



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UNA CELDA
ELECTROQUÍMICA PARA LA DEGRADACIÓN DE
HIDROCARBUROS EN SUELOS CONTAMINADOS”**

TESIS INDIVIDUAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

VIRIDIANA HERNÁNDEZ FERNÁNDEZ

DIRIGIDA POR

Dra. DULCE MARÍA PALMERÍN CARREÑO

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



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

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

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

Bajo los siguientes términos:



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



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



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

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

Avisos:

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

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



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UNA CELDA
ELECTROQUÍMICA PARA LA DEGRADACIÓN DE
HIDROCARBUROS EN SUELOS CONTAMINADOS”**

TESIS INDIVIDUAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

VIRIDIANA HERNÁNDEZ FERNÁNDEZ

DIRIGIDA POR

Dra. DULCE MARÍA PALMERÍN CARREÑO

SINODALES

**Dra. DULCE MARÍA PALMERÍN CARREÑO
DIRECTOR**

**Dra. DULCE CELESTE LÓPEZ DÍAZ
SINODAL**

**Dra. MARÍA DEL CARMEN GONZÁLEZ LÓPEZ
SINODAL**

**Dr. ÁNGEL RAMÓN HERNÁNDEZ MARTÍNEZ
SINODAL**

**Dr. JULIO ARMANDO DE LIRA FLORES
SINODAL**

Dedicatoria

A mis padres, Celia Fernández y Mariano Hernández, cuya fortaleza ante las adversidades ha sido mi guía y mi ejemplo. Gracias por nunca rendirse, por construir un hogar donde el amor y el esfuerzo siempre fueron el cimiento. Hoy entiendo que hay deudas que no se pueden pagar.

A mis hermanos, Marco Antonio, por ser mi red de apoyo inquebrantable, cómplice de cada aventura y ejemplo de generosidad.

Mariano, por creer en mí incluso cuando yo dudaba, por empujarme a romper mis límites y soñar sin miedo. A Daniela, por su presencia sincera, por estar cuando más lo necesité, por ofrecer luz en mis días grises.

A los amores de mi vida, Diego Gael y Mathías porque, aunque aún son pequeños y quizá no lo entiendan, quiero que sepan que ser su tía me salva la vida. Su risa, su inocencia y su amor le dan sentido a mis días y me recuerdan lo que verdaderamente importa

A mi amigo Sebastián, por estar en mis momentos más oscuros, levantarme cuando sentía que no podía más y recordarme siempre el valor que tengo, incluso cuando yo misma lo olvidé.

A mi maestra Silvia Bocanegra, quien fue la primer chispa que encendió en mí el deseo de superación gracias.

Agradecimientos:

A la vida por enseñarme, aún en sus momentos más duros, que el camino tiene sentido.

A mi asesora de tesis Dra. Dulce María Palmerín, por su invaluable confianza, guía y respaldo a lo largo del desarrollo del proyecto. Su compromiso, experiencia y generosidad al compartir su conocimiento han sido fundamentales para llevar a cabo esta investigación.

A mis profesores, quienes a lo largo de mi vida no solo compartieron conmigo sus conocimientos académicos, sino también valiosas lecciones de vida. Gracias por ayudarme a crecer no solo como profesional, sino como persona.

A las personas que conocí y fueron mi compañía en este viaje, a las personas que me siguen enseñando y me han brindado la oportunidad de participar en eventos para llevar la ciencia más allá de los salones.

A quien un día me rompió el corazón, gracias. Porque en medio de ese dolor también aprendí lo hermoso que puede ser amar y lo profundo que puede sentirse querer de verdad. Gracias por enseñarme la intensidad del amor, la entrega, la dulzura de los pequeños momentos y el valor de reconstruirme.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN.....	
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1 Suelo y sus propiedades.....	3
II.1.1 Degradación y/o contaminación de suelos por hidrocarburos.....	4
II.2 Métodos de remediación existentes.....	6
II.3 Microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos	8
III. HIPÓTESIS	11
IV. OBJETIVOS	11
IV.1 General	11
IV.2 Específicos	11
V. METODOLOGÍA.....	12
V.1 Materiales	12
V.1.1 Muestras de suelo contaminadas por hidrocarburos.....	12
V.1.2 Material biológico.....	12
V.1.3 Uso del equipo Soxhlet para la extracción de hidrocarburos.....	12

V.I.4 Celda electroquímica para la degradación de compuestos	13
V.I.5 Cuantificación de los compuestos NPK mediante colorimetría.....	14
V.I.6 Reactivos	14
V.2 Métodos	15
V.2.1 Extracción de suelo contaminado por hidrocarburos.....	15
V.2.2 Secado de muestras y crecimiento de microorganismos.....	16
V.2.3 Cuantificación de hidrocarburos mediante UV-Vis.....	16
V.2.4 Extracción de hidrocarburos por la técnica de Soxhlet	16
V.2.5 Crecimiento del consorcio microbiano.....	17
V.2.6 Identificación del consorcio microbiano mediante Tinción de Gram.....	18
V.2.7 Biorremediación de suelos contaminados mediante una celda electroquímica.....	19
V.2.8 Cuantificación de nitrógeno, fosfato y potasio NPK.....	20
V.2.9 Análisis estadístico.....	21
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
VI.1 Monitoreo de parámetros fisicoquímicos de muestras de suelo contaminadas por hidrocarburos	22
VI.2 Curvas de calibración mediante espectroscopía UV-Vis.....	24
VI.3 Concentración de hidrocarburos en muestras de suelo antes del tratamiento con la celda electroquímica	25
VI.4 Disposición de los microorganismos nativos del suelo contaminado por hidrocarburos	27
VI.5 Identificación del consorcio microbiano mediante técnicas microbiológicas.	30

VI.6 Construcción de una celda electroquímica	32
VI.7 Monitoreo fisicoquímico de las muestras de suelo en la celda electroquímica durante el proceso de la biorremediación	34
VI.8 Cinéticas de consumo aplicando remediación mediante la celda electroquímica	37
VI.9 Identificación de los compuestos de nitrógeno, fosfato y potasio	43
VI.10 Divulgación científica e impacto académico	45
VII. CONCLUSIONES	46
VIII. REFERENCIAS	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Límites máximos permisibles para fracciones de hidrocarburos en suelo	5
2 Principales géneros de bacterias involucrados en la biorremediación	9
3 Principales géneros de hongos involucrados en la biorremediación	10
4 Monitoreo de los parámetros fisicoquímicos iniciales	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1 Montaje del equipo Soxhlet	13
2 Diseño de la celda electroquímica desarrollada en SolidWorks	14
3 Monitoreo de los parámetros fisicoquímicos iniciales	23
4 Curva de calibración de 12 – 20 ppm	24
5 Concentración de los hidrocarburos en muestras de suelo contaminado	26
6 Cuantificación de la formación de colonias de las muestras de suelo	28
7 Identificación de bacterias bajo microscopio a 20x	31
8 Construcción de la celda electroquímica	32
9 Uso de la celda electroquímica	33
10 Medición de pH durante la biorremediación	35
11 Cinética de la temperatura durante el proceso de biorremediación	36
12 Cinética de consumo de hidrocarburos durante la biorremediación para muestras de PCPE	38
13 Cinética de consumo de hidrocarburos durante la biorremediación para muestras de PCH	39
14 Cuantificación de NPK inicial y final en la biorremediación	43

RESUMEN

El suelo es un recurso natural no renovable fundamental para la producción agrícola y el equilibrio ecológico; sin embargo, la contaminación por hidrocarburos derivados del petróleo representa una amenaza creciente para su fertilidad, estructura y para la salud humana y ambiental. En el municipio de Pedro Escobedo, Querétaro, la presencia de estos contaminantes en suelos agrícolas pone en riesgo la calidad del agua subterránea y la productividad de los cultivos, por lo que resulta necesario implementar estrategias eficaces de remediación. En este trabajo se evaluó la viabilidad de un método de remediación basado en electrobiorremediación para la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados. Bajo el marco normativo de la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, los suelos fueron analizados y caracterizados para determinar el grado de contaminación. Posteriormente se diseñó y construyó una celda electroquímica equipada con electrodos de titanio, en la cual se sometieron muestras de suelo contaminado a condiciones controladas de corriente eléctrica. Durante el proceso se monitorearon parámetros fisicoquímicos como pH, humedad, temperatura y nutrientes (NPK), así como la concentración inicial y final de hidrocarburos, determinada mediante extracción Soxhlet y análisis por espectrofotometría UV-Vis. Asimismo, se aislaron e identificaron bacterias nativas del suelo y se evaluó su capacidad degradadora bajo la influencia del campo eléctrico. Los resultados mostraron que la celda electroquímica alcanzó una eficiencia promedio de remoción de hidrocarburos del 93–95 % en un periodo de 72 h, reduciendo concentraciones iniciales de hasta 27×10^3 ppm a valores cercanos a $1-2 \times 10^3$ ppm. Estos resultados indican que el sistema electroquímico evaluado representa una alternativa eficiente para la recuperación acelerada de suelos contaminados con hidrocarburos en Pedro Escobedo, Querétaro.

I. INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los recursos naturales más valiosos y esenciales para el desarrollo de la vida en el planeta. El 95 % de la producción de los alimentos que consumimos está relacionada directamente con su composición y constituyente, del 25 % de la biodiversidad mundial. Su función como el mayor depósito de carbono terrestre lo convierte en un elemento clave para la regulación climática y la economía circular. El suelo es un recurso finito y no renovable, su degradación representa una amenaza directa para la seguridad alimentaria, la salud ambiental y el bienestar humano. Entre las causas más críticas de degradación se encuentra la contaminación por hidrocarburos derivados del petróleo, compuestos químicos que, debido a su toxicidad, persistencia y complejidad estructural, pueden alterar de manera severa las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.

La contaminación de suelos agrícolas con hidrocarburos representa una amenaza particularmente en zonas con alta actividad agrícola como en el municipio de Pedro Escobedo, donde se han identificado impactos asociados a derrames y fugas que han ocasionado la presencia de contaminantes en suelos de cultivo, comprometiendo su fertilidad y representando un riesgo para los cuerpos de agua subterráneos destinados al riego y consumo humano.

Frente a esta problemática, las tecnologías de remediación de suelos han evolucionado desde métodos físicos y químicos hacia estrategias más sostenibles, entre ellas la biorremediación, que emplea microorganismos capaces de degradar contaminantes orgánicos. En años recientes, se ha desarrollado una variante híbrida conocida como electrobiorremediación, una estrategia prometedora al combinar la acción de microorganismos nativos con la aplicación de campos eléctricos, lo que podría incrementar la movilidad de contaminantes y nutrientes, favoreciendo su degradación y planteando una alternativa sostenible y de bajo costo para la recuperación de suelos afectados.

El presente trabajo propuso evaluar la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados del municipio mediante una celda electroquímica, utilizando bacterias nativas del propio suelo. El diseño experimental contempló el diseño y construcción de la celda electroquímica, la recolección y caracterización de muestras, la identificación de microorganismos, la extracción y cuantificación de hidrocarburos, así como el análisis de parámetros fisicoquímicos antes y después del tratamiento.

La hipótesis planteó que la aplicación de campos eléctricos favorecería la movilidad y degradación de los hidrocarburos, mejorando la eficiencia del proceso de remediación.

II. ANTECEDENTES

II.1 Suelo y sus propiedades

Las funciones importantes del suelo relacionadas con la producción de cultivos y la calidad ambiental incluyen retener y reciclar nutrientes, apoyar el crecimiento de las plantas, secuestrar carbono, permitir la infiltración y facilitar el almacenamiento de agua, suprimir plagas, enfermedades y malezas, desintoxicar sustancias químicas dañinas y apoyar la producción de alimentos, fibra y combustible (Fausak y col., 2024).

Las propiedades del suelo son fundamentales porque forman la base esencial de varios procesos químicos y biológicos, además define el movimiento del aire y agua, las condiciones que afectan el desarrollo de vegetación, los procesos de crecimiento y la erosión (Flores y Venlasaga, 2021).

Textura del suelo: Las propiedades inherentes del suelo, como la textura y la mineralogía, ejercen fuertes controles sobre la cantidad de carbono y nutrientes almacenables, el pH nativo, la capacidad de retención de agua y más (Amsili y col., 2021).

Porosidad del suelo: La magnitud, la distribución del tamaño y la conectividad de la porosidad del suelo controlan el flujo de agua y gas a través de los suelos y los ecosistemas microbianos, vinculando así el ciclo biogeoquímico e hidrológico (Robinson y col., 2022).

Potencial de hidrógeno - pH: El valor del pH del suelo es la medida de alcalinidad o acidez del suelo. El pH tiene una escala con un rango que va de 0 a 14, siendo el valor 7 neutral. Los valores menores a 7 indican acidez y los valores superiores a 7 indican alcalinidad (Santillán, 2024). La determinación del pH del suelo ayudará a comprender las influencias de la química y la biología del suelo y cómo se afectan la disponibilidad de nutrientes y el carbono orgánico del suelo, inclusive tiene un efecto

significativo sobre la actividad de las comunidades microbianas y sobre los procesos biogeoquímicos en los que participan (Flores y Venlasaga, 2021).

Capacidad de intercambio catiónico del suelo (CIC): se refiere a las cargas negativas que se encuentran en la superficie del suelo para adsorber e intercambiar iones químicos cargados positivamente como calcio (Ca^{++}), magnesio (Mg^{++}), sodio (Na^+), hidrógeno (H^+) y potasio (K^+) (Flores y Venlasaga, 2021).

II.1.1 Degradación y/o contaminación de suelos por hidrocarburos

El concepto degradación del suelo es un término nebuloso que sugiere que un cambio en el estado de la calidad del suelo resulta en una capacidad disminuida del ecosistema para proporcionar bienes y servicios. Más específicamente, se define como un proceso natural y/o inducido por el hombre en el que la productividad del suelo o el potencial para el uso de la tierra y la regulación ambiental (es decir, la calidad del suelo y la sostenibilidad) disminuye o incluso pierde por completo sus características físicas, químicas y biológicas (Wang y col., 2023). La demanda y el uso de hidrocarburos derivados del petróleo provocan la contaminación de entornos como el aire, el agua y el suelo. Desafortunadamente, la liberación de hidrocarburos contaminantes al suelo ya sea de forma natural o antropológica, afecta tanto a los componentes bióticos como abióticos de los ecosistemas (Kebede y col., 2021).

Los hidrocarburos son sustancias químicas presentes de forma natural en el petróleo crudo y compuestas principalmente de hidrógeno y carbono. El petróleo crudo es una mezcla líquida compleja, oscura, viscosa y fácilmente inflamable de hidrocarburos (83 - 87 %), que comprende cantidades variables de hidrógeno (10 -14 %), oxígeno (0.05 -1.5 %), azufre (0.005 - 6.0 %), nitrógeno (0.1 – 0.2 %) y metales (<1000 mg/L) como níquel, hierro y cobre. La composición específica depende de la edad geológica, la ubicación y la profundidad del yacimiento petrolífero. Tras la refinación del petróleo crudo, los productos resultantes presentan nuevas propiedades fisicoquímicas, que aumentan su complejidad y pueden dificultar su biodegradación.

Los hidrocarburos se pueden dividir de acuerdo con su estructura química en: hidrocarburos alifáticos saturados e insaturados, hidrocarburos aromáticos (hidrocarburos aromáticos monocíclicos y aromáticos policíclicos) (Pandolfo y col., 2023).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son compuestos formados por varios anillos bencénicos que se han unido, generalmente sólidos cristalinos a temperatura ambiente. El benceno es un hidrocarburo de fórmula molecular C_6H_6 , con forma de anillo, conocido como anillo bencénico o aromático, ya que posee un olor característico. En este anillo cada átomo de carbono ocupa el vértice de un hexágono regular (Colorado, 2023).

La Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, la cual establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) en diferentes usos del suelo, así como los lineamientos para su caracterización y remediación clasifica los niveles de intervención con base en el uso del suelo (agrícola, habitacional e industrial) estableciendo, por ejemplo, un límite de 3000 ppm para suelos con uso industrial y de 1000 ppm para uso agrícola o habitacional. La utilización de esta normativa permitió establecer criterios técnicos y legales para determinar la necesidad de acciones correctivas y evaluar la eficiencia de procesos de remediación.

Cuadro 1. Límites máximos permisibles para fracciones de hidrocarburos en suelo (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y col., 2013).

Fracción	Uso de suelo (mg/kg base seca)			Método
	Agrícola	Residencial	Industrial	
Ligera	200	200	500	NMX-AA-105-SCFI-2008
Media	1200	1200	5000	NMX-AA-145-SCFI-2008
Pesada	3000	3000	6000	NMX-AA-134-SCFI-2006

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos pueden afectar potencialmente no solo los sistemas nervioso, inmunitario y excretor, sino también causar tumores y mutaciones.

Diversos estudios han documentado que la exposición crónica a los hidrocarburos aromáticos policíclicos puede ocasionar efectos adversos en la salud humana, incluyendo el desarrollo de cáncer, cataratas y otras alteraciones a nivel dérmico y ocular. La exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos puede ocurrir por inhalación, ingestión o por vía dérmica. Una vez introducidas en el cuerpo, estas moléculas se difunden rápidamente debido a su alta solubilidad en grasas, lo que les permite atravesar las membranas celulares y depositarse en el tejido adiposo, los riñones y el hígado. La toxicidad de los hidrocarburos afecta a humanos, plantas, animales y microorganismos, con consecuencias para la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas. La contaminación ambiental por hidrocarburos y derivados ha provocado la extinción local de numerosas especies de plantas y animales (Pandolfo y col., 2023).

En el municipio de Pedro Escobedo ubicado en el estado de Querétaro se han detectado zonas cercanas con contaminación del suelo por hidrocarburos, derivada principalmente por derrames. En una región con actividad agrícola predominante, como es el caso del municipio de Pedro Escobedo la presencia de estos contaminantes no solo compromete la fertilidad del suelo y la productividad de los cultivos, sino que también puede provocar la infiltración de compuestos peligrosos hacia los cuerpos de agua subterráneos, afectando su calidad para consumo humano y riego.

II.2 Métodos de remediación existentes

La remediación consiste en un conjunto de técnicas que tienen como objetivo hacer la recuperación de suelos o cuerpos de agua contaminados, con miras a restaurar las características de ciertas propiedades de la matriz ambiental, de tal modo que se conserven o se mejoren sus características, se mantenga el equilibrio ecosistémico y se evite que se genere un peligro para animales, plantas y seres humanos (Sepúlveda y Casallas, 2023).

Remediación física: se caracteriza por poseer equipos simples, de fácil operación y

bajo costo, entre estas técnicas se destacan las siguientes: a) la desorción térmica del suelo o la cual supone añadir energía calórica a las muestras del suelo para evaporar. b) sustitución de suelo puesto es un método que consiste en la remoción de suelos altamente contaminados y agregar uno nuevo para reducir los altos niveles de contaminación (Castro-Sarmiento y col., 2023).

Remediación química: consiste en agregar reactivos para generar procesos de precipitación, absorción, oxidación, reducción y polimerización, entre los casos más comunes se encuentra: a) la lixiviación química, b) estabilización química es un método que se utiliza para convertir metales pesados en formas insolubles, inamovibles y menos tóxicas, c) barrera reactiva permeable a la remediación electrocinética, y d) oxidación/reducción química es el uso del redox químico, (Castro-Sarmiento y col., 2023).

Remediación biológica: es una técnica que emplea agentes biológicos, como plantas, hongos, microorganismos y sus enzimas, en procesos de descontaminación ambiental, y se considera un método viable y económico debido a la capacidad propia de los microorganismos para eliminar, acumular y transformar contaminantes, capacidad que está estrechamente relacionada con su funcionamiento, metabolismo y estructura (Vigoya, 2024).

Electrobiorremediación: consiste en la migración de iones contaminantes al electrodo con la carga opuesta en el ambiente contaminado bajo la influencia de un campo eléctrico aplicado a través de los electrodos del ánodo (polo positivo) y el cátodo (polo negativo) ubicado en el suelo. Este fenómeno ocurre cuando el suelo se carga con una corriente eléctrica de bajo voltaje (De la cruz Caballón, 2022). Las tecnologías de electrobiorremediación tienen un potencial considerable para el tratamiento de suelos contaminados por hidrocarburos de petróleo (PH), ya que permiten estimular los procesos de biodegradación sin necesidad de inyección de productos químicos en el subsuelo y con poco o ningún consumo de energía (Viggi y col., 2022). La tecnología de celdas se considera uno de los enfoques más efectivos y sostenibles

para la biorremediación anaeróbica de aguas residuales o sedimentos contaminados con hidrocarburos aromáticos (Mukherjee y col., 2021).

II.3 Microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

La aplicación de campos eléctricos en suelos contaminados constituye la base de las tecnologías de electroremediación o electrocinética, las cuales emplean una corriente eléctrica directa para inducir el movimiento de especies químicas dentro de la matriz del suelo (Wen y col., 2021).

Cuando la electroremediación se combina con procesos biológicos, surge la electrobiorremediación, una estrategia híbrida que utiliza microorganismos capaces de degradar contaminantes mientras el campo eléctrico facilita la movilización de compuestos y mejora su biodisponibilidad. De esta forma, el campo eléctrico no solo contribuye al transporte de contaminantes, sino que también puede estimular la actividad microbiana responsable de su degradación (Zhang y col., 2024).

El suelo es el lugar más adecuado para el desarrollo de microorganismos, los mismos aportan a los ciclos biogeoquímicos de algunos elementos como el carbono, el azufre, el fósforo y otros metales que se encuentran en el suelo. Entre los microorganismos más comunes están las bacterias y los hongos; pero se conoce a las bacterias como un degradador primario por su eficiencia en la degradación de hidrocarburos. Por otra parte, los hongos también son capaces de degradar ciertos compuestos, sin embargo, crecen muy lento, a diferencia de las bacterias que se caracterizan por su rápido crecimiento y su alta velocidad para replicarse (Murillo y Nevarez, 2022). Recientemente, se han empleado para tratar suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos. Los microorganismos desempeñan un papel importante en la eliminación de contaminantes durante la electrobiorremediación (Li y col., 2023).

De acuerdo con el autor Dell' Anno (2021), existen géneros de bacterias y hongos

conocidas por su capacidad específica para degradar hidrocarburos. En el Cuadro 2 se presentan los principales géneros bacterianos reportados en la literatura por su participación en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, entre los que destacan *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes* y *Rhodococcus*, reconocidos por su capacidad para degradar compuestos alifáticos y aromáticos del petróleo. Por su parte, el Cuadro 3 muestra los principales géneros de hongos implicados en estos procesos, tales como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium*, los cuales destacan por su capacidad enzimática para degradar compuestos complejos y fracciones más recalcitrantes del petróleo. La información presentada en ambos cuadros evidencia que tanto bacterias como hongos desempeñan un papel fundamental en la degradación biológica de hidrocarburos, siendo especialmente relevante para este trabajo, ya que la eficiencia del tratamiento evaluado depende en parte de la estimulación de la actividad microbiana presente en el suelo. De esta manera, los cuadros no solo sintetizan antecedentes teóricos, sino que fundamentan la base microbiológica que respalda la estrategia de remediación aplicada.

Cuadro 2. Principales géneros de bacterias, involucrados en la biorremediación (Dell' Anno y col., 2021).

Organismos	Género
Bacterias	<i>Alcaligenes</i>
	<i>Bacillus</i>
	<i>Enterobacter</i>
	<i>Flavobacterium</i>
	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Alcanivorax</i>
	<i>Thalassolituus</i>
	<i>Cicloclastico</i>
	<i>Oleispira</i>
	<i>Marinobacter</i>

Cuadro 3. Principales géneros de hongos, involucrados en la biorremediación (Dell' Anno y col., 2021).

Organismos	Género
Hongos	<i>Aspergillus</i>
	<i>Curvularia</i>
	<i>Drechslera</i>
	<i>Fusarium</i>
	<i>Lasiodiplodia</i>
	<i>Mucor</i>
	<i>Penicillium</i>
	<i>Rhizopus</i>
	<i>Trichoderma</i>
	<i>Cryptococcus</i>

III. HIPÓTESIS

La aplicación de campos eléctricos en suelos contaminados por hidrocarburos favorecerá la movilidad y degradación de los compuestos, mejorando así la eficiencia del proceso de remediación ambiental.

IV. OBJETIVOS

IV.1 General

Evaluar la biorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos en el municipio de Pedro Escobedo utilizando una celda electroquímica y un consorcio microbiano nativo.

IV.2 Específicos

- Diseñar y construir una celda electroquímica con electrodos de titanio, considerando las dimensiones y condiciones experimentales necesarias para someter muestras de suelo contaminado por hidrocarburos.
- Aislar e identificar bacterias nativas presentes en muestras de suelo mediante técnicas microbiológicas, y evaluar su viabilidad y capacidad degradadora bajo la influencia de la celda electroquímica.
- Cuantificar la concentración inicial de hidrocarburos presentes en el suelo contaminado mediante extracción Soxhlet y análisis UV-Vis, y comparar los resultados con la concentración final posterior al tratamiento en la celda electroquímica.
- Monitorear y analizar los efectos del campo eléctrico aplicado en la celda electroquímica sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo (pH, nutrientes NPK, humedad y temperatura), con el fin de determinar su impacto en el proceso de degradación de hidrocarburos.

V. METODOLOGÍA

V.1 Materiales

V.1.1 Muestras de suelo contaminadas por hidrocarburos

El suelo utilizado en este estudio fue recolectado en diversas zonas del municipio de Pedro Escobedo con posible exposición a hidrocarburos. Respetando las buenas prácticas científicas y normas de bioseguridad en el manejo de suelo contaminado por hidrocarburos. Así como, la realización correcta de la disposición de residuos y materiales experimentales que se realizó conforme a la normatividad de la Universidad Autónoma de Querétaro y ambiental vigente.

V.1.2 Material biológico

Se aislaron bacterias nativas del suelo usando agar nutritivo.

V.1.3 Uso del equipo Soxhlet para la extracción de hidrocarburos

La extracción fue realizada mediante el uso del equipo Soxhlet que consta de una cámara de extracción que se conecta a un condensador en la parte superior y un matraz de fondo redondo o plano en la parte inferior (Calle y Mejía 2024).

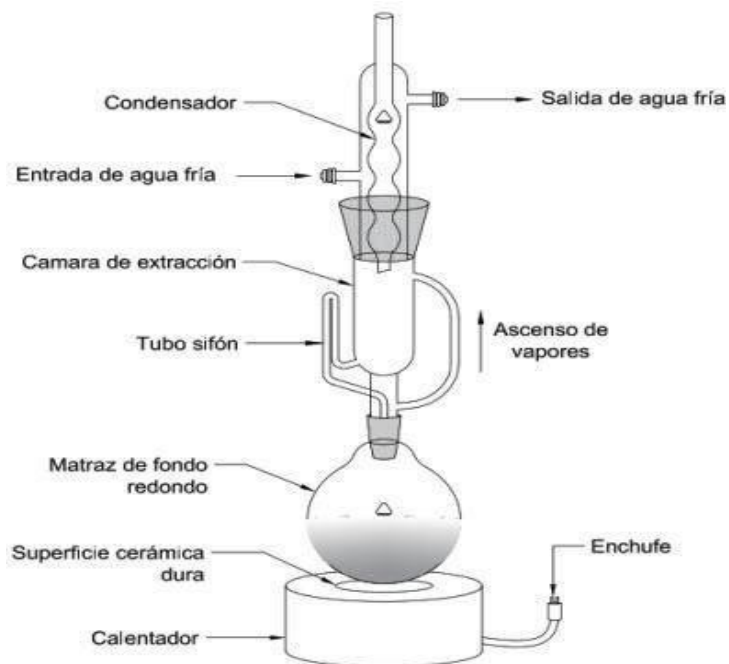


Figura 1. Montaje de equipo Soxhlet (Calle y Mejía, 2024).

V.I.4 Celda electroquímica para la degradación de compuestos

El diseño en SolidWorks 2018 mostrado en la Figura 2., permitió modelar cada uno de los componentes con precisión, definiendo operaciones de extrusión para el cuerpo cilíndrico, cortes paramétricos para los accesos y ensambles que representan la integración entre los materiales seleccionados para el diseño. Destacando el cilindro principal con una longitud de 240 mm y un diámetro interior de 50 mm, fabricado en acrílico transparente con un espesor de pared de 5 mm, mientras que la base de soporte está elaborada en el mismo material. La hermeticidad del sistema se logró mediante la presión ejercida sobre empaques de hule NBR (Nitrile Butadiene Rubber), sin necesidad de utilizar bridas atornilladas. En cada extremo del reactor se dispusieron tres puertos tipo conector Racor de 1/4", además de dos puertos adicionales ubicados en la parte inferior del cilindro, diseñados para la conexión de mangueras de aireación y la instalación de electrodos, los cuales se enlazan con los electrodos de titanio recubiertos de rutenio dispuestos en el interior. En la parte superior del cuerpo cilíndrico se integraron tres tapas desmontables, también selladas con empaques de hule NBR, que permiten un acceso directo al contenido

interno para operaciones de muestreo, limpieza o colocación de aditivos durante el proceso de electrobiorremediación.

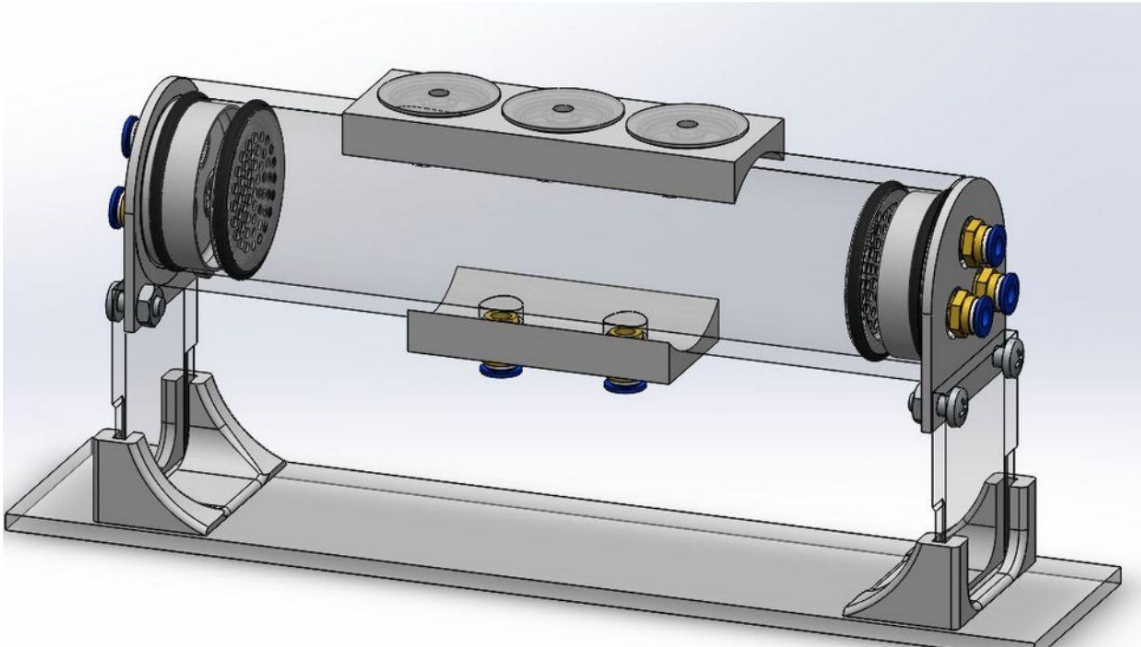


Figura 2. Diseño de la celda electroquímica desarrollada en SolidWorks 2018.

V.I.5 Cuantificación de los compuestos NPK mediante colorimetría

Para la identificación de niveles de nitrógeno, fósforo, potasio y pH se utilizó el KIT HANNA HI3896, es un kit químico de pruebas que utiliza colorimetría y turbidimetría para medir cuatro parámetros comunes en el suelo: nitrógeno, fósforo, potasio y pH. El kit de pruebas proporcionó una herramienta fundamental para evaluar características importantes relacionadas con la calidad del suelo. El procedimiento se llevó a cabo para las muestras de tierra contaminada antes y después de ser ingresadas a la celda electroquímica.

V.I.6 Reactivos

Hexano (C_6H_{14} , Meyer), diclorometano (CH_2Cl_2 , chemika), sulfato de sodio anhidro 50 g (Na_2SO_4 , Fagalab), cloruro de sodio ($NaCl$, JT Baker), agar papa dextrosa (PDA,

Merck) 20 g, cristal violeta (Hycel), solución de yodo (JT Baker), solución de alcohol-acetona, safranina (Hycel), medio de cultivo líquido: fosfato monopotásico 0.3 g/L (KH_2PO_4 , JT Kaker), sulfato de magnesio 0.09 g/L (MgSO_4 , JT Baker), cloruro de potasio 0.3 g/L (KCl, JT Baker), sulfato ferroso heptahidratado 0.01 g/L ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Fermont), sulfato cúprico pentahidratado 0.0015 g/L ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, JT Baker), sulfato de zinc heptahidratado 0.0161 g/L ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, JT Baker) sulfato de manganeso heptahidratado 0.08 g/L ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, JT Baker), nitrato de sodio 2.12 g/L (NaNO_3 , JT Baker), agua destilada.

V.2 Métodos

V.2.1 Extracción de suelo contaminado por hidrocarburos

Se tomaron muestras en zonas de cultivo rural caracterizada por prácticas agrícolas convencionales y posible exposición a hidrocarburos de acuerdo con la especificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, la cual establece que el muestreo de los suelos a estudiar debe realizarse bajo un plan previamente elaborado por el responsable de la contaminación o técnico designado, el cual debe incluir objetivo, características del sitio, superficie a evaluar, método de muestreo, número de puntos y profundidad, equipo a emplear, procedimientos de preservación, transporte y cadena de custodia, así como medidas de seguridad y aseguramiento de calidad, protección de las muestras sensibles a la luz y etiquetado inmediato con datos que coincidan con la cadena de custodia.

Se almacenaron 100 g de cada muestra de suelo en frascos rotulados. Se dejaron reposar las muestras durante dos semanas a la intemperie durante ese lapso se monitoreó la temperatura y el pH de las muestras cada tercer día con el equipo SOIL TESTER S-1, este instrumento es un analizador de suelo digital electrónico multifuncional. Prueba principalmente la iluminación ambiental, la humedad ambiental, el contenido de humedad, la temperatura y el pH.

Una vez transcurridas las dos semanas de monitoreo, se pesaron 100 g de cada muestra sobre papel aluminio rotulándolas de acuerdo con la nomenclatura.

V.2.2 Secado de muestras y crecimiento de microorganismos

Se utilizó una estufa de laboratorio (NOVATECH) con capacidad para operar tanto en procesos de secado de muestras como en el cultivo de microorganismos, para introducir las muestras de suelo a una temperatura dentro de un rango de 25 °C – 30 °C durante dos días. Para el crecimiento de microorganismos nativos se acondicionó dentro de un rango de 25 °C – 30 °C y se colocaron los cultivos, se mantuvieron por dos semanas en la incubadora, se revisó el crecimiento de las bacterias cada dos días, y que la temperatura se encontrara dentro del rango establecido.

V.2.3 Cuantificación de hidrocarburos mediante UV-Vis

Para comprobar la viabilidad del método por espectroscopía UV-Vis en la identificación de hidrocarburos presentes en muestras de suelos estudiados, se llevó a cabo la elaboración de una curva de calibración como prueba. Esta curva se utilizó para establecer una relación matemática entre la respuesta instrumental (absorbancia) y la concentración de hidrocarburos presente en la muestra. Se preparó una solución stock analito de interés, llevándolo a un matraz aforado de 10 mL disuelto en hexano como disolvente, teniendo así una concentración de 10 ppm del analito de interés, se realizaron cálculos para dos curvas de calibración con rangos por debajo de 10 ppm y superior a las 10 ppm como concentración. Se continuó con la lectura de absorbancia de estándares en el espectrofotómetro UV-Vis (EQUIPO JENWAY 6305) a una longitud de onda de 280 nm.

Para la cuantificación de hidrocarburos, se calibró el espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 280 nm. Con los valores obtenidos y mediante el uso de las curvas de calibración estándar elaboradas previamente, se determinaron las concentraciones de hidrocarburos presentes en las muestras de suelo, posteriores al tratamiento en la celda electroquímica, aplicando la ecuación correspondiente generada por dichas curvas.

V.2.4 Extracción de hidrocarburos por la técnica de Soxhlet

Se colocaron muestras de suelo pretratadas en cartuchos de papel filtro, se agregó

sulfato de sodio anhidro en la misma proporción del suelo (mismo peso) y se mezcló, los cartuchos preparados se colocaron dentro de la cámara de extracción del equipo Soxhlet. Se adicionó diclorometano (disolvente) dentro del matraz de fondo redondo donde se depositó el hidrocarburo extraído y al final se ensambló el resto del equipo Soxhlet para iniciar a calentar el matraz de fondo redondo hasta obtener una temperatura que permitió que el disolvente se evapore. Este sistema se mantuvo por un periodo de 5 a 6 horas seguidas aproximadamente hasta que el disolvente tuviera como características un color claro y transparente. Después de ese tiempo se obtuvieron todos los hidrocarburos solubles en diclorometano y se trasladaron a envases cerrados y rotulados para su posterior análisis.

V.2.5 Crecimiento del consorcio microbiano

De las muestras con mayor concentración de hidrocarburos se pesaron 10 g de cada una por separado, para mantenerlas en tubos cónicos de centrifuga con cloruro de sodio esterilizados y se llevaron a agitación manual por un lapso de 10 minutos y se almacenaron. Cada muestra se trabajó por separado y por duplicado. Para la preparación del cultivo microbiológico se inició con la esterilización del material de laboratorio necesario, incluyendo las cajas Petri. Para la preparación del agar nutritivo se pesaron 20 g de este, y se le agregaron 400 mL de agua destilada, se llevó a ebullición bajo vigilancia y mezclando para evitar la formación de grumos, al llegar a ebullición se dejó de 1 a 2 minutos más. Luego se procedió a resguardarlo dentro de un frasco de vidrio hasta su solidificación para llevarlo a esterilización. Una vez esterilizado y solidificado el medio de cultivo, se procedió a su licuado previo al vertido en cajas Petri. En tubos de microcentrífuga, se realizaron diluciones de las muestras contaminadas provenientes de las muestras seleccionadas, utilizando diluciones seriadas 1:100, 1:1000 y 1:10000, por duplicado para cada muestra y cada dilución. Durante este proceso, se siguió estrictamente las medidas de higiene y buenas prácticas de laboratorio. El procedimiento se repitió con cada muestra de suelo, por duplicado en cada concentración, para posteriormente llevarlas a incubación. Una vez pasado el tiempo de incubación, se extrajeron los medios de

cultivo con crecimiento microbiano y de manera manual se contaron el número de colonias formadas. Para calcular el número de un Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cada una de las muestras se realizó una inspección visual a las placas de agar, se contó el número de colonias visibles en cada placa, se aseguró el contar solo las colonias aisladas y bien definidas y se anotó el número de colonias para cada placa en base a promedio (dado que el conteo se realizó por triplicado). Después de determinar las UFC/mg, se procedió a preparar el inóculo. Para el cultivo de bacterias se realizó un medio de cultivo líquido tomando 200 μ L de stock y se agregó en un matraz Erlenmeyer y se dejó en agitación por 72 horas. Finalmente, este inóculo fue utilizado para ser vaciado en la celda electroquímica.

V.2.6 Identificación del consorcio microbiano mediante Tinción de Gram

Con ayuda de láminas portaobjetos previamente limpias, desengrasadas y secas, se procedió a la elaboración de frotis bacterianos. Utilizando un asa estéril, se tomó una pequeña cantidad de las bacterias obtenidas de los cultivos previos y se realizó un extendido uniforme sobre la superficie del portaobjetos, mediante movimientos circulares. Posteriormente, las preparaciones se trasladaron al área de tinción, donde se cubrieron completamente cada frotis con cristal violeta durante 30 segundos, manteniendo las láminas en posición horizontal y paralela. Finalizado el tiempo, se decantó el colorante y se enjuagó cuidadosamente con agua destilada utilizando una piseta, evitando el contacto directo con el frotis.

Luego, se aplicó la solución de Lugol (yodo) durante 30 segundos, se enjuagó nuevamente y se eliminó el exceso de agua. A continuación, se llevó a cabo la decoloración con una solución de alcohol-acetona aplicando gota a gota hasta que ya no se desprendió más colorante. Inmediatamente se enjuagó con agua destilada para detener la decoloración y se eliminara el exceso de líquido. Por último, se aplicó safranina como colorante de contraste, dejándola actuar durante 30 segundos.

Se realizó un enjuague final, se escurrió el exceso de agua y se dejó secar al aire

libre. Este procedimiento fue realizado por duplicado para cada concentración de cultivo bacteriano. Una vez teniendo completas las tinciones de todas las concentraciones de interés de bacterias se procedió a su identificación (Gram positivas/negativas) en el microscopio. Se tomó una de éstas y se colocó sobre la platina del microscopio, con ayuda de luz, y manipulando el portaobjetos (acomodándolo en un lugar mayormente visible para tener una mejor visión de las bacterias) se realizó la identificación y el registro de las características visibles de las bacterias como forma, color y bordes.

V.2.7 Biorremediación de suelos contaminados mediante una celda electroquímica.

Se observó el efecto sobre el pH y degradación de hidrocarburos. Los electrodos de titanio fueron seleccionados teniendo en cuenta la estabilidad y una alta resistencia a la corrosión.

Se preparó un buffer de NaNO_3 0.1 M, el cual fue encargado de llevar a cabo la reacción para lograr que se produzca la electrólisis que se ocupó para dar los choques eléctricos, se utilizó una cantidad aproximada de 10 mL en cada extremo de la celda. La celda electroquímica fue llenada con 200 g de la muestra de suelo contaminado, se añadió el inóculo asegurando su distribución homogénea. Una vez completado este paso, la celda fue sellada y se dejó en reposo durante 72 horas (3 días) con el fin de permitir el desarrollo y adaptación de los microorganismos presentes. Una vez transcurridas las 72 horas y los microorganismos lograron una adaptación, la celda comenzó su función ya lista con el inóculo de bacterias, se le agregó el buffer en el compartimento anódico y catódico. Posteriormente el sistema de electrobiorremediación fue alimentado mediante una fuente de poder de corriente directa (DC) fuente de alimentación DC modelo RXN-305D (0–30 V), la cual permitió aplicar un potencial controlado entre los electrodos de la celda electroquímica. Se estableció un voltaje constante de 3.5 V, seleccionado con base en estudios previos donde se reporta que el uso de voltajes bajos o gradientes eléctricos moderados favorece los procesos electrocinéticos sin afectar negativamente la actividad

microbiana ni generar alteraciones extremas en parámetros fisicoquímicos del suelo, como el pH o la temperatura (Wen y col., 2021; Cai y col., 2022). En este contexto, el potencial aplicado en el estudio se encontró dentro de los rangos reportados como adecuados para sistemas de electroremediación, permitiendo una operación eficiente de la celda sin comprometer la viabilidad de los microorganismos involucrados en la degradación de hidrocarburos.

La celda se dejó en funcionamiento durante 72 horas y cada 12 horas se le agregó buffer en los compartimentos anódico y catódico para simular la recirculación de este. Durante los 3 días que la celda estuvo en funcionamiento se tomaron 5 g de muestras de tierra cada 12 horas y su vez se midieron parámetros como temperatura, humedad y pH. La biorremediación se mantuvo a 30 °C durante los 12 días.

V.2.8 Cuantificación de nitrógeno, fosfato y potasio NPK

Para la cuantificación de NPK, se usó el kit HANNA, mencionado anteriormente en el apartado de reactivos.

Nivel de nitrógeno/fósforo se tomaron 2.5 mL de solución patrón y se agregó en un tubo de precipitado limpio. Enseguida se añadió un sobre de reactivo de nitrógeno/fosforo, se tapó y agitó durante 30 segundos. Finalmente se determinó su nivel a partir de la coloración adquirida.

Nivel de potasio se tomaron 0.5 mL de la solución patrón y 2.5 mL de la solución de extracción posteriormente se añadió un sobre de reactivo de potasio, se tapó y agitó durante 30 segundos. El nivel se determinó a partir de la coloración adquirida.

Nivel de pH se tomaron 6 medidas de suelo inicial/final, se agregaron 7.5 mL de una solución de pH, se agitó durante 1 minuto y se dejó en reposo 5 minutos. Transcurrido el tiempo, se determinó su pH utilizando la escala colorimétrica.

V.2.9 Análisis estadístico

Para el tratamiento estadístico se realizó un análisis de varianza (ANOVA) se realizó mediante pruebas de comparación de Tukey ($\alpha \leq 0.05$, $n = 10$). El análisis se llevó a cabo con el software SPSS PASW Statistics 1

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI.1 Monitoreo de parámetros fisicoquímicos de muestras de suelo contaminadas por hidrocarburos

Se obtuvieron valores de temperatura y pH tomados y registrados cada tercer día durante quince días. En base al Cuadro 4 y la Figura 3, se observó que la temperatura se mantuvo dentro de un rango óptimo para la actividad microbiana (24 - 31 °C), lo cual puede favorecer procesos de biodegradación de acuerdo con lo reportado en el estudio “Biodegradación anóxica mejorada térmicamente de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en un suelo envejecido altamente contaminado” Sun y col., 2022, donde se observó que el número total de bacterias potencialmente degradantes aumentó entre 0.11 y 0.72 órdenes de magnitud, al aplicar tratamientos térmicos en rangos de 20, 30, 40 y 50 °C, evidenciando que el incremento de la temperatura dentro de intervalos mesófilos favorece la actividad microbiana y la biodegradación de contaminantes orgánicos.

Cuadro 4. Monitoreo de los parámetros fisicoquímicos iniciales.

Muestra de suelo	Día 1 (°C)	pH	Día 4 (°C)	pH	Día 8 (°C)	pH	Día 11 (°C)	pH	Día 15 (°C)	pH
PCV	30	7	25	7	25	7	25	7	25	7
PCPE	30		26		29		29			
PCH	31		25		32		32			
CV	27		26		29		29			
CPE	24		25		26		26			
CC	31		26		29		29			
CH	31		26		29		29			
CSA	30		25		28		28			

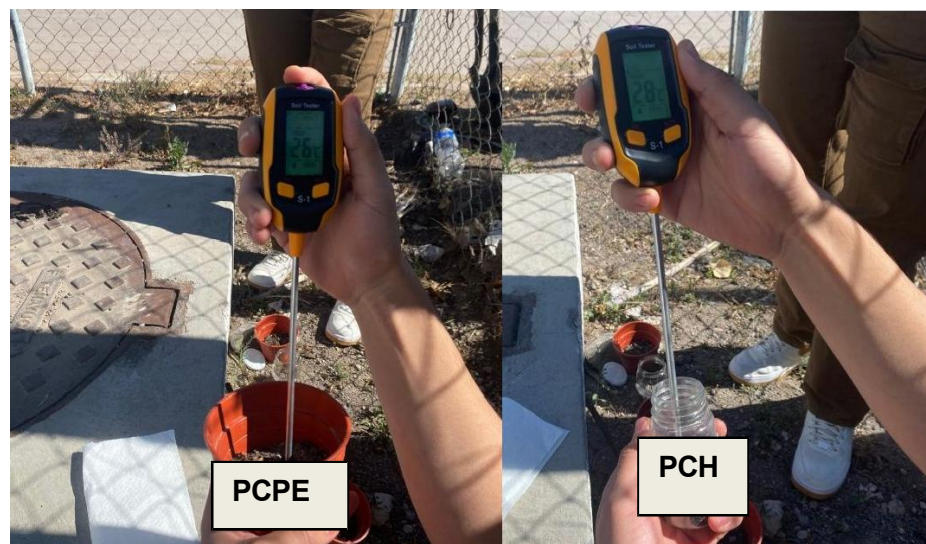


Figura 3. Monitoreo de los parámetros fisicoquímicos iniciales.

Algunas muestras mostraron un ligero incremento de temperatura, lo que podría estar asociado a la actividad metabólica de los microorganismos presentes. El pH registrado en todas las muestras se mantuvo constante alrededor de valores neutros. Los parámetros fisicoquímicos monitoreados, especialmente la temperatura (24 – 31 °C) y el pH neutro registrado en todas las muestras, evidencian una clara coincidencia con lo reportado en la literatura reciente. Estudios como el de Li y col., 2021 en sistemas bio-electrocinéticos tecnológicamente similares a la celda electroquímica empleada aquí demuestran que procesos electro asistidos requieren pH cercano a 7 y temperaturas moderadas para sostener la actividad microbiana degradadora.

De igual manera, trabajos como los de Rodríguez y col., 2021; García Rivero y col., 2022 y Santos y col., 2023 confirman que suelos con pH neutro, humedad adecuada y temperaturas por encima de los 24 °C favorecen la adaptación y metabolismo de consorcios microbianos capaces de degradar hidrocarburos. La concordancia general entre estos estudios y los valores obtenidos en este trabajo respalda la validez de las condiciones registradas y su papel en la eficiencia observada del proceso de biorremediación.

VI.2 Curva de calibración mediante espectroscopía UV-Vis

Posteriormente, se obtuvo la curva de calibración utilizando soluciones estándar del analito de interés que fue la gasolina (seleccionada por ser el principal hidrocarburo presente en las muestras de suelo analizadas), preparada en el mismo solvente empleado para la extracción de los hidrocarburos del suelo (hexano), con el fin de simular la matriz de las muestras extraídas.

La concentración de hidrocarburos en las muestras se calculó a partir de la ecuación de la curva de calibración obtenida por espectrofotometría UV-Vis. En dicha curva, la absorbancia (variable dependiente) se representa en función de la concentración (variable independiente). A partir de la ecuación de regresión lineal obtenida, la concentración se determinó despejando la variable correspondiente en función de la absorbancia registrada para cada muestra.

La Figura 4., representa la curva de calibración con rango inferior de 20 ppm, presentó una linealidad, con una ecuación de $y = 0.0120x + 0.0484$ y un coeficiente $R^2 = 0.9748$, lo que arroja una alta correlación entre las concentraciones de los estándares y las absorbancia obtenida.

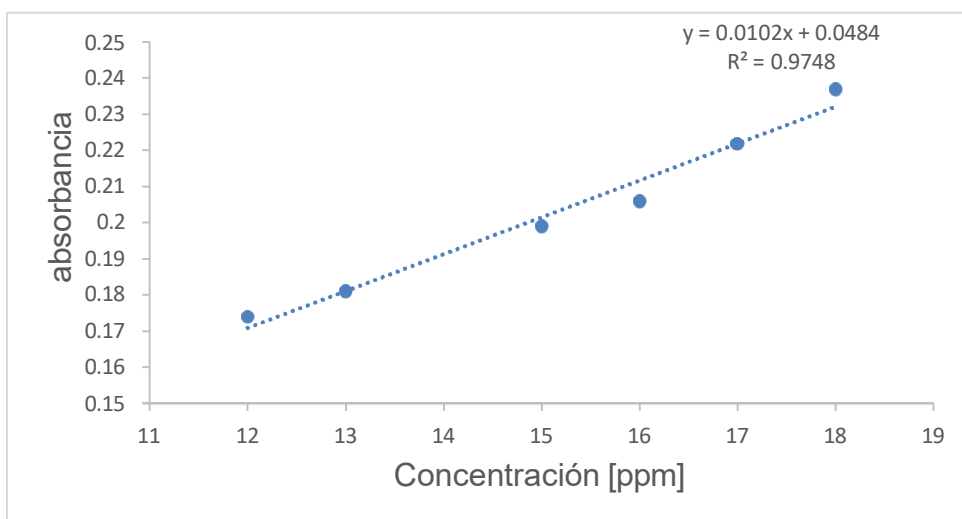


Figura 4. Curva de calibración de 12 – 20 ppm.

Se puede observar que la curva permite interpolar las concentraciones de hidrocarburos presentes en las muestras tratadas antes y después del proceso en la celda electroquímica, así mismo los resultados confirman que el método aplicado por espectroscopía UV-VIS fue adecuado para monitorear la remoción de hidrocarburos en suelos contaminados.

El uso de espectrofotometría UV-Vis para elaborar curvas de calibración y cuantificar hidrocarburos en las muestras coincide con la metodología aplicada por otros autores en estudios similares, ya que es adecuada para detectar compuestos derivados de gasolina debido a la presencia de enlaces conjugados característicos de estos hidrocarburos. En investigaciones previas, como la realizada por Dionicio, 2024 la técnica UV-Vis también fue empleada para determinar la concentración residual de hidrocarburos en cultivos microbianos, utilizando diluciones preparadas a diferentes porcentajes para construir curvas de calibración confiables. La metodología aplicada en este estudio y lo reportado en la literatura respalda la validez del procedimiento analítico utilizado, así como la precisión de los valores obtenidos.

VI.3 Concentración de hidrocarburos en muestras de suelo antes del tratamiento con la celda electroquímica.

La Figura 5., representa las muestras con la concentración inicial de hidrocarburos en las diferentes muestras de suelo contaminado (PCV, PCPE, PCH, CV, CPE, CC, CH y CSA), observándose una marcada variabilidad entre los sitios de muestreo.

La muestra PCPE presenta la concentración más alta de hidrocarburos, con un valor aproximado de 25×10^3 ppm, muy superior al resto de las muestras, lo cual rebasa ampliamente los límites permisibles establecidos por la NORMA-138-SEMARNAT/SSA1-2012, incluso para uso industrial, indicando un nivel de contaminación severo. El resultado sugiere que dicho punto de muestreo podría estar ubicado en una zona cercana a una fuente directa de contaminación, como fugas en líneas de conducción, áreas de almacenamiento, escurrimientos superficiales o

puntos donde históricamente se hayan realizado actividades de manejo de combustibles.

En contraste, las muestras representadas como CPE y CH presentaron concentraciones considerablemente menores, lo que indica que no todas las zonas del sitio presentan el mismo grado de impacto ambiental. Por otro lado, la muestra como PCH indicó una concentración intermedia, lo que sugiere una afectación moderada, posiblemente relacionada con una exposición indirecta al contaminante o con eventos de contaminación menos recientes.

El análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha \leq 0.05$, $n = 10$) permitió determinar diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de hidrocarburos y nutrientes evaluados en las distintas muestras y tiempos de tratamiento. Los resultados confirmaron que la muestra PCPE presentó concentraciones significativamente mayores en comparación con el resto de los sitios, evidenciando una heterogeneidad espacial en el grado de contaminación

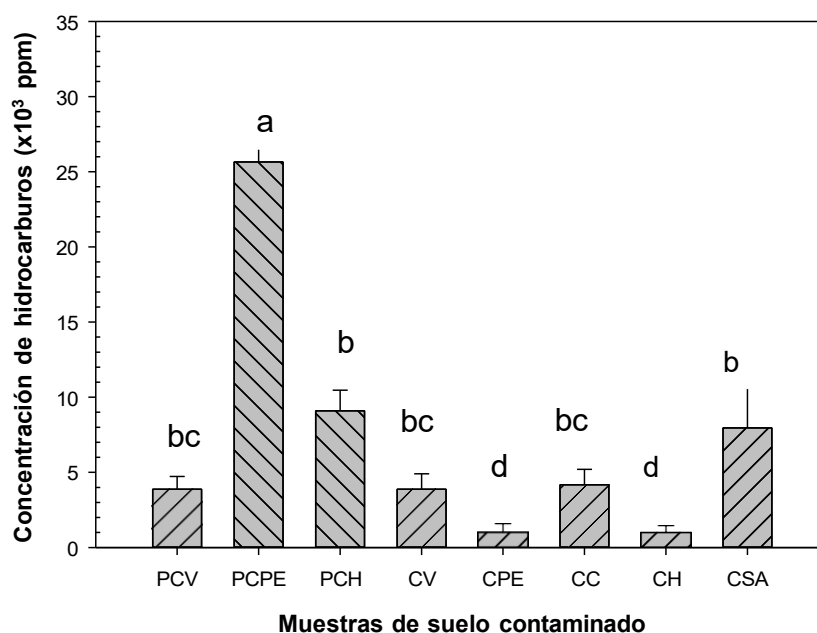


Figura 5. Concentración de hidrocarburos en muestras de suelo contaminado. Los

datos presentados en columnas marcadas con letras distintivas indican diferencias estadísticamente significativas, a un nivel de significancia de $p < 0,05$ ($n = 10$).

Las concentraciones iniciales de hidrocarburos obtenidas mediante extracción Soxhlet, al encontrarse en el orden de 10^3 ppm, superan ampliamente los límites establecidos en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, la cual fija un máximo permisible de 220 ppm para suelos contaminados. Estos valores, que representan niveles de contaminación entre 100 y 300 veces superiores al límite normativo, reflejan una condición ambiental severa asociada típicamente con derrames directos o acumulaciones prolongadas de hidrocarburos en el suelo. Esta magnitud de contaminación no solo excede la capacidad natural de atenuación del ecosistema, sino que también altera de manera significativa las propiedades fisicoquímicas del suelo, inhibe la actividad microbiana nativa y representa un riesgo potencial para el ambiente y la salud.

Estudios experimentales y de campo han reportado cargas iniciales que van desde decenas de ppm hasta decenas de miles de ppm por ejemplo, 164 ± 18 ppm en suelos objeto de electro-remediación (Saini y col., 2021) y valores de 14,087- 36,775 ppm en suelos crónicamente contaminados (Okoye y col., 2024), lo que confirma que los niveles detectados en nuestras muestras representan escenarios reales de contaminación y no son atípicos.

Por ello, la implementación de un proceso de remediación intensivo, como el tratamiento con celda electroquímica empleado en este estudio, resulta plenamente justificada con el fin de disminuir las concentraciones hasta niveles compatibles con la normatividad vigente y restaurar la calidad del suelo.

VI.4 Disposición de los microorganismos nativos del suelo contaminado por hidrocarburos

En la Figura 6., la caja Petri con agar número 1 representa la placa control lo que indica que el medio y las condiciones de incubación fueron estériles. Por otro lado,

en la misma figura, los cultivos correspondientes a las muestras como PCPE y PCH, se observó crecimiento de colonias, lo que confirma la presencia de bacterias en las muestras estudiadas.

Comparando las muestras, las placas correspondientes a PCPE presentaron un crecimiento más denso a la misma dilución (1:1000) que las que representan a las de PCH, existe una mayor concentración bacteriana inicial en la muestra de PCPE.

Se puede asumir a las diferentes cargas microbianas entre zonas, ya sea por el tipo de suelo, materia orgánica disponible, humedad o contaminación previa, de acuerdo con INEGI en su compendio de información geográfica municipal la edafología dominante de PCPE se caracteriza por la presencia de los vertisoles como suelo dominante, abarcando un 81.73 % de la superficie municipal. Los phaeozems representan el 11.53 %, y los leptosoles el 3.06 %, así mismo para PCH, phaeozem 43.26 %, vertisol 41.26 %, leptosol 11.25 % y acrisol 3.04 %, INEGI (2022-2024).



Figura 6. Cuantificación de la formación de colonias de las muestras de suelo.

La cuantificación de la población bacteriana en las muestras se realizó mediante la ecuación:

$$\frac{\text{UFC}}{\text{cm}^2} = \frac{\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} * v}{A} \quad \text{Ecuación (1)}$$

Donde:

- $\frac{\text{UFC}}{\text{mL}}$: Número de colonias por mL
- Volumen de dilución: Volumen de la primera dilución en mL
- A: Área en cm^2

expresando los resultados en Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL).

PCPE [1:1000]

Promedio del recuento de colonias: 35

$$\frac{35 \text{ UFC}}{100 \mu\text{L}} = 0.35 \frac{\text{UFC}}{\mu\text{L}}$$

$$0.35 \frac{\text{UFC}}{\mu\text{L}} \cdot \frac{1000 \mu\text{L}}{1 \text{ mL}} = 350 \frac{\text{UFC}}{\text{mL}}$$

$$350 \text{ UFC/mL} \times 1000 = 3.5 \times 10^5 \text{ UFC/mL}$$

PCH [1:10000]

Promedio del recuento de colonias: 72

$$\frac{72 \text{ UFC}}{100 \mu\text{L}} = 0.72 \frac{\text{UFC}}{\mu\text{L}}$$

$$0.72 \frac{\text{UFC}}{\mu\text{L}} \cdot \frac{10000 \mu\text{L}}{1 \text{ mL}} = 7200 \frac{\text{UFC}}{\text{mL}}$$

$$7200 \text{ UFC/mL} \times 10000 = 7.2 \times 10^6 \text{ UFC/mL}$$

Los cálculos confirmaron la alta carga microbiana presente en las distintas muestras

estudiadas. La presencia de una alta densidad de microorganismos se puede relacionar con una actividad de biodegradación en curso, dado que presentan la capacidad de utilizar los hidrocarburos como fuente de carbono y energía, además a medida que las bacterias se adaptan, su número aumenta, lo que les permite degradar el contaminante de manera más eficiente.

La influencia del tipo de suelo en la dinámica microbiana observada en este estudio coincide con lo reportado por Rodríguez y col., 2022, quienes señalan que los suelos franco-arenosos, arcillosos y con alto contenido de materia orgánica pueden favorecer la proliferación de microorganismos autóctonos capaces de participar en procesos de biodegradación. Estos autores destacan que, bajo estas condiciones, es común encontrar un elevado número de unidades formadoras de colonias con capacidad de mineralizar compuestos orgánicos mediante el aprovechamiento del carbono e hidrógeno presentes en los hidrocarburos como fuentes de energía. La concordancia entre dichos hallazgos y el comportamiento microbiano observado en las muestras tratadas refuerza la interpretación de que los consorcios presentes en el suelo contribuyeron activamente a la degradación de hidrocarburos registrada en este trabajo, las características físicas y el contenido de materia orgánica del sustrato favorecieron el desarrollo de comunidades microbianas degradadoras, lo cual concuerda con los valores obtenidos y sustenta la validez de los resultados del tratamiento aplicado.

VI.5 Identificación del consorcio microbiano mediante técnicas microbiológicas.

En la Figura 7., se observaron numerosas células bacterianas de colonias circulares, convexas, de bordes irregulares, tras la tinción de Gram el color observado indica que se trata de bacterias Gram-positivas, debido a que presentan tonalidades violeta-azuladas al retener el colorante primario lo cual coincide con la presencia de una pared celular rica en peptidoglicano. Así mismo se observan coloraciones rojizas o rosadas correspondientes a bacterias Gram-negativas.

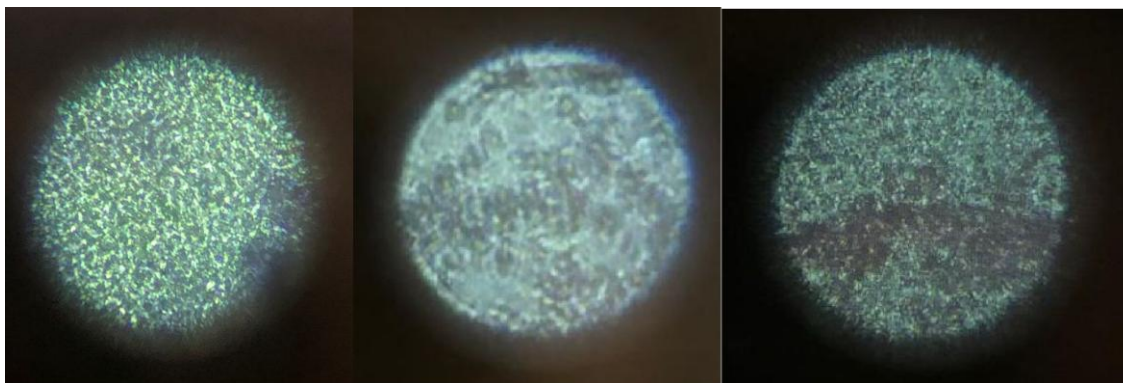


Figura 7. Identificación de bacterias bajo microscopio a 20x.

Los resultados obtenidos en el presente estudio respecto al crecimiento microbiano en las muestras de suelo coinciden con lo señalado por Amobonye y col. (2021), quienes destacan que los consorcios microbianos integrados tanto por bacterias como por hongos desempeñan un papel fundamental en la biodegradación de hidrocarburos. De acuerdo con estos autores, se han identificado alrededor de 63 géneros microbianos con capacidad degradadora, entre los cuales las eubacterias muestran la mayor eficiencia, particularmente *Streptomyces* sp. y *Pseudomonas* sp., mientras que dentro de los hongos destacan especies del género *Aspergillus*.

Además, la evidencia generada en otros estudios respalda la presencia de microorganismos con alto potencial degradador en suelos contaminados por hidrocarburos. En un trabajo reciente, Dayamrita y col., (2020) aislaron cepas bacterianas provenientes de suelos impactados por petróleo e identificaron a *Bacillus* sp. como uno de los microorganismos predominantes, destacando particularmente su capacidad para producir biosurfactantes de tipo lipopéptido. Este tipo de compuestos favorece la solubilización y disponibilidad de los hidrocarburos, facilitando su captación y degradación por parte de las células microbianas.

La presencia de crecimiento microbiano en las muestras analizadas en este trabajo, así como la actividad asociada a la disminución de hidrocarburos, sugiere la posible participación de microorganismos con perfiles degradadores similares a los reportados en la literatura. Esta concordancia fortalece la interpretación de que el

consorcio bacteriano y fúngico presente en el suelo contribuyó de manera significativa al proceso de biorremediación, actuando de forma complementaria con la celda electroquímica.

En este contexto, previo a la operación de la celda electroquímica se realizó la inoculación controlada del sistema con una concentración inicial de 1×10^6 células/mL, con el propósito de asegurar el arranque del crecimiento bacteriano y favorecer el establecimiento del consorcio microbiano en el suelo tratado.

VI.6 Construcción de una celda electroquímica.

La construcción de la celda electroquímica como lo muestra la Figura 8., constituyó una etapa clave dentro del proceso de biorremediación, ya que su diseño fue adaptado específicamente para la estimulación controlada de los microorganismos presentes en el suelo contaminado.

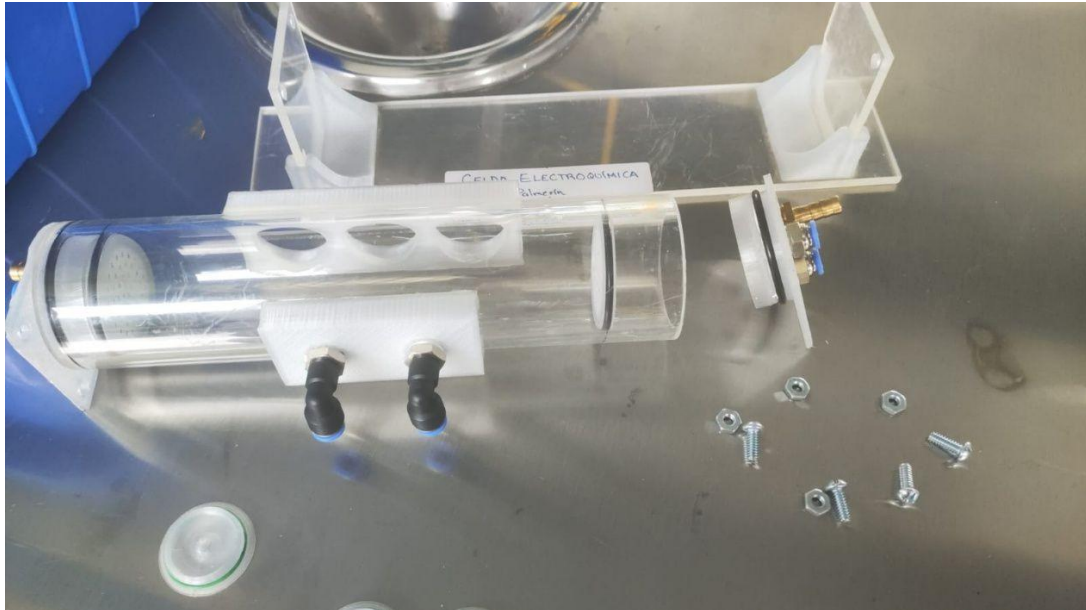


Figura 8. Construcción de la celda electroquímica

La estructura cilíndrica y transparente como lo muestra la Figura 9., permitió visualizar el comportamiento del sustrato, mientras que la incorporación de compartimentos anódico y catódico, junto con conexiones para recirculación del

electrolito, garantizó un funcionamiento estable durante todo el tratamiento. Asimismo, la selección de materiales resistentes a la corrosión y la integración de electrodos de titanio aseguraron la durabilidad del sistema frente a condiciones variables de pH y conductividad.

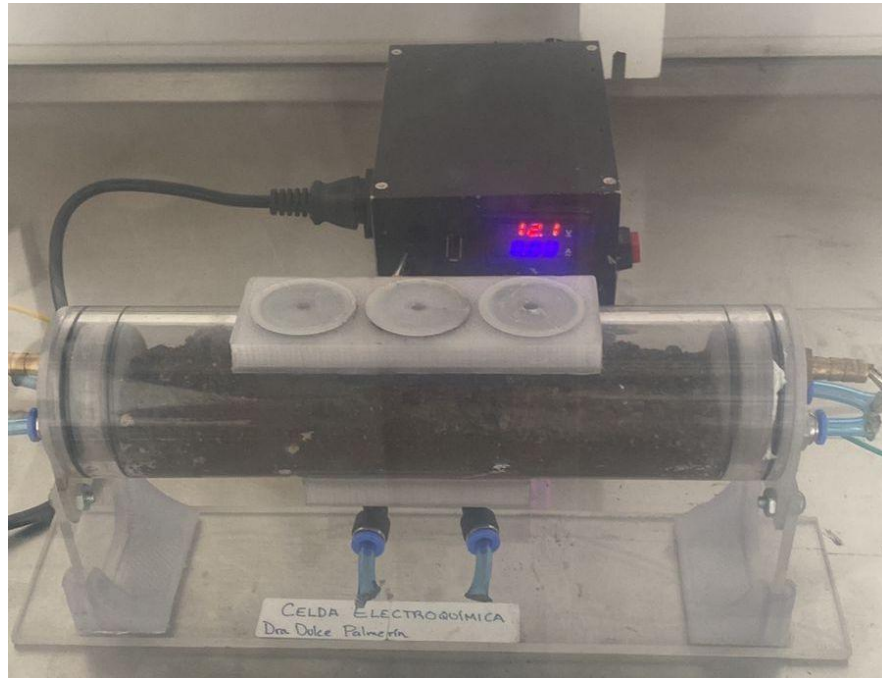


Figura 9. Uso de la celda electroquímica.

Diversos estudios recientes respaldan el uso de celdas electroquímicas como una alternativa eficiente para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos, lo que fundamenta la pertinencia del diseño empleado en este trabajo. Lan y col., (2023) destacan que los procesos bioelectrocinéticos y bioelectroquímicos mejoran la movilización de contaminantes, incrementan la biodisponibilidad de los hidrocarburos y favorecen la actividad de microorganismos degradadores, lo que permite acelerar la biorremediación en comparación con métodos convencionales.

De manera complementaria, Ambaye (2023) señala que los sistemas bioelectroquímicos requieren configuraciones adecuadas de electrodos, materiales conductores estables y condiciones controladas de potencial eléctrico para mantener

rutas metabólicas microbianas activas, subrayando la importancia de seleccionar materiales como el titanio debido a su resistencia a la corrosión y estabilidad electroquímica.

Finalmente, Noori y col., (2022) enfatizan que el uso de compartimentos anódico y catódico con solución electrolítica controlada mejora la eficiencia del transporte de electrones y permite regular el pH local, factores clave para sostener un ambiente favorable para la degradación de hidrocarburos. En conjunto, estos antecedentes demuestran que la construcción y configuración de la celda electroquímica utilizada en este estudio se alinean con prácticas validadas en la literatura y constituyen una elección técnicamente sólida para potenciar la biorremediación.

VI.7 Monitoreo fisicoquímico de las muestras de suelo en la celda electroquímica durante el proceso de la biorremediación.

El análisis de los parámetros medidos (pH, temperatura y tiempo) permite identificar el comportamiento del sistema, así como la respuesta del suelo frente a las condiciones impuestas por la celda. Estos datos son fundamentales para determinar la eficiencia del proceso y para comprender las variaciones que acompañan la degradación de los hidrocarburos.

Los resultados obtenidos tras aplicar el proceso de biorremediación en la celda electroquímica, con el propósito de evaluar los cambios generados en las propiedades fisicoquímicas del suelo durante el tratamiento se presentan a continuación en las Figuras 10 y 11.

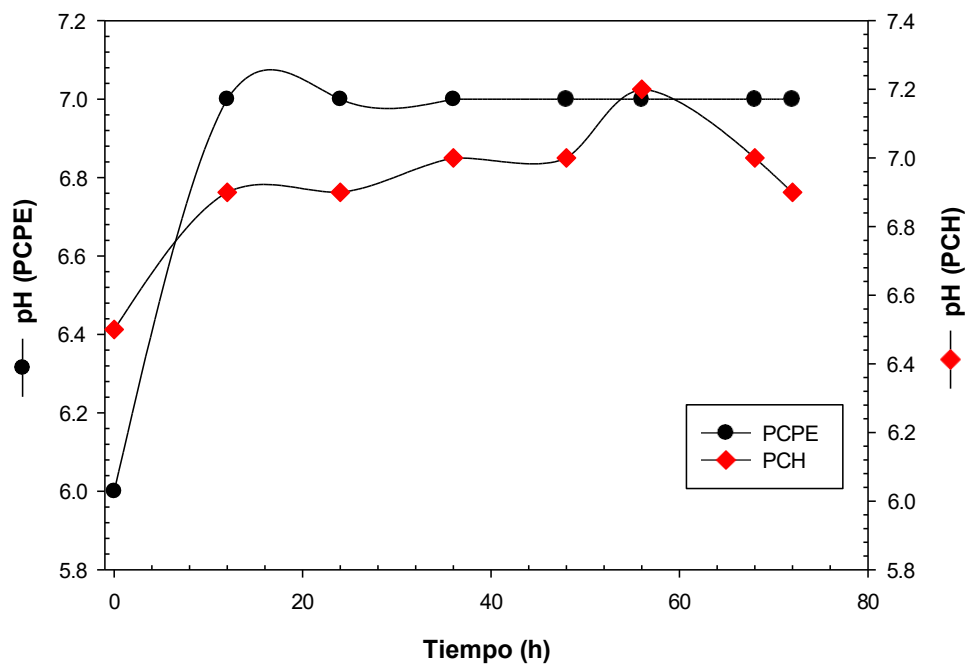


Figura 10. Medición del pH durante la biorremediación.

La evolución del pH y la temperatura observada durante el proceso de biorremediación en la celda electroquímica revela que el sistema mantuvo condiciones fisicoquímicas estables y favorables para la actividad microbiana degradadora. En ambas muestras (PCPE y PCH), el pH convergió hacia valores cercanos a la neutralidad alrededor de 7 y se mantuvo relativamente constante, lo que asegura un ambiente adecuado para la acción de enzimas oxidativas y evita la inhibición del metabolismo microbiano.

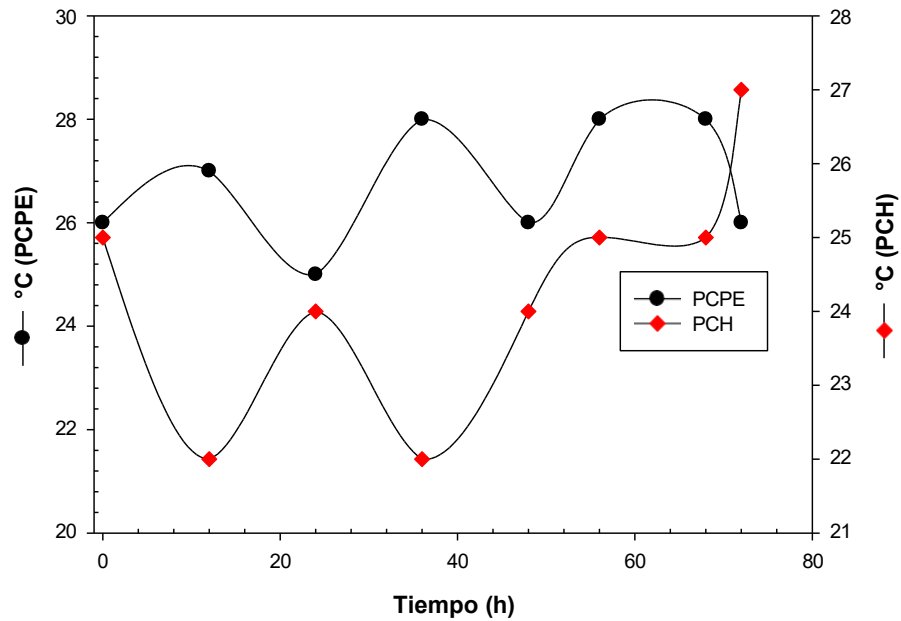


Figura 11. Cinética de la temperatura durante el proceso de biorremediación.

Este comportamiento coincide con lo reportado en estudios recientes sobre suelos contaminados por hidrocarburos, donde los patrones observados en la evolución del pH y de la temperatura durante el tratamiento electroquímico concuerdan con lo descrito en la literatura reciente sobre biorremediación y remediación electro-asistida.

Tal como señalaron Lan y col., (2023), en sistemas bioelectroquímicos el pH suele estabilizarse alrededor de valores neutros debido al equilibrio entre la producción microbiana de ácidos y la capacidad amortiguadora del electrolito, comportamiento similar al registrado en las muestras PCPE y PCH, cuyos valores convergieron hacia 6.8 – 7.1 a lo largo del proceso. De manera consistente, Saini y col., (2021) demostraron que, aunque los campos eléctricos pueden generar gradientes de pH cerca de los electrodos, la adición de soluciones amortiguadoras y el diseño cerrado de la celda permiten mantener condiciones neutras, lo cual coincide con la estabilidad observada en este experimento.

Asimismo, las fluctuaciones moderadas de temperatura dentro del rango mesófilo (~22

– 28 °C) son congruentes con lo reportado por Mekonnen y col., (2024), quienes destacaron que la actividad microbiana degradadora de hidrocarburos ocurre de manera óptima en este intervalo térmico, favoreciendo la mineralización de compuestos orgánicos

Los datos confirman que la celda electroquímica no provocó alteraciones drásticas en las características del suelo, sino que permitió mantener condiciones óptimas para la biodegradación, reforzando la validez del tratamiento aplicado.

VI.8 Cinéticas de consumo aplicando remediación mediante la celda electroquímica.

Concluido el periodo de tratamiento, en la Figura 12., gracias a la cinética de consumo de hidrocarburos durante la remediación fue posible determinar las concentraciones finales de los contaminantes presentes en las muestras sometidas a la celda electroquímica. Estos valores permiten evaluar de forma directa la eficacia del proceso de remediación, así como identificar los cambios generados en la composición del suelo tras la aplicación del campo eléctrico y la actividad microbiana asociada. A continuación, se presentan los resultados obtenidos, los cuales muestran el grado de reducción alcanzado y permiten comparar el comportamiento del sistema frente a las condiciones iniciales del suelo contaminado.

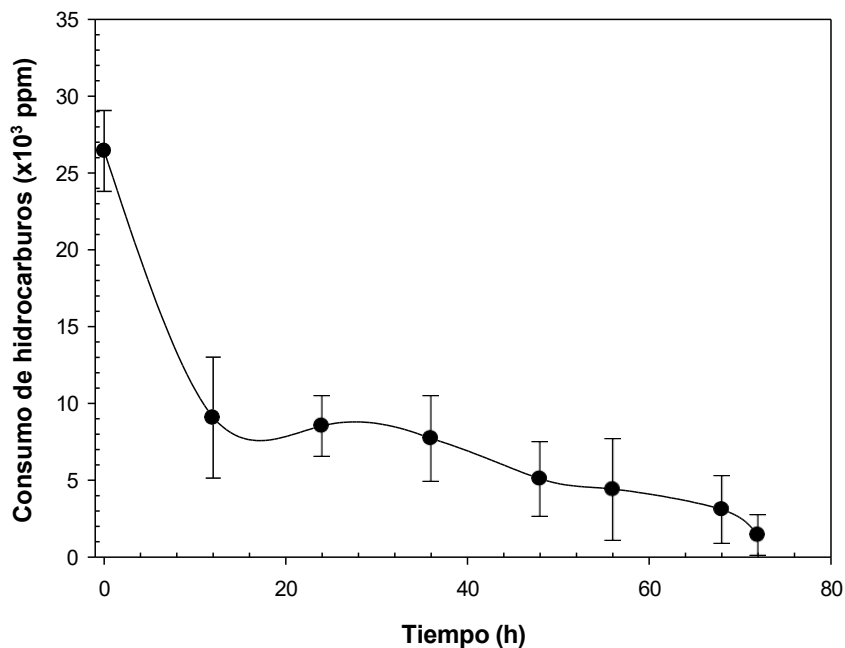


Figura 12. Cinética de consumo de hidrocarburos durante la remediación para muestras de PCPE.

La notable disminución en las concentraciones de hidrocarburos en las muestras de suelo contaminado de PCPE pasando de aproximadamente 27×10^3 ppm, disminuyendo progresivamente hasta valores cercanos a $1-2 \times 10^3$ ppm al final del periodo de 72 h, demuestran una reducción significativa, aunque no una eliminación total de los contaminantes presentes en el suelo. No obstante, los valores residuales se encuentran por debajo de los límites máximos permisibles establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, la cual establece un máximo de 440 ppm para hidrocarburos totales en suelos destinados a uso agrícola. En este sentido, aun cuando persiste una fracción residual de hidrocarburos, el suelo tratado mediante la celda electroquímica puede considerarse apto para uso agrícola desde el punto de vista normativo, ya que las concentraciones remanentes no representan un riesgo significativo para el ambiente ni para la salud.

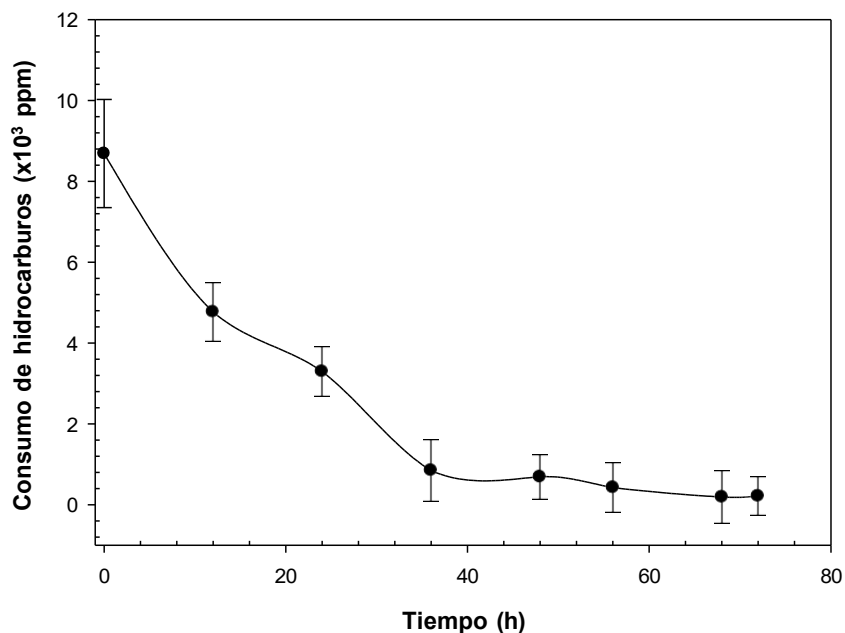


Figura 13. Cinética de consumo de hidrocarburos durante la remediación para muestras de PCH.

En el caso de las muestras de PCH observadas en la Figura 13., la concentración inicial fue cercana a 9×10^3 ppm, reduciéndose hasta aproximadamente $0.2 - 0.5 \times 10^3$ ppm al final del proceso, lo que indica una alta eficiencia en la degradación de los hidrocarburos presentes tras el tratamiento en la celda electroquímica, demuestra una alta eficiencia del proceso. Esta reducción drástica evidencia que gran parte de los compuestos presentes fueron degradados.

El análisis de los datos mostró una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de hidrocarburos medidas a lo largo del tiempo de tratamiento. Esta tendencia decreciente y significativa respalda la eficiencia del sistema en la remoción de hidrocarburos del suelo contaminado. Cabe señalar que el experimento se realizó por duplicado, y los valores presentados corresponden al promedio de ambas réplicas, lo cual incrementa la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos.

La gasolina es una mezcla compleja de hidrocarburos derivados del petróleo, compuesta principalmente por moléculas en el rango de C_5 a C_{12} , que incluyen

hidrocarburos saturados (alcanos y cicloalcanos), olefinas e hidrocarburos aromáticos, entre los cuales destacan los compuestos del grupo BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno), ampliamente reconocidos por su toxicidad y su alta movilidad en suelos y aguas subterráneas. Estos compuestos se consideran indicadores representativos de contaminación por gasolina en ambientes impactados y suelen emplearse para evaluar la eficiencia de los procesos de remediación (Bacosa et al., 2021). Durante los procesos de biorremediación, los microorganismos utilizan estos hidrocarburos como fuente de carbono y energía, iniciando su transformación mediante enzimas como monooxigenasas y dioxigenasas, las cuales incorporan oxígeno en la molécula para hacerla más reactiva y susceptible a posteriores transformaciones metabólicas. En el caso de los hidrocarburos aromáticos, este proceso conduce a la activación del anillo bencénico y a su posterior ruptura, generando intermediarios como catecoles, alcoholes y ácidos orgánicos, los cuales pueden integrarse a rutas metabólicas centrales como el ciclo de Krebs para su mineralización final (Pandolfo, 2023).

Diversos estudios han demostrado que los compuestos BTEX pueden degradarse tanto en condiciones aerobias como anaerobias, aunque mediante rutas metabólicas distintas; en ambientes con bajo oxígeno, la degradación puede involucrar mecanismos alternativos como carboxilación o adición de fumarato, produciendo intermediarios como benzoato, fenoles o alcoholes aromáticos antes de su completa transformación (Hernández-Ospina y col., 2024).

Por lo tanto, la biodegradación de hidrocarburos no implica una desaparición inmediata de los contaminantes, sino una conversión progresiva a productos intermedios que, bajo condiciones adecuadas y con la presencia de consorcios microbianos eficientes, pueden ser finalmente mineralizados a CO₂ y agua. Estudios recientes han confirmado que consorcios bacterianos enriquecidos poseen genes asociados a múltiples rutas metabólicas para la degradación completa de BTEX y otros hidrocarburos cíclicos, lo que permite una eliminación más efectiva cuando existe cooperación metabólica entre distintos microorganismos (Wu y col., 2023).

En este contexto, la reducción significativa de hidrocarburos observada en las muestras tratadas sugiere que gran parte de los compuestos presentes en la gasolina fueron no solo transformados, sino potencialmente mineralizados a productos finales menos tóxicos, aunque es posible que durante el proceso se hayan generado intermediarios transitorios que posteriormente fueron degradados conforme avanzó el tratamiento.

Al comparar los resultados obtenidos con los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelo, así como con las características fisicoquímicas finales, el suelo tratado en la celda electroquímica con biocatalizadores muestra un perfil nutricional adecuado. Los niveles elevados de nitrógeno, fósforo y potasio indican un suelo con buen potencial para el desarrollo vegetal, lo que sugiere que el tratamiento no solo remueve contaminantes, sino que también contribuye a restablecer condiciones propicias para la actividad biológica.

Los avances recientes en la literatura científica respaldan el uso de sistemas bioelectroquímicos (BES) y tecnologías relacionadas como herramientas eficaces para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos tipo gasolina y derivados del petróleo. Aunque el número de estudios que reportan directamente concentraciones iniciales y finales en ppm de hidrocarburos tras tratamiento electroquímico es limitado, las publicaciones disponibles muestran de forma consistente que los BES aplicados en suelos permiten reducciones cuantificables de contaminantes, con mejoras claras frente a técnicas de remediación sin estimulación eléctrica. En un análisis, Noori y col., (2022) discuten diversas aplicaciones de BES para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo y señalan que en estudios de laboratorio y piloto se han observado eficiencias de remoción de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) en rangos superiores al 80 %.

Aunque los estudios específicos con gasolina son menos frecuentes en la literatura recién publicada, las tecnologías electroquímicas y bioelectroquímicas han demostrado ser prometedoras para tratar suelos impactados por hidrocarburos totales

del petróleo (TPH) que incluyen fracciones de gasolina y otros contaminantes de matriz petrolífera mediante la estimulación de microorganismos electroactivos y la transferencia de electrones a través de electrodos. Por ejemplo, las revisiones recientes de bioelectroquímica aplicadas a suelos contaminados con hidrocarburos han documentado que estas tecnologías elevan las tasas de remoción de TPH y compuestos asociados en comparación con tratamientos biológicos sin estímulo eléctrico, favoreciendo fenómenos como la electromigración de contaminantes y la interacción microbiana con electrodos perforados in situ, lo cual abre posibilidades para acelerar la degradación de compuestos petrolíferos complejos (Lan et al., 2023). En varios estudios, las celdas bioelectroquímicas han demostrado que, al introducir un campo eléctrico en la matriz del suelo contaminado, no solo se estimula la actividad microbiana degradadora, sino que también se promueve la electromigración y electrosorción de los compuestos contaminantes, aumentando su biodisponibilidad para los microorganismos electroactivos (Lan y col., 2023). Dentro de este marco, Zheng (2025) describe cómo las celdas microbianas electroquímicas pueden influir en la degradación de hidrocarburos presentes en suelos impactados por petróleo, incluyendo fracciones químicas que forman parte de la gasolina.

Además, trabajos integrados como los revisados por Noori y col., (2022) y Liu (2025) amplían el respaldo teórico al mostrar que la combinación de microbios electroactivos con electrodos de alto rendimiento puede acelerar la degradación de contaminantes orgánicos persistentes en suelos, creando zonas de reacción microbiana altamente activas alrededor de los electrodos. Estos estudios enfatizan que la colocación estratégica de ánodos y cátodos en el suelo contaminado, junto con el ajuste de parámetros eléctricos, puede aumentar la eficiencia de degradación de compuestos de gasolina y derivados del petróleo, lo que resulta en transformaciones más rápidas y profundas que con biorremediación natural sin estímulo eléctrico.

Otro aspecto crucial que refuerza el enfoque utilizado en esta investigación es la consideración de la adaptación inicial del consorcio microbiano antes de la aplicación del voltaje, paso que ha sido señalado como una estrategia relevante por la literatura

para maximizar la eficiencia de remoción en celdas electroquímicas. En estudios que incorporan periodos de pre-aclimatación microbiana en suelos contaminados con hidrocarburos, se ha observado que los microorganismos tienen mayor capacidad de formar biopelículas alrededor de los electrodos y de establecer rutas metabólicas robustas de degradación cuando se les permite interactuar con el contaminante sin la presión inmediata del voltaje eléctrico, lo cual se traduce posteriormente en una degradación más efectiva durante la fase activada del BES (Zheng, 2025; Liu, 2025). Esto coincide directamente con la estrategia metodológica implementada en este trabajo, donde se favoreció una fase biológica inicial de 24 h de inoculación antes de iniciar la aplicación de voltaje, que facilitó la adaptación microbiana al suelo contaminado y la posterior estimulación electroquímica.

VI.9 Identificación de los compuestos de nitrógeno, fósforo y potasio.

Los resultados mediante el KIT HANNA HI3896 muestran que sí existió actividad biológica dirigida a la degradación de hidrocarburos por el consumo significativo de nitrógeno, fósforo y potasio en las muestras de suelo. Esta reducción está asociada al metabolismo microbiano durante la degradación de hidrocarburos, ya que los nutrientes son indispensables para la síntesis de biomasa y la actividad enzimática.

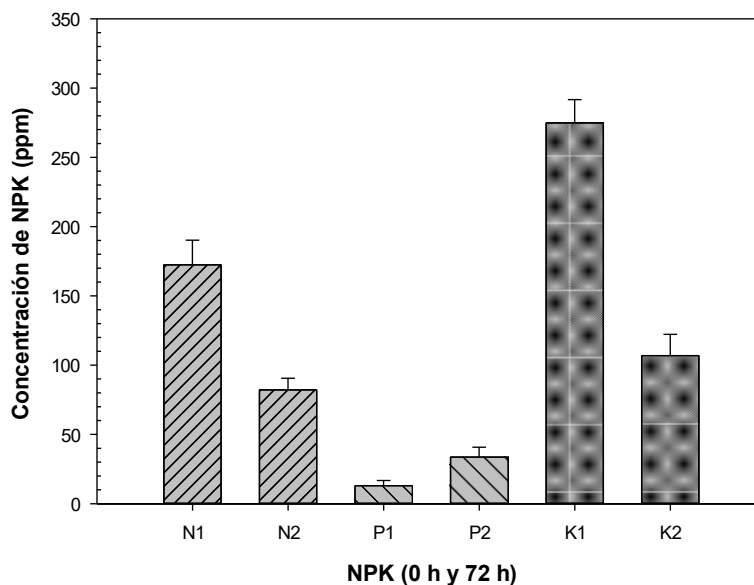


Figura 14. Cuantificación de NPK Inicial y final en la biorremediación

De acuerdo con la Figura 14., la comparación de las concentraciones de NPK a 0 y 72 horas muestra variaciones claras en la disponibilidad de nutrientes durante el proceso de biorremediación. En el caso del nitrógeno (N1 y N2), se observa una disminución evidente después de 72 horas específicamente, N1 pasa de aproximadamente 170 ppm a cerca de 90 ppm, mientras que N2 disminuye de alrededor de 80 ppm a valores cercanos a 40 – 50 ppm, reflejando su aprovechamiento por los microorganismos durante la degradación de los hidrocarburos, ya que este elemento es clave para la síntesis de biomasa y enzimas oxidativas. Respecto al fosfato (P1 y P2), las concentraciones iniciales son bajas con P1 cercano a 10 ppm y P2 alrededor de 30 ppm como ocurre comúnmente en suelos impactados por hidrocarburos; sin embargo, se aprecia un ligero incremento en P2, lo cual podría deberse a procesos de solubilización de fosfatos orgánicos o minerales inducidos por la actividad microbiana.

Este fenómeno es frecuente durante la biodegradación, dado que algunos microorganismos producen ácidos orgánicos o fosfatasas que liberan fosfato disponible en el entorno. En contraste, el potasio (K1 y K2) presenta las concentraciones más elevadas del conjunto con K1 alrededor de 270 – 280 ppm y K2 cercano a 110 ppm con un incremento marcado en K1 y una disminución moderada en K2 tras las 72 horas, lo que puede interpretarse como una combinación entre la disponibilidad inicial del nutriente, su movilización en la matriz del suelo y su participación en funciones osmóticas asociadas al metabolismo microbiano lo cual coincide con patrones ampliamente descritos durante procesos de biorremediación, donde la demanda de N y P es alta debido a su papel esencial en la mineralización de hidrocarburos, mientras que el potasio tiende a mostrar variaciones menores al no ser un nutriente limitante para la biodegradación.

Los patrones observados en las concentraciones coinciden con lo reportado en la literatura reciente sobre suelos contaminados con hidrocarburos sometidos a procesos de biorremediación. Jiang y col., (2024) documentaron que durante la

degradación de hidrocarburos el nitrógeno disminuye de manera significativa debido al consumo microbiano para la síntesis de biomasa, mientras que el fosfato suele presentar incrementos moderados asociables a la actividad de microorganismos solubilizadores de fósforo, fenómeno similar al aumento registrado en P2 en este estudio. De manera complementaria, Udume y col., (2023) observaron que la disponibilidad de N y P es crucial para sostener la biodegradación, mostrando perfiles donde el nitrógeno se reduce rápidamente, tal como ocurre en N1 – N2, mientras que el fosfato se libera gradualmente desde la fracción orgánica del suelo.

Asimismo, Mekonnen y col., (2024) señalaron que el potasio generalmente muestra fluctuaciones menos drásticas, ya que no es un nutriente limitante para la degradación de hidrocarburos, lo que es consistente con el comportamiento observado en las barras K1 y K2. Esta concordancia entre los resultados experimentales y múltiples estudios recientes respalda la validez de las tendencias registradas en esta investigación y confirma que el comportamiento del NPK responde a los mecanismos esperados durante procesos de biorremediación microbiana.

El análisis estadístico de las concentraciones de nitrógeno, fósforo y potasio antes y después del tratamiento mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos evaluados ($p < 0.05$), lo que indica cambios reales en la disponibilidad de nutrientes asociados a la actividad metabólica microbiana durante el proceso de biorremediación. Estas variaciones respaldan el consumo de nutrientes esenciales para el crecimiento celular y la producción de enzimas implicadas en la degradación de hidrocarburos.

VI.10 Divulgación científica e impacto académico

Los resultados se presentaron en congresos académicos de la Academia Mexicana de ingenieros químicos AMIDIQ y de Biotecnología. Estas participaciones permitieron difundir el uso del campo eléctrico como estrategia previa o complementaria en

procesos de biorremediación, destacando su potencial como alternativa eficiente y ambientalmente sostenible para la recuperación de suelos contaminados.

Los reconocimientos obtenidos por la presentación de los trabajos relacionados con la degradación de hidrocarburos (véanse Anexos D y E), así como la participación en el 4th Congreso Iberoamericano de Biotecnología (véase Anexo B), evidencian la pertinencia científica del estudio y su contribución al desarrollo de tecnologías emergentes para el tratamiento de contaminantes orgánicos.

Asimismo, la constancia iberoamericana de la celda electroquímica (véase Anexo C) respalda la innovación tecnológica propuesta en esta investigación, mientras que la constancia de capacitación en ética (véase Anexo A) garantiza que el desarrollo del proyecto se realizó bajo principios de responsabilidad científica.

VII. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos han demostrado que la celda electroquímica, fue altamente efectiva para la remoción de hidrocarburos presentes en las muestras de suelo. Las concentraciones iniciales, disminuyeron casi por completo hasta niveles cercanos a 1 ppm después del tratamiento, lo cual confirma una degradación sustancial de los contaminantes. Esta reducción tan significativa evidencia que el proceso de biorremediación favoreció tanto la oxidación electroquímica como la actividad microbiana responsable de la transformación de los hidrocarburos en compuestos menos tóxicos. En consecuencia, el suelo mostró una mejora notable en su calidad ambiental, reduciendo de manera considerable los riesgos asociados para los ecosistemas y la salud humana.

Asimismo, el análisis de las características fisicoquímicas del suelo confirmó que las condiciones generadas en la celda electroquímica fueron adecuadas para mantener la actividad microbiana durante el proceso. La estabilidad de parámetros como el pH, temperatura y humedad indicó que el sistema se mantuvo dentro de rangos

compatibles con el metabolismo de microorganismos degradadores.

En el caso de la muestra de PCPE, la notable disminución en las concentraciones de hidrocarburos, que pasaron de valores iniciales cercanos a 27×10^3 ppm hasta concentraciones finales del orden de $1 - 2 \times 10^3$ ppm al término del periodo de 72 h, evidencia que el tratamiento mediante celda electroquímica permitió una reducción sustancial de la carga contaminante, aunque sin alcanzar su eliminación total. Aun con la presencia de esta fracción residual, los niveles finales de nitrógeno, fósforo y potasio sugieren que el suelo conserva un perfil nutricional favorable, lo cual podría facilitar procesos de recuperación biológica y el establecimiento de vegetación. Por otro lado, en el caso de la muestra de PCH, la concentración inicial de hidrocarburos, cercana a 9×10^3 ppm, se redujo hasta valores aproximados de $0.2 - 0.5 \times 10^3$ ppm al final del proceso, lo que confirma una remoción eficiente del contaminante.

Finalmente, los resultados del método analítico confirman la fiabilidad de las mediciones realizadas. Las curvas de calibración obtenidas por espectrofotometría UV-Vis mostraron altos coeficientes de correlación, lo que garantiza que las cantidades de hidrocarburos reportadas reflejan con precisión el grado real de degradación alcanzado. La presencia inicial de colonias bacterianas en las muestras y su comportamiento durante el proceso apoyan la conclusión de que la biorremediación fue un componente activo en conjunto con el campo eléctrico, logrando una sinergia efectiva en la eliminación de contaminantes. En conjunto, estos hallazgos permiten concluir que la biorremediación es una técnica viable, eficiente y con potencial para aplicarse en escenarios reales de contaminación por hidrocarburos, ofreciendo ventajas tanto en descontaminación como en recuperación del suelo tratado.

Todos los ensayos experimentales se realizaron por duplicado con el fin de evaluar la reproducibilidad del proceso y reducir la variabilidad experimental. Los resultados presentados en las gráficas corresponden al valor promedio de ambas réplicas, y las diferencias entre tratamientos y tiempos fueron evaluadas mediante análisis estadístico, considerando significancia cuando $p < 0.05$.

VIII. REFERENCIAS

- Ambaye, T. G., Vaccari, M., Franzetti, A., Prasad, S., Formicola, F., Rosatelli, A., & Ritmi, S. (2023). Biorremediación microbiana de la contaminación por hidrocarburos de petróleo (PHC): Avances y perspectivas recientes. *Revista de ingeniería química*, 452, 139372. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139372>
- Amobonye, A., Aruwa, C. E., & Pillai, S. (2023). Biorrecurso microbiano para enzimas degradantes de plástico. *Biorreactores microbianos para moléculas industriales*, 421-441. <https://doi.org/10.1002/9781119874096.ch20>
- Amsili, J. P., van Es, H. M. & Schindelbeck, R. R. (2021). El sistema de cultivo y la textura del suelo dan forma a los resultados de salud del suelo y a las funciones de puntuación. *Seguridad del suelo*, 4, 100012. <https://doi.org/10.1016/j.soisec.2021.100012>
- Bacosa, H. P., Mabuhay-Omar, J. A., Balisco, R. A. T., Omar Jr., D. M., e Inoue, C. (2021). Biodegradación de mezclas binarias de octano con benceno, tolueno, etilbenceno o xileno (BTEX): perspectivas sobre el potencial de los aislados de Burkholderia, Pseudomonas y Cupriavidus. *Revista Mundial de Microbiología y Biotecnología*, 37(7), 122. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03093-4>
- Calle Orellana, DC, & Mejía Cabrera, EP (2024). Extracción de cinamaldehído de la corteza de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) por arrastre de vapor y método Soxhlet.
- Castro-Sarmiento, A., Vides, F. P., & Andrade-Pérez, J. (2023). Evolución de las Tecnologías Utilizadas para la Absorción de Mercurio con Cenizas Vegetales en Suelos Contaminados por la Minería de Oro: *Boletín de Innovación, Logística y Operaciones*, 5(2), 40-49. <https://doi.org/10.17981/bilo.5.2.2023.04>
- Colorado, B. E. J. (2023). Contaminación por hidrocarburos aromaticos policiclicos en sedimentos y especies marinas: revision: Contaminación por hidrocarburos poliaromaticos. *Ciencia en Desarrollo*, 14(2), 1. <https://doi.org/10.19053/01217488.v14.n2.2023.14760>
- Curiel-Alegre, S., Khan, AHA, Rad, C., Velasco-Arroyo, B., Rumbo, C., Rivilla, R., & Barros, R. (2025). La bioaumentación y el vermicompost facilitaron la biorremediación de hidrocarburos: escalamiento del laboratorio al campo para suelos

contaminados con petróleo. Investigación sobre ciencias ambientales y contaminación, 32 (28), 16601-16616. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32916-8>

Dayamrita, K.K., Divya, K.K., Sreelakshmi, R., Arjun, E.J. & John, F. (2020) «Aislamiento y caracterización de bacterias degradadoras de hidrocarburos de suelos contaminados con petróleo: potencial para la biorremediación asistida por biosurfactantes», Actas de la Conferencia AIP, 2263(1), 020009 <http://dx.doi.org/10.1063/5.0017395>

De la Cruz Caballon, & L. (2022). Remediación electrocinética en la remoción de zinc de los suelos contaminados del Valle del Mantaro-2021.

Dell' Anno, F., Rastelli, E., Sansone, C., Brunet, C., Ianora, A. & Dell' Anno, A. (2021). Bacterias, hongos y microalgas para la biorremediación de sedimentos marinos contaminados por hidrocarburos de petróleo en la era ómica. Microorganismos, 9(8), 1695. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081695>

Dionicio Hernández, V. (2024). Evaluación de la capacidad de Pseudomonas putida KT2440 para tolerar y degradar agroquímicos e hidrocarburos.

Factores que influyen en la biorremediación bacteriana de contaminantes de hidrocarburos en el suelo: mecanismos e impactos. (2021). Revista de química, 2021(1), 9823362. <https://doi.org/10.1155/2021/9823362>

Fausak, L. K., Bridson, N., Diaz-Osorio, F., Jassal, R. S., & Lavkulich, L. M. (2024). Salud del suelo: una perspectiva. Fronteras en la Ciencia del Suelo, 4, 1462428. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2024.1462428>

Feng, L., Jiang, X., Huang, Y., Wen, D., Fu, T., & Fu, R. (2021). Biorremediación de suelos contaminados con petróleo mediante un consorcio bacteriano aislado y soforolípidos. Contaminación ambiental, 273, 116476. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116476>

Flores Miranda, G. J., & Venlasaga Pisco, G. I. (2021). Influencia de la acidez del suelo en la capacidad de intercambio catiónico (bases + cic) de la microcuenca del río Atillo y Ozogoche, del Parque Nacional Sangay. *Maskana*, 12(1), 53–61. <https://doi.org/10.18537/mskn.12.01.05>

Guedes, P., Dionísio, J., Couto, N., Mateus, E. P., Pereira, C. S., & Ribeiro, A. B. (2021). Electro biorremediación de una mezcla de contaminantes estructuralmente

diferentes de interés emergente: Descubrimiento de la contribución electrocinética. *Revista de materiales peligrosos*, 406, 124304.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124304>

Guo, F., Liu, Y. y Liu, H. (2021). La hibernación de bacterias electroactivas proporciona información sobre la detección flexible y robusta de DBO mediante biosensores microbianos basados en celdas de combustible. *Ciencia del Medio Ambiente Total*, 753, 142244. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124304>

Hernández-Ospina, DA, Osorio-González, CS, Miri, S., & Brar, SK (2024). Nuevas perspectivas sobre la degradación anaeróbica de BTEX: Mecanismos, vías e intermediarios. *Quimiosfera*, 361, 142490.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142490>

Hidalgo, KJ, Sierra-Garcia, IN, Dellagnzzeze, BM, & De Oliveira, VM (2020). Perspectivas metagenómicas sobre los mecanismos de biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en la cadena de suministro de petróleo. *Fronteras en microbiología*, 11, 561506.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.561506>

Huang, Y., He, Z., Xu, L., Yang, B., Hou, Y., Lei, L. & Li, Z. (2021). Biorremediación mejorada con corriente alterna de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. *Ciencias Ambientales e Investigación de la Contaminación*, 28(34), 47562-47573.

Jiang, D., Li, T., Liang, X., Zhao, X., Li, S., Li, Y., & Cao, T. (2024). Evaluación de tecnologías de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo y sus efectos en el crecimiento de la soja. *Ambientes*, 12 (1), 6.

<https://doi.org/10.3390/environments12010006>

Kebede, G., Tafese, T., Abda, E. M., Kamaraj, M. & Assefa, F. (2021). Factores que influyen en la biorremediación bacteriana de contaminantes de hidrocarburos en el suelo: mecanismos e impactos. *Revista de Química*, 2021(1), 9823362.

<https://doi.org/10.1155/2021/9823362>

Lan, J., Wen, F., Ren, Y., Liu, G., Jiang, Y., Wang, Z. & Zhu, X. (2023). Panorama general de la remediación bioelectrocinética y bioelectroquímica de suelos contaminados con petróleo. *Ciencias ambientales y ecotecnología*, 16, 100278.

<https://doi.org/10.1016/j.esse.2023.100278>

Li, F., Li, J., Tong, M., Xi, K. & Guo, S. (2023). Efecto de la intensidad de los campos eléctricos en los factores del suelo y los microorganismos durante la electrobiorremediación de suelos contaminados con benzo[a]pireno. *Quimosfera*, 341, 139845. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139845>

Martinez Barrios, E. (2020). Estudio de la migración de hidrocarburos en suelos gruesos para la remediación electroquímica.

Mekonnen, BA, Aragaw, TA & Genet, MB (2024). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo: una revisión de principios, mecanismos de degradación y avances. *Fronteras en la ciencia ambiental*, 12, 1354422. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2024.1354422>

Mukherjee, A., Zaveri, P., Patel, R., Shah, M. T., & Munshi, N. S. (2021). Optimización del proceso de celdas de combustible microbianas mediante un nuevo consorcio para la biorremediación de hidrocarburos aromáticos y la generación de bioelectricidad *Revista de Gestión Ambiental*, 298, 113546. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113546>

Murillo, S. E. P. A., & Nevarez, E. Z. (2022, Abril). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos y/o derivados del petróleo. En el Coloquio de la Biblioteca Pandolfo, E., Barra Caracciolo, A. y Rolando, L. (2023). Avances recientes en la degradación bacteriana de los hidrocarburos. *Agua*, 15(2), 375. <https://doi.org/10.3390/w15020375>

Noori, M. T., Thatikayala, D. & Min, B. (2022). Remediación bioelectroquímica para la eliminación de contaminantes de hidrocarburos de petróleo en el suelo. *Energías*, 15(22), 8457. <https://doi.org/10.3390/en15228457>

Okoye, A. U., Selvarajan, R., Chikere, C. B., Okpokwasili, G. C., & Mearns, K. (2024). Caracterización e identificación de comunidades bacterianas de cadena larga que degradan hidrocarburos en suelos crónicamente contaminados a largo plazo en Ogoniland: un enfoque integrado con métodos dependientes e independientes del cultivo. *Ciencia ambiental e investigación de la contaminación*, 31(21), 30867-30885. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33326-6>

Pizarro Restrepo, C. (2021). Métodos analíticos aplicados en la cuantificación de la

biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo.

Robinson, DA, Thomas, A., Reinsch, S., Lebron, I., Feeney, CJ, Maskell, LC, & Cosby, BJ (2022). Modelado analítico de la porosidad y la densidad aparente del suelo en el continuo de materia orgánica y uso del suelo. *Informes científicos*, 12(1), 7085. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11099-7>

Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., & Bastida-Codina, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1), 178-208. <https://doi.org/10.15359/rca.56-1.9>

Saini, A., Bekele, D. N., Chadalavada, S., Fang, C. & Naidu, R. (2021). Remediación electrocinética de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo (I). *Tecnología e Innovación Ambiental*, 23, 101585. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101585>

Santillán, J. C. (2024). Puerto Madero Editorial Académica. Investigación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Secretaría de Salud; Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. (2013). NOM-138- SEMARNAT/SSA1-2012: Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. *Diario Oficial de la Federación*.

Sepulveda, J. A. M., & Casallas, M. R. (2023). Contaminación y remediación de suelos en Colombia. Aplicación a la minería de oro. Universidad EAN.

Sun, Z., Wang, L., Yang, S., Xun, Y., Zhang, T. & Wei, W. (2022). Biodegradación anóxica mejorada térmicamente de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en un suelo envejecido altamente contaminado. *Revista de Ingeniería Química Ambiental*, 10(2), 107236. <https://doi.org/10.1016/j.ijece.2022.107236>

Udume, O. A., Abu, G. O., Stanley, H. O., Vincent-Akpu, I. F., Momoh, Y., & Eze, M. O. (2023). Bioestimulación de suelos contaminados con petróleo mediante enmiendas orgánicas e inorgánicas. *Plantas.*, 12(3), 431. <https://doi.org/10.3390/plants12030431>

Viggi, CC, Tucci, M., Resitano, M., Crognale, S., Di Franca, ML, Rossetti, S. & Aulenta, F. (2022). Acoplamiento de la oxidación bioelectroquímica del tolueno y la decoloración reductiva del tricloroetano para el tratamiento en una sola etapa de aguas

subterráneas con múltiples contaminantes. *Ciencia ambiental y ecotecnología*, 11, 100171. <https://doi.org/10.1016/j.ese.2022.100171>

Vigoya Torres, N. M. (2024). Propuesta de remediación biológica de microplásticos en suelos de cultivo de flores de Alstroemeria, como estrategia de sostenibilidad corporativa estudio Finca La Esperanza–Chía, Cundinamarca.

Wang, J., Zhen, J., Hu, W., Chen, S., Lizaga, I., Zeraatpisheh, M., & Yang, X. (2023). Teledetección de la degradación del suelo: Avances y perspectivas. *Investigación internacional sobre conservación del suelo y el agua*, 11(3), 429–454. <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2023.03.002>

Wen, D., Fu, R., & Li, Q. (2021). Eliminación de contaminantes inorgánicos en el suelo mediante tecnologías de remediación electrocinética: Una revisión *Revista de Materiales Peligrosos*, 401, 123345. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123345>

Wu, HJ, Du, XY, Wu, WJ, Zheng, J., Song, JY & Xie, JC (2023). El análisis metagenómico revela microorganismos degradadores de BTEX específicos de un consorcio bacteriano. *AMB Express* , 13 (1), 48. <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01541-y>

Zhao, M., Ma, D., Wang, Q., Wang, Y., & Sun, X. (2022). Remediación electrocinética de suelos contaminados con Cd mediante gradientes de bajo voltaje acoplados a una zona de adsorción en matriz e intercambio de polaridad. *Seguridad de los procesos y protección del medio ambiente*, 157 , 81-91. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.11.001>