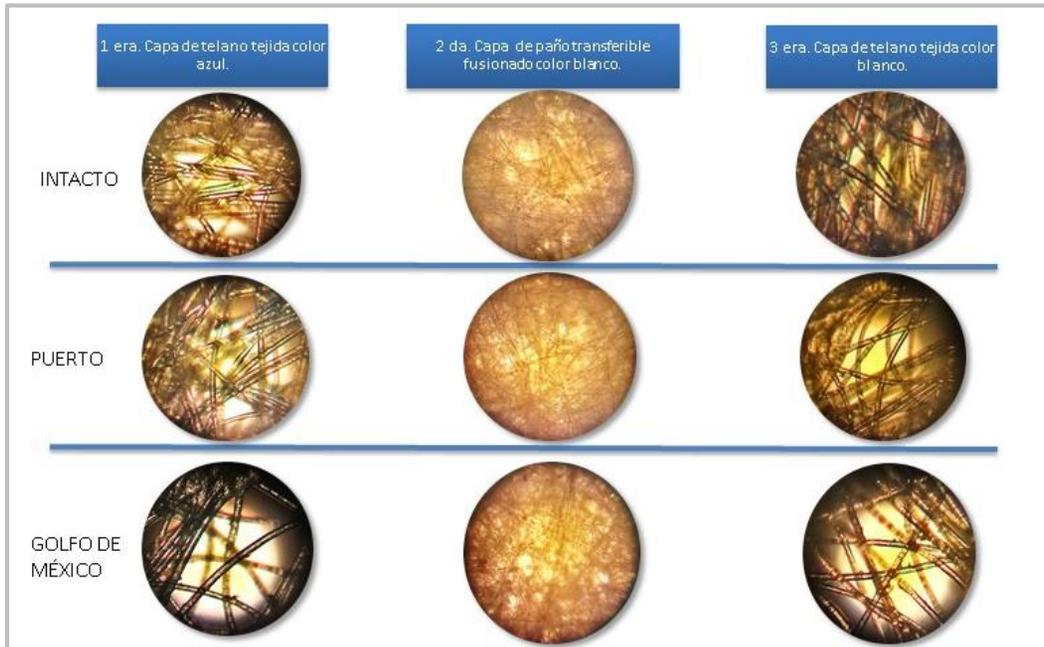


Figura 20. Muestras de cubrebocas tricapa antes y después de la biodegradación observadas en microscopio binocular de marca OPTIKA modelo B-600B con un objetivo de 40X.

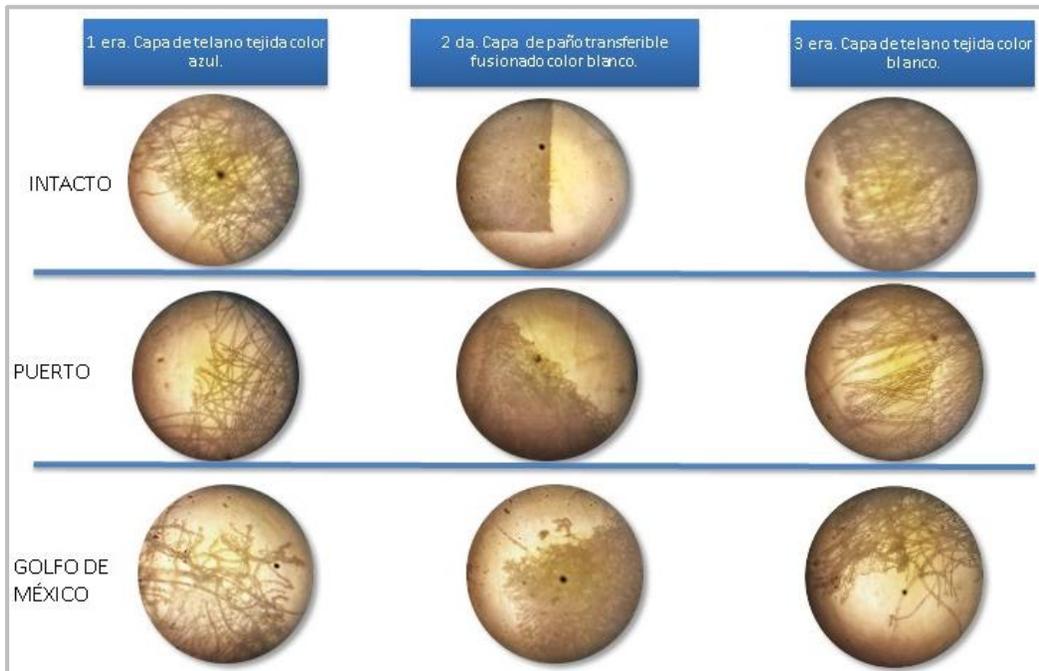


Figura 21. Muestras de cubrebocas tricapa antes y después de la biodegradación observadas en microscopio binocular estereoscópico de marca MICAPSA con una resolución de 4X.

Los hallazgos de este estudio cobran relevancia al presentar similitudes con la investigación realizada por Narciso *et al.*, (2020). En dicho estudio, se evidenció que cepas bacterianas aisladas de un bosque mostraron la capacidad de degradar tereftalato de polietileno componente de microplásticos recolectados de sedimentos en el estado de Veracruz, México, en donde, los microplásticos presentaron modificaciones físicas como grietas, cavidades, erosión y agujeros en la superficie, los cuales se atribuyeron al proceso de biodegradación llevado a cabo por los microorganismos. Lo que está en línea con lo notado en el sustrato de polipropileno de nuestra investigación, donde los bordes se volvieron irregulares y las fibras mostraron una mayor separación entre sí. Adicionalmente, se llevó a cabo la evaluación del consorcio microbiano compuesto por *Xanthomonas sp.*, *Acinetobacter bouvetii*, *Shewanella sp.* y *Aquamicrobium lusatiense*, el cual fue previamente aislado de un área contaminada con petróleo en Veracruz según la investigación de (Tzintzun, *et al.*, 2012). Esta evaluación tenía como objetivo determinar la capacidad del consorcio para degradar diésel a una concentración de 20 g/L, logrando este proceso en un lapso de 10 días mediante la utilización de un biorreactor airlift.

De igual manera, en el estudio realizado por Valdivia (2023) se evaluó la capacidad de un consorcio bacteriano aerobio para degradar polipropileno (PP) y polietileno (PE) en entornos tanto líquidos como sólidos. Los resultados revelaron que el consorcio logró degradar aproximadamente un 8.15% de PP y un 10.12% de PE. Estos hallazgos confirman que el consorcio utiliza exclusivamente los polímeros plásticos como fuente de carbono para llevar a cabo sus actividades metabólicas. Esto sugiere que los consorcios investigados en nuestro estudio también tienen la capacidad de metabolizar el sustrato de polipropileno como fuente de carbono, además de ser aerobios. Por lo cual, lograron un porcentaje de biodegradación; en este caso, el consorcio Puerto alcanzó un 3.77%, mientras que el consorcio Golfo de México logró un 19.98%, todo ello en un período cinético de 15 días.

10.3 Cinética de crecimiento del consorcio microbiano mediante la escala de McFarland y espectrofotometría

En la Tabla 5 se presentan los resultados de absorbancia obtenidos del espectrofotómetro (D.O. experimental) utilizando la escala de McFarland. Estos resultados resultaron positivos según el coeficiente de determinación, y se procedió a representarlos gráficamente en la Figura 22.

Tabla 5. Absorbancia experimental obtenida de turbidez estándar.

Número de turbidez estándar	Densidad de bacterias aproximada (UFC/mL)	D.O. Experimental
0.5	1.50E+08	0.079
1	3.00E+08	0.111
2	6.00E+08	0.236
3	9.00E+08	0.362
4	1.20E+09	0.434
5	1.50E+09	0.546
6	1.80E+09	0.615
7	2.10E+09	0.735
8	2.40E+09	0.825
9	2.70E+09	0.958
10	3.00E+09	1.078

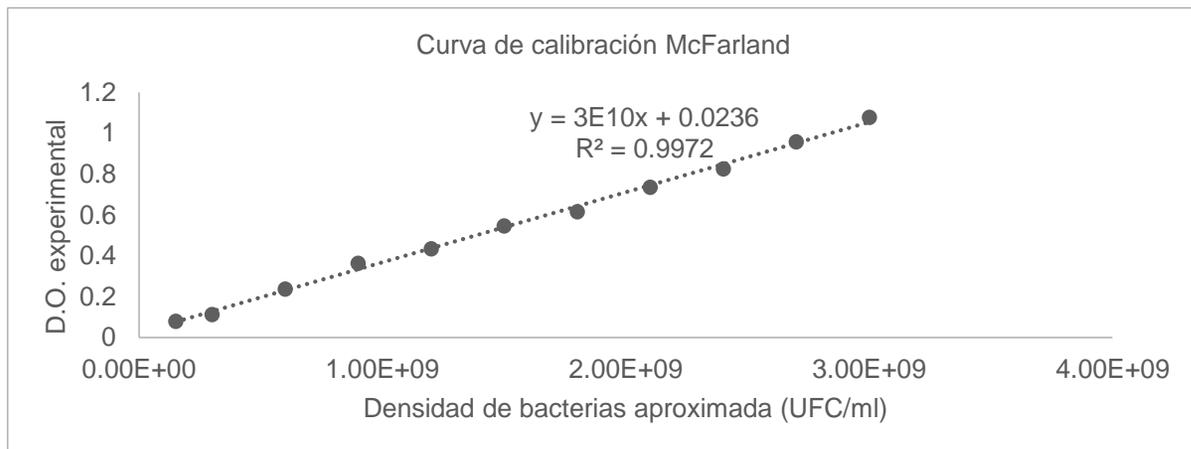


Figura 22. Curva de calibración experimental de la absorbancia frente a la densidad bacteriana.

10.3.1 Cinética de crecimiento del consorcio Golfo de México (BR1)

En la Tabla 6 y la Figura 23 se presentan los valores de absorbancia correspondientes al biorreactor 1. Se destaca que en el día 5 se observa un aumento significativo en el crecimiento bacteriano durante la fase exponencial. Posteriormente, en el día 6, se registra una disminución en el crecimiento bacteriano, seguida por un aumento en el día 7, marcando así el inicio de la fase estacionaria. Aunque el día 13 muestra un valor bajo de densidad bacteriana, indicando el inicio de la fase de muerte, los días 14 y 15 muestran un leve incremento en el crecimiento bacteriano.

Tabla 6. Absorbancia experimental obtenida de las muestras tomadas del biorreactor 1.

BR 1		
Días de crecimiento	D.O. Experimental	Densidad de bacterias aproximada (UFC/ml)
0	0.359	1.08E+10
1	0.691	2.07E+10
2	0.854	2.56E+10
3	0.998	2.99E+10
4	0.992	2.98E+10
5	1.088	3.26E+10
6	0.916	2.75E+10
7	1.047	3.14E+10
8	1.035	3.11E+10
9	0.973	2.92E+10
10	0.85	2.55E+10
11	0.751	2.25E+10
12	0.827	2.48E+10
13	0.672	2.02E+10
14	0.712	2.14E+10
15	0.836	2.51E+10



Figura 23. Cinética de crecimiento microbiano del biorreactor 1.

10.3.2 Cinética de crecimiento del consorcio Golfo de México (BR1)

En la Figura 24, correspondiente al biorreactor 2, se destaca que el día 1 exhibe el resultado más alto, señalando el comienzo de la fase exponencial después de la etapa de latencia. Los días 2 a 5, 7, 13 y 14 presentan valores bajos y similares en la densidad bacteriana. El incremento registrado en el día 6 no se vincula con la fase exponencial. Por otro lado, los días 5, 8, 9, 10, 11, 12 y 15 muestran los valores más bajos. En la Tabla 7, la cinética de crecimiento bacteriano del consorcio Puerto revela una variabilidad significativa, posiblemente atribuible a su condición de consorcio joven, lo que sugiere la necesidad de un mayor período de madurez.

Tabla 7. Absorbancia experimental obtenida de las muestras tomadas del biorreactor 2.

BR 2		
Días de crecimiento	D.O. Experimental	Densidad de bacterias aproximada (UFC/ml)
0	0.05	1.500E+09
1	0.145	4.350E+09
2	0.041	1.230E+09
3	0.043	1.290E+09
4	0.059	1.770E+09
5	0.033	9.900E+08
6	0.104	3.120E+09
7	0.061	1.830E+09
8	0.012	3.600E+08
9	0.01	3.000E+08
10	0.06	1.800E+09
11	0.036	1.080E+09
12	0.035	1.050E+09
13	0.059	1.770E+09
14	0.055	1.650E+09
15	0.035	1.050E+09



Figura 24. Cinética del crecimiento microbiano del biorreactor 2.

Los consorcios fueron trabajados siguiendo la metodología y recomendaciones de Medina *et al.*, 2013, lo que implicó mantener el medio con un pH de 6.5. Sin embargo, la temperatura se mantuvo a nivel ambiente y fue variable, lo cual podría haber interferido en el crecimiento bacteriano de cada consorcio. Además, el consorcio Golfo de México fue mantenido durante un año antes de someterlo a la prueba de biodegradación, mientras que el consorcio Puerto estuvo en adaptación en microcosmos durante 30 días y se llevó a cabo un escalamiento con un mantenimiento de 15 días previo a la prueba de biodegradación. Por lo tanto, se puede inferir que el consorcio Golfo de México contaba con una mayor madurez y adaptación al medio en comparación con el consorcio Puerto.

Esto concuerda con las conclusiones de Gutierrez, 2018, quien resalta la importancia de factores como el pH del medio y la temperatura en el crecimiento microbiano, así como, en el proceso de biodegradación del polietileno de baja densidad por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. Cabe destacar que esta bacteria también se encuentra presente en los consorcios analizados en nuestra investigación. Además, Tirado, et al., 2015, indicaron que la biodegradación de residuos puede retrasarse o incluso no ocurrir cuando las poblaciones microbianas tienen bajas densidades. Esto se alinea con los resultados de biodegradación, donde el consorcio Puerto mostró un menor porcentaje de biodegradación y una cinética de crecimiento microbiano inestable con valores menores en comparación con el consorcio Golfo de México. Este último obtuvo un mayor porcentaje de biodegradación y una cinética de crecimiento microbiano más estable con valores superiores en la densidad.

10.4 Identificación bacteriana de los consorcios Puerto y Golfo de México

Las muestras de los consorcios microbianos sembrados en medios de cultivo selectivos ayudó a estimular el crecimiento de ciertos tipos de bacterias, al mismo tiempo que se inhibió el desarrollo de otros. A través de este enfoque selectivo, se obtuvieron colonias puras de microorganismos específicos, lo que facilita la identificación y el análisis subsiguiente.

Después de la incubación en estos medios, se llevó a cabo la observación de las colonias resultantes. Para una identificación más precisa, fueron necesarios pasos adicionales,

como pruebas bioquímicas de oxidasa, catalasa y tinciones de Gram. Este enfoque selectivo permitió realizar un análisis más minucioso y específico de la composición bacteriana en un entorno particular.

Las bacterias encontradas en los consorcios se consideran hidrocarbonoclastas facultativas, ya que fueron capaz de adaptarse al microcosmos previo a su escalamiento y al medio mineral en el que fueron inoculados, demostrando su capacidad degradadora. Se identificaron 6 géneros de bacterias, Enterobacteriales (*Escherichia coli*, *Shigella flexneri* y *Salmonella Typhimurium*), Vibrionales (*Vibrio parahaemolyticus*), Lactobacillales (*Enterococcus faecalis* y *Streptococcus pyogenes*), Pseudomonadales (*Pseudomonas aeruginosa*), Burkholderiale (*Burkholderia cepacia*) y *Stenotrophomonas (Stenotrophomonas maltophilia)* (Tabla 8). Según, Castañeda *et al.*, (2022) para el caso de, *Escherichia coli* se menciona que es una bacteria patógena, pero también se ha observado que es tolerante a la presencia de contaminantes por hidrocarburos en su entorno; Por otro lado, *Pseudomonas* y *Burkholderia* son de las bacterias que crecen en diferentes ambientes y logran degradar hidrocarburos, así como derivados en suelos y agua (Hamdan, 2004; Cuellar *et al.*, 2004).

Stoeck *et al.*, (2002) señalan que el sedimento desempeña un papel crucial al actuar como un soporte que promueve el crecimiento de los microorganismos, además de facilitar la mineralización de los hidrocarburos. Esto implica que estos microorganismos metabolizan de manera eficiente la fuente de carbono proporcionada por los hidrocarburos. Conforme a lo indicado por Pucci *et al.*, (2010) la exposición constante de microorganismos en sedimentos o líquidos a hidrocarburos debido al tráfico marítimo conlleva a una adaptabilidad y un aumento en la densidad microbiana con habilidades hidrocarbonoclastas. Es importante resaltar que los consorcios Puerto y Golfo de México fueron obtenidos de sedimentos situados en zonas expuestas a derrames de hidrocarburos o tráfico marítimo, como se mencionó previamente. Estos consorcios están compuestos por microorganismos que se han adaptado al entorno en el que crecieron, mostrando la capacidad de metabolizar el hidrocarburo presente en su ambiente.

Al realizar la tinción de Gram, los microorganismos identificados mostraron una estructura Gram negativa en los dos consorcios analizados, mientras que la prueba de

catalsa resultado positiva para todos los géneros encontrados. Por otro lado, la prueba de oxidasa dio positiva para la mayoría a excepción de *Enterococcus faecalis* el cual fue negativo (Tabla 9). Esto reviste gran importancia, ya que (Atlas & Bartha, 2008; Ruberto, Vazquez, & Mac Cormack, 2003; Narváez *et al.*, 2008; Ueno *et al.*, 2006; Jaramillo *et al.*, 2010), señalan que, según sus investigaciones, la mayoría de los microorganismos aislados y con una mejor capacidad de adaptación fueron Gram negativos. Estos se distinguen por su capacidad hidrocarbonoclastas, atribuida a la presencia de lipopolisacáridos en su membrana, lo que facilita la formación de emulsiones de hidrocarburos en entornos acuosos.

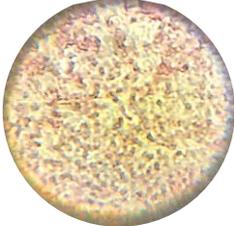
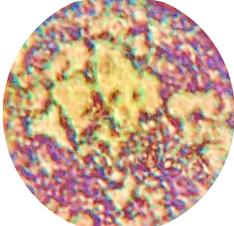
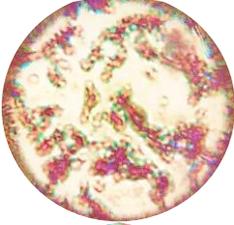
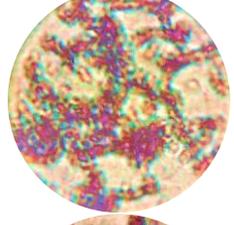
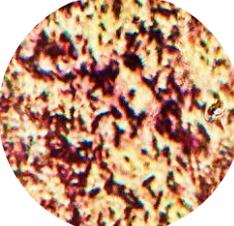
Tabla 8. Identificación de bacterias en medios selectivos.

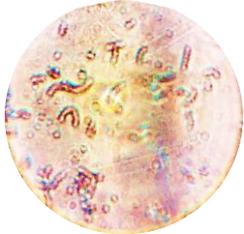
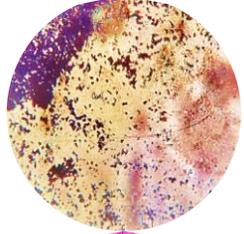
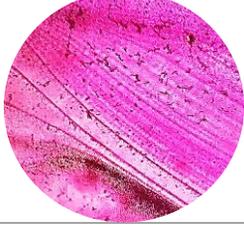
Consorcio Puerto			
Medio selectivo	Bacteria	Características fenotípicas	Imagen
Billis Esculina	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Inhibición (parcial a completa), ausencia de oscurecimiento.	
Pseudomonas Agar P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .	1. Colonias azul verdosas, pigmento verdoso que se difunde en el medio circundante; fluorescencia bajo luz UV. 2. Colonias de color entre beige y verde claro; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV. 3. Colonias de color beige; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV. 4. Colonias de color beige; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV.	
Pseudomonas Agar F	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> .	1. Colonias azul verdosas, pigmento verdoso que se difunde en el medio circundante; fluorescencia bajo luz UV. 2. Colonias de color entre beige y verde claro; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV. 3. Colonias de color beige; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV.	
ENDO	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i> , <i>Shigella flexneri</i> .	1. Colonias rosa oscuro a rojizo con un brillo verde metálico. Puede ocurrir un marcado enrojecimiento del medio. 2. Colonias incoloras o rosa tenue. 3. Colonias incoloras o rosa tenue y ligeramente más rosa que las colonias de Salmonella.	
TCBS	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Crecimiento de regular a excelente; colonias de color de verde a verde azulado; medio prácticamente sin cambios.	

Consorcio Golfo de México

Billis Esculina	<i>Enterococcus faecalis</i>	Crecimiento, oscurecimiento alrededor de las colonias (oscurecimiento de la mitad o más del medio).	
Pseudomonas Agar P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .	1. Colonias azul verdosas, pigmento verdoso que se difunde en el medio circundante; fluorescencia bajo luz UV. 2. Colonias de color entre beige y verde claro; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV. 3. Colonias de color beige; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV. 4. Colonias de color beige; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV.	
Pseudomonas Agar F	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> .	1. Colonias azul verdosas, pigmento verdoso que se difunde en el medio circundante; fluorescencia bajo luz UV. 2. Colonias de color entre beige y verde claro; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV. 3. Colonias de color beige; sin pigmento; sin fluorescencia bajo luz UV.	
ENDO	<i>Escherichia coli</i>	1. Colonias rosa oscuro a rojizo con un brillo verde metálico. Puede ocurrir un marcado enrojecimiento del medio. 2. Colonias incoloras o rosa tenue. 3. Colonias incoloras o rosa tenue y ligeramente más rosa que las colonias de Salmonella.	

Tabla 9. Identificación de bacterias (Catalasa, Oxidasa y Gram).

Consortio Puerto					
Medio selectivo	Bacteria	Catalasa	Oxidasa	Gram	Imagen
Billis Esculina	<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	+	Negativa (Diplococos-cocobacilos)	
Pseudomonas Agar P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .	+	+	Negativa (Diplococos-cocobacilos)	
Pseudomonas Agar F	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> .	+	+	Negativa (Diplococos-cocobacilos)	
ENDO	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i> , <i>Shigella flexneri</i> .	+	+	Negativa (Diplococos-bacilos-cocobacilos)	
TCBS	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+	+	Negativa (Diplococos-bacilos-cocobacilos)	
Consortio Golfo de México					
Billis Esculina	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	-	Negativa (Diplococos-bacilos-cocobacilos)	

Pseudomonas Agar P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .	+	+	Negativa (Diplococos-bacilos- bacilo curvo-vibrio)	
Pseudomonas Agar F	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Escherichia coli</i> .	+	+	Negativa (Diplococos-bacilos- bacilo curvo-vibrio)	
ENDO	<i>Escherichia coli</i>	+	+	Negativa (Diplococos-bacilos- cocobacilos)	

XI CONCLUSIÓN

El consorcio bacteriano del Golfo de México demostró una mayor capacidad de biodegradación de los microplásticos presentes en los cubrebocas tricapa de polipropileno, alcanzando un 19.98% de biodegradación, en comparación con el 3.77% logrado por el consorcio Puerto.

La cinética del crecimiento bacteriano del consorcio Golfo de México, evaluada a través de la escala McFarland y espectrofotometría, muestra los valores de absorbancia más estables. En contraste, en la cinética del crecimiento bacteriano del consorcio Puerto, se observa una notable inestabilidad a lo largo de los 15 días de evaluación.

Las bacterias aerobias presentes en los consorcios se clasifican como hidrocarbonoclastas facultativas, ya que demostraron su capacidad de adaptación tanto en el microcosmos antes del escalamiento como en el medio mineral en el que fueron inoculadas, evidenciando así su habilidad degradadora. Entre las bacterias más abundantes se encuentran *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Enterococcus faecalis*.

Por tanto, resulta crucial profundizar en el estudio de posibles mejoras en el proyecto para futuras aplicaciones. Entre estas mejoras se incluyen la optimización del biorreactor empleado, la concentración de consorcios microbianos para la inoculación, y la ejecución de un análisis de metagenómica. Este último permitiría obtener una comprensión más precisa y detallada de la diversidad y el funcionamiento de las comunidades microbianas en su totalidad.

Aunque se han logrado avances significativos en la biodegradación de cubrebocas de un solo uso mediante consorcios microbianos en condiciones controladas, persisten desafíos para alcanzar una biodegradación completa en un periodo breve. Por ende, es crucial explorar mejoras adicionales en el proyecto para futuras aplicaciones. Estas mejoras podrían incluir la optimización del biorreactor utilizado, el ajuste de la concentración de consorcios microbianos para la inoculación, y la implementación de un análisis de metagenómica. Este último enfoque permitiría obtener una comprensión más concreta y detallada de la diversidad y el funcionamiento de las comunidades microbianas en su conjunto.

XII REFERENCIAS

- Acuña, A., Pucci, G., Morales, M., & Pucci, O. (2010). Biodegradación de petróleo y sus derivados por la comunidad bacteriana en un suelo de la Patagonia, Argentina. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.*, 30(1), 29-36.
- Allsopp, M., Walters, A., Santillo, D., & Johnston, P. (2007). *Contaminación por plásticos en los océanos del mundo*. Retrieved septiembre 12, 2022, from Greenpeace: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://www.bionica.info/biblioteca/allsopp2007contaminacion.pdf
- Angeles, O., Medina, M. S., Jiménez, G. A., Coreño, A. A., & Lizardi J, M. A. (2017). Predominant mode of diesel uptake: Direct interfacial versus emulsification multiphase bioreactor. *Chemical Engineering Science*, 165, 108 - 112.
- Anzures, A., Govela, A., Hernández, A. F., Martínez, A. M., & Rangel, N. (2022). Efecto protector de los cubrebocas en épocas de covid 19. Estudio experimental. *Archivos de medicina, salud y educación médica*, 2 - 9.
- Arzata, S. (2012). El mundo del petróleo: origen, usos y escenarios. *Fondo de Cultura Económica*.
- Atlas, R., & Bartha, R. (2008). *Ecología microbiana y microbiología ambiental* (4 ed.). Pearson Educación.
- Avellaneda, T. L., Melgarejo, L. M., Narváez, C. E., & Sánchez, J. N. (2012). Actividades enzimáticas en consorcios Bacterianos de Suelos Bajo Cultivo de Papa con Manejo Convencional y Bajo Pastizal. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(1), 6349-6360.
- Baker, F., & Breach, M. (1990). *Manual de técnicas de microbiología médica*. España: Acribia.
- Barradas, R. (2009). *Gestión integral de residuos sólidos municipales: estado del arte*. Miantilán, Veracruz, México: Gytsu.

- Barrow, G. I., & Feltham, R. K. (1993). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. *Cambridge University Press*, 21 - 164. doi:<https://doi.org/10.1017/CBO9780511527104>
- Benson, N. U., Bassey, D. E., & Palanisami, T. (2021). Contaminación por COVID: impacto de la pandemia de COVID-19 en la huella global de residuos plásticos. *Heliyon*, 7(2). doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06343>
- Bou, G., Fernández, O. A., García, C., Sáez, N. J., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.*, 29(8), 601 - 608.
- Bracho, M., Díaz, L., & Soto, L. M. (2004). Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y heterocíclicos por *Pseudomonas* spp. *Ciencia*, 12(4). Retrieved from <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9226>
- Bracho, M., Díaz, L., & Soto, L. M. (2009). Degradación de hidrocarburos aromáticos por bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo en el estado Zulia, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 38(3). Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/356290348_Degradacion_de_hidrocarburos_aromaticos_por_bacterias_aisladas_de_suelos_contaminados_con_petroleo_en_el_estado_Zulia_Venezuela
- Cabrera, E. S. (2022). Alternativas bioenergéticas de los residuos sólidos urbanos: panorama en México. *Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales* (31), 59 - 76.
- Caceres, A. O. (2011). Biodegradación bacteriana de polietileno de baja densidad bajo condiciones controladas en biorreactores air lift. Universidad Nacional Agraria de La Selva. Tingo María, Perú.
- Castañeda, C. M. R., López, S. B., Reyes, V. C., & Lizardi, J. M. A. (2022-A). Identificación de especies dominantes en un consorcio microbiano eficiente en la degradación de diésel. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 38, 155-167. doi:<https://doi.org/10.20937/RICA.54235>
- Castañeda, C. M. R., Isidoro, P. A. J., Lango, R. F., & Lizardi, J. M. A. (2022-B). Bubble Column Bioreactor using native non-genetically modified organisms: a remediation alternative by

hydrocarbon-polluted water from the Gulf of Mexico. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 21(4), 431-443.

Cervantes, J. A., Núñez, V. L., & Rodríguez, A. D. (2020). Análisis de los hábitos en el manejo de los residuos Covid-19 en la vivienda y en los puntos limpios. *Revista Científica de Arquitectura, Urbanismo y Territorios* (21), 117 - 138.

Chávez, M. L., & Leonardo, C. N. (2018). Impacto ambiental generado por el botadero de residuos sólidos en un caserío de la ciudad de Chota. *Revista de Investigación y Cultura*, 7(2), 25 - 34.

Chhikara, B. S., Rathi, B., Singh, J., & Poonam, F. N. (2020). Coronavirus SARS-CoV-2 disease COVID-19: Infection, prevention and clinical advances of the prospective chemical drug therapeutics. *Chemical Biology Letters*, 7(1), 63 - 72.

Colomina, A. F. (2005). La gestión integral de los residuos sólidos urbanos en el desarrollo sostenible local. *Revista Cubana de Química*, 17(3), 35 - 39.

Corrales, L. C., Antolínez, R. D., Bohórquez, M. J., & Corredor, V. A. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*, 13(24), 55 - 81.

Corso, A. F., López, A., Caleffi, C., & Domínguez, N. (2016). Polipropileno. 1 - 19. Retrieved septiembre 12, 2023, from chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfefindmkaj/https://ppqujap.files.wordpress.com/2016/05/proceso-de-polipropileno.pdf

Cuellar, O. G., Mesta, H. A., Pineda, F. G., & Salgado, B. R. (2004). Degradación de parafinas por *Pseudomonas aeruginosa* MGP-1. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria: Revista de Investigación de la Universidad Simón Bolívar*, 6, 41-46.

Czajczyńska, D., Anguilano, L., Ghazal, H., Krzyzyska, R., Reynolds, A., Spencer, N., & Jouhara, H. (2017). Potential of pyrolysis processes in the waste management sector. *Thermal Science and Engineering Progress*, 3, 171 - 197. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tsep.2017.06.003>

- Denis, B., Pérez, O. A., Lizardi, J. M., & Dutta, A. (2017). Numerical evaluation of direct interfacial uptake by a microbial consortium in an airlift bioreactor. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 542-551. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.08.012>
- Díaz, B. L., Marín, L. J., Alburgue, D. D., Carrasquero, F. S., & Morales, A. E. (2018). Consorcio microbiano autóctono para el tratamiento de aguas contaminadas con gasoil del puerto de Isla de Toas, Venezuela. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 28(2), 5 - 27.
- DOF. (2014). *Reglamento de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos*. Ciudad de México, México: Congres General de los Estados Unidos Mexicanos.
- DOF. (2021). *Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos*. Ciudad de México, México: Congreso General de los Estados Unidos Mexicanos.
- DOF. (2022). *Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente*. Ciudad de México, México: Congreso General de los Estados Unidos Mexicanos.
- Elías, X. (2009). *Reciclaje de residuos industriales. Residuos sólidos urbanos y fangos de depuradoras* (2 ed.). España: Díaz de Santos.
- EPA. (2001). *Guía del ciudadano técnicas de tratamiento innovadoras para suelos contaminados, fango residual, sedimentos y detritos*. Retrieved Septiembre 12, 2022, from National Service Center for Environmental Publications (NSCEP): <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.EXE?ZyActionL=Register&User=anonymous&Password=anonymous&Client=EPA&Init=1>
- Escobar, L. F., Rojas, C. A., Giraldo, G. A., & Padilla, S. L. (2010). Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus casei* Y producción de ácido láctico usando como sustrato el suero de leche de vacuno. *Revista De Investigaciones Universidad Del Quindío*, 20(1), 42-49. doi: <https://doi.org/10.33975/riuq.vol20n1.707>
- Eweis, J. B., Ergas, S. J., Chang, D. P., & Schroeder, E. D. (1998). *Bioremediation principles*. California, USA: McGraw-Hill International Editions.
- Fernández, R. A. (2010). Contaminación y contaminantes del suelo. In *Salud Ambiental Infantil: manual para enseñanza de grado en escuelas de medicina* (1 ed., pp. 49 - 51). Buenos

- Aires, Argentina: Ministerio de Salud de la Nación; Organización Panamericana de la Salud.
- Flores, P. (2020). La problemática del consumo de plásticos durante la pandemia de la COVID-19. *South Sustainability*, 1(2).
- Frioni, L. (2006). *Microbiología Básica, ambiental y agrícola*. Uruguay: Universidad de la República.
- Gallardo, A., Bovea, M. D., Ochera, M., & Beltrán, M. (2006). Aprovechamiento de la fracción mezcla de la planta de reciclaje y compostaje de residuos sólidos urbanos de Onda, Castellon. *Residuos* (90), 52 - 60.
- Galvis, G. (2014). *Caracterización del Polipropileno reciclado disponible a partir de tapas, para reincorporarlo en procesos productivos, mezclado con Polipropileno virgen*. Tesis de licenciatura, UNIVERSIDAD EAFIT, Medellín, Colombia.
- García, C. N., Valdivia, R. S., Narciso, O. L., García, M. J., Uribe, F. M., Aguire, M. M., & Lizardi, J. M. (2019). Diesel uptake by an indigenous microbial consortium isolated from sediments of the Southern Gulf of Mexico: Emulsion characterisation. *Environmental Pollution* (250), 849 - 855.
- García, M., Muñoz, M, C. Y., Muñoz, M, Y. A., Maldonado, T, C., Chávez, G, E. G., & Muñoz, E, J. J. (2021). Panorámica del impacto ambiental, sanitario, social ante la pandemia del covid-19. *Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes* (16), 81-86.
- García, P. T., López, J. C., Passos, F., Lebrero, R., Revah, S., & Muñoz, R. (2018). Simultaneous methane abatement and PHB production by *Methylocystis hirsuta* in a novel gas-recycling bubble column bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 334, 691-697. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.106>
- Gerhardt, R., Murray, E., Wood, W., & Krieg, L. (1994). *Methods for General and Molecular Bacteriology*. Washington: American Society for Microbiology.
- Gómez, R. R., Medina, M. S., Jiménez, G. A., & Lizardi, J. M. (2017). Aislamiento y análisis cualitativo de biomasa microbiana fúngica degradadora de hidrocarburos de un cenote de Quintana Roo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* (33), 53 - 61.

- González, C. W. F. (2021). *Estudio de las tecnologías limpias para la gestión sostenible de residuos domésticos peligrosos en tiempos de pandemia COVID-19*. Tesis doctoral, Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Gutiérrez, P. J. G. (2013). *Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos*. Tesis de licenciatura, UNAM, Ciudad de México.
- Gutierrez, T. (2018). *Influencia de factores ambientales de crecimiento microbiano en la degradación de polietileno de baja densidad por la bacteria pseudomona aeruginosa en Huancayo*. Huancayo: Universidad Continental.
- Hamdan, P. A. (2004). *Biomonitoreo: seguimiento de poblaciones microbianas en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos*. México: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
- Hamouda, R. A., Sorour, N. M., & Yeheia, D. S. (2016). Biodegradation of crude oil by *Anabaena oryzae*, *Chlorella kessleri* and its consortium under mixotrophic conditions. *International Biodeterioration & Biodegradation* (112), 128 - 134.
- Hermoza, R. A. M. (2019). Biodegradación microbiana de polietileno de baja densidad, bajo condiciones térmicas controladas en biorreactor air lift, en Santa Clara- Lima. Lima, Perú. Universidad César Vallejo.
- Hidalgo, J. (2009). Efectos de los derrames de petróleo sobre los hábitats marinos. *Ciencia Ahora*, 12(24), 22 - 30.
- Isidoro, P. A. (2020). *Biorreactores como alternativa de remediación de hidrocarburos en agua del río Bitzal, Tabasco*. Boca de Río, Veracruz. Instituto Tecnológico de Boca Del Rio.
- Jaramillo, G., Paba, G., & Ospino, M. (2010). Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. *NOVA*, 8(13), 76 - 86.
- Jiménez. (2020). La gestión de los residuos sólidos urbanos en tiempos del COVID-19. *Notas de coyuntura del CRIM* (27), 6.
- Jiménez, H. G., Venegas, S. J., Jiménez, I. D., & Rivera, R. J. (2018). Conformación de un consorcio bacteriano para la degradación de hidrocarburos. *Revista Científica UNTRM*:

Ciencias Naturales e Ingeniería, 5(20), 106-111. Retrieved from <http://www.iteshu.edu.mx/conamti/>

Jiménez, M. N. (2015). La gestión integral de residuos sólidos urbanos en México: entre la intención y la realidad. *Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales* (17), 29 - 56. doi:<https://doi.org/10.17141/letrasverdes.17.2015.1419>

Karak, T., Bhagat, R. M., & Bhattacharyya, P. (2012). Municipal solid waste generation, composition, and management: The World Scenario. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(15), 1509 - 1630. doi:<https://doi.org/10.1080/10643389.2011.569871>

Koneman, E., Allen, S., Dowell, V., & Sommers, H. (2006). *Diagnóstico microbiológico* (6 ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.

Lizardi, J. M. A., & Gutiérrez, R. M. (2011). Contribución al estudio de la hidrodinámica y transferencia simultánea de masa en biorreactores airlift de tres fases: producción de un consorcio microbiano degradador de petróleo. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(1).

Lizardi, J. M. A., Leal, B. R. M., Ordaz, A., & Reyna, V. R. (2015). Airlift bioreactors for hydrocarbon water pollution remediation in a tourism development pole. *Desalination and Water Treatment*, 54(1), 44–49. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.876670>

Lopez, L. S., Ayuzo, C., Perelman, C., Sepulveda, R., Colunga, P. I., Cuapio, A., & Wegman, O. T. (2020). Cubrebocas en tiempo de pandemia, revisión histórica, científica y recomendaciones prácticas. *SciELO Preprints*, 1 - 19. doi:<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.1551>

López, T., Domínguez, L., & García, J. (2006). *Arreglo estructural de un consorcio microbiano de interés alimentario en la producción de vinagre*. Acapulco, Guerrero, México: Trabajo presentado en el VIII Congreso Nacional Asociación Mexicana de Microscopia.

Lopez, Y., & Iannacone, J. A. (2021). La gestión integral de residuos sólidos urbanos en América Latina. *Paideia XXI*, 11(2), 453 - 474.

- Maddah, H. A. (2016). Polypropylene as a Promising Plastic: A review. *American Journal of Polymer Science*, 6(1), 1 - 11. doi:<http://dx.doi.org/10.5923/j.ajps.20160601.01>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Biología de los microorganismos* (14 ed.). Madrid, España: Pearson Educación, S.A.
- Maroto, M. E., & Rogel, J. M. (2004). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. *Protección ambiental de suelos*, 297 - 305.
- Medina, M. S. A., Jiménez, G. A., Gutiérrez, R. M., & Lizardi, J. M. A. (2013). Hexadecane aqueous emulsion characterization and uptake by an oil-degrading microbial consortium. *International Biodeterioration y Biodegradation*, 84, 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.05.018>
- Medina, M, S. A., Jiménez, G, A., Gutiérrez, R, M., & Lizardi, J. M. A. (2014). Hydrocarbon Pollution Studies of Underwater Sinkholes Along Quintana Roo As a Function of Tourism Development in the Mexican Caribbean. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13, 509–516. Retrieved from <chrome-extension://efaidnbnmnibpcjpcglclefindmkaj/https://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v13n2/v13n2a15.pdf>
- Merchán, C. L. (2018). *Biodegradación de metano en un biorreactor de comunma de burbujeo con circulación interna acoplado a la producción de biopolímeros*. Escuela de Ingenierías Industriales. Valladolid: Universidad de Valladolid.
- Narciso, O. L., Coreño, A. A., Mendoza, O. D., Lucho, C. C., & Lizardi, J. M. (2020). Baseline for plastic and hydrocarbon pollution of rivers, reefs, and sediment on beaches in Veracruz State, México, and a proposal for bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 23035–23047.
- Narciso, O. L., Vargas, G. K. A., Vázquez, L. A. L., Quiñones, M. T. A., Hernández, M. R., & Lizardi, J. M. A. (2021). Cuencas y sistemas arrecifales del Golfo de México en el estado de Veracruz: Contaminación por hidrocarburos y biorremediación. *BioTecnología*, 25(3), 54 - 70.

- Narváez, M., Gómez, M., & Martínez, M. (2008). Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos, aisladas a partir de sedimentos del Caribe Colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 37(1), 61 - 75.
- Ochoa, M. M. (2018). *Gestión integral de residuos. Análisis normativo y herramientas para su implementación*. Bogotá, Colombia.: Editorial Universidad del Rosario.
- OMS. (2020, abril 06). *Recomendaciones sobre el uso de mascarillas en el contexto de la COVID-19: orientaciones provisionales*. Retrieved from chrome-extension://efaidnbmninnbpcajpcglclefindmkaj/https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/331789/WHO-2019-nCoV-IPC_Masks-2020.3-spa.pdf? sequence=1&isAllowed=y
- ONU. (2023, junio 05). *Mensaje de Dolores Barrientos, Representante en México del PNUMA, por el Día Mundial del Medio Ambiente 2023*. Retrieved from Naciones Unidas: [https://mexico.un.org/es/234538-mensaje-de-dolores-barrientos-representante-en-m%C3%A9xico-del-pnuma-por-el-d%C3%ADa-mundial-del-medio#:~:text=Video-,Mensaje%20de%20Dolores%20Barrientos%2C%20Representante%20en%20M%C3%A9xico%20del%20PNUMA%2C%20por,Mundial%](https://mexico.un.org/es/234538-mensaje-de-dolores-barrientos-representante-en-m%C3%A9xico-del-pnuma-por-el-d%C3%ADa-mundial-del-medio#:~:text=Video-,Mensaje%20de%20Dolores%20Barrientos%2C%20Representante%20en%20M%C3%A9xico%20del%20PNUMA%2C%20por,Mundial%20)
- Osorio, L. E., & Vilar, C. D. (2021). La importancia del uso de la mascarilla (cubrebocas) en la era COVID-19: una herramienta preventiva esencial. *Boletín sobre COVID-19*, 2(14), 1 - 3.
- Pariona, P. J., & Ormeño, W. M. (2022). Efectos del Covid-19 en el manejo de residuos sólidos. *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas*, 25(49), 83 - 91.
- Pérez, J. P. (2014). La industria del plástico en México y el mundo. *Comercio exterior*, 64(5), 6-9.
- Picó, Y., & Barceló, D. (2019). Analysis and prevention of microplastics pollution in water: current perspectives and directions. *ACS omega*, 4(4), 6709 - 6719.
- Pírez, M., & Mota, M. (2008). Morfología y estructura bacteriana. In D. d. Virología, *Temas de Bacteriología y Virología Médica* (3 ed., pp. 25 - 45). Montevideo: Oficina del Libro FEFMUR.

- Prata, J. C., Silva, A. L., Walker, T. R., Duarte, A. C., & Rocha, S. T. (2020). COVID-19 Pandemic Repercussions on the Use and Management of Plastics. *Environmental science & technology*, 54(13), 7760 - 7765. doi:<https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02178>
- Prescott, L., Harley, J., & Klein, D. (1999). *Microbiología*. Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana.
- Pucci, G. N., Acuña, A., Tonin, N., Tiedemann, C., & Pucci, O. H. (2010). Diversidad de bacterias cultivables con capacidad de degradar hidrocarburos de la playa de Caleta Córdova, Argentina. *Revista peruana de biología*, 17(2), 237 - 244.
- Quiroga, G. N. (2021). *Reactor con consorcios bacterianos degradador de plásticos*. Instituto Tecnológico de Tehuacán.
- REMARCO. (2020). *Contaminación por microplásticos*. Retrieved from REMARCO: <https://remarco.org/contaminacion-por-microplasticos/>
- Rittmann, B. E., & McCarty, P. L. (2001). *Environmental biotechnology: principles and applications* (2 ed.). New York: McGraw-Hill Education.
- Rivas, C., & Mota, M. (2006). *Bacterias anaerobias*. Uruguay: oficina del libro-FEFMUR.
- Rodríguez, N. L., & Vera, M. V. (2022). Repercusión en las costas marinas asociada al uso de equipo de protección personal y microplásticos durante la pandemia COVID 19. *Revisión sistemática*.
- Rodríguez, P., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2), 166 - 167.
- Romero, E., Pérez, M. K., & Tamara, P. L. (2019). *Pruebas bioquímicas*. Sincelejo, Sucre: Universidad de Sucre.
- Ruberto, L., Vazquez, S., & Mac Cormack, W. (2003). Effectiveness of the Natural Bacterial Flora, Biostimulation, and Bioaugmentation on the Bioremediation of a Hydrocarbon-Contaminated Antarctic Soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52(2), 115-125. doi:[https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00048-9](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00048-9)

- Sáez, A., & Urdaneta, J. A. (2014). Manejo de residuos sólidos en América Latina y el Caribe. *Omnia* (20), 121 - 135.
- Sandoval, H. E. J., Saucedo, R. V., Gutiérrez, R. B., Hernández, M. R., & Lizardi, J. M. A. (2020). Diagnóstico de la contaminación por hidrocarburos en playas de Veracruz y biorreactores airlift como propuesta de remediación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(3), 1227-1241. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio851>
- Sánchez, D. J. (2020). *Impacto del plástico de un solo uso y alternativas para su sustitución en el municipio de Urrao*. Medellín, Colombia: Tecnológico de Antioquia, Institución Universitaria.
- Sanchez, F. O. (2021). Retos pos pandemia en la gestión de residuos sólidos. *CienciAmérica: Revista de divulgación científica de la Universidad Tecnológica Indoamérica*, 10(1), 11 - 23.
- Schwarz, O. (2002). *Ciencia de los plásticos: composición, propiedades, procesamiento, aplicaciones de los termoplásticos, duroplásticos y elastómeros* (1 ed.). (F. W. Ebeling, H. Schirber, H. Huberth, N. Schlör, Eds., & E. Agrelo, Trans.) Montevideo: COSTA NOGAL.
- Segura, D., Noguez, R., & Espín, G. (2007). Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables. *Biotecnología*, 14(3), 361 - 372.
- SEMARNAT. (2020). *Cartilla de Mejores Prácticas para la Prevención del COVID-19 en el Manejo de los Residuos Sólidos Urbanos*. Ciudad de México: Gobierno de México. Retrieved from https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/545891/Cartilla_de_Mejores_Practicas_para_la_Preencion_del_COVID-19.pdf
- Servín, T. E., Nava, L. H., Romero, G. A., Sánchez, G. F., & Huerta, G. G. (2020). Equipo de protección personal y COVID-19. *Cirujano general*, 42(2), 116 - 123.
- Singh, B., & Nisha, S. (2008). Mechanistic implications of plastic degradation. *Polymer Degradation and Stability*, 93, 561-584.
- Soundararajan, R. K., Ramya, C., Viswanathan, M. R., & Varjani, S. (2019). Plastic pollutants: effective waste management for pollution control and abatement. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 12, 72-84.

- Stoeck, T., Kröncke, I., Duineveld, G., & Palojarvi, A. (2002). Phospholipid fatty acid profiles at depositional and non-depositional sites in the North Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 241, 57-70.
- Suresh, R. S., Balasubramanian, R., Mallavarapu, M., Kadiyala, V., & Ravi, N. (2011). Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: biotechnological potential. *Biotechnology advances*, 29(6), 896 - 907. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.07.009>
- Tirado, T. D., Acevedo, S. O., Romo, G. C., Marmolejo, S. Y., & Gayosso, C. M. (2015). Participación de consorcios microbianos en la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 2(3), 77-86.
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología* (9 ed.). Madrid, España: Medica Panamericana, S. A.
- Tzintzun, C. O., Loera, O., Ramírez, S. H., & Gutiérrez, R. M. (2012). Comparison of mechanisms of hexadecane uptake among pure and mixed cultures derived from a bacterial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 70, 1 - 7.
- Ueno, A., Hasanuzzaman, M., Yumoto, I., & Okuyama, H. (2006). Verification of degradation of n-alkanes in diesel oil by *Pseudomonas aeruginosa* strain WatG in soil microcosms. *Curr Microbiol.*, 52(3), 1 - 13. doi:10.1007/s00284-005-0133-8
- Uribe, D., Giraldo, D., Gutiérrez, S., & Merino, F. (2010). Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú. *Revista Peruana De Biología*, 17(1), 33 - 36.
- Valdivia, C. C. (2023). *Generación y caracterización de un consorcio bacteriano aerobio que degraden polietileno y polipropileno como alternativa de manejo en la CDMX*. CIEMAD. Ciudad de México: Instituto Politécnico Nacional. Retrieved from <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/31068>
- Van Deuren, J. Z., Wang, Z., & Ledbetter, J. (1997). *Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide*. (3 ed.). Technology Innovation Office, EPA.
- Vargas, F. T., & Kuno, V. A. (2014). Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica*, 49(2), 2594 - 2598.

- Vasudevan, N., & Rajaram, P. (2001). Bioremediation of soil sludge-contaminated soil. *Environment International*, 26, 409 - 411.
- Vilca, Q. W., Ramírez, P. A., Medina, S. C., & Loa, N. E. (2021). Residuos Biocontaminantes, otro Legado del COVID-19. *Producción+Limpia*, 16(2), 197 - 211.
- Wang, C., Horby, P. W., Hayden, F. G., & Gao, G. F. (2020). A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*, 395(10223), 470 - 473. doi:[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30185-9)
- Wauquier, J. P. (2004). *El Refino Del Petróleo: Petróleo Crudo, Productos Petrolíferos, Esquemas de Fabricación*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Yaya, C. L. V. (2017). Biodegradacion de hidrocarburos totales de petroleo por bacterias nativas sometidas a distintas condiciones de cultivo aplicados en aguas residuales, Callao. Lima, Perú. Universidad César Vallejo.