

# Electrobiorremediación de suelos contaminados con HAP

## Electrobioremediation of HAPs contaminated soil

*Adrián J. Acuña\**; *Maximiliano Gutierrez\*\**; *German Tomas\*\*\**; *Graciela N. Pucci\*\*\*\**

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v27n2.118774

### RESUMEN

El consumo de combustibles a nivel mundial ha provocado un aumento en los derrames de petróleo impactando negativamente el medio ambiente, especialmente en el suelo. La contaminación por hidrocarburos, particularmente los HAPs, es una preocupación debido a su toxicidad. Este estudio se centró en evaluar la electrobiorremediación combinada con bioestimulación para degradar HAPs en un suelo de la Patagonia crónicamente contaminado por una explotación petrolera convencional. La investigación fue por un periodo de 60 días, utilizando 600 g de suelo provenientes de un sitio impactado con hidrocarburos, en cubas con y sin campo eléctrico constante (0,5 V/cm, con inversión de polaridad cada 4 días), y con o sin la adición de nutrientes específicos (urea y fósforo monopotásico en una relación C:N:P de 100:10:1). Se monitoreó pH, la conductividad eléctrica, humedad, bacterias degradadoras de hidrocarburos y concentración de HAPs por HPLC y metales pesados. Los resultados mostraron que la aplicación del campo eléctrico mejoró la biodegradación de HAPs, logrando hasta un 67,88% de reducción en los sistemas sin nutrientes, en contraste con el 38,59% observado en los controles. La mayor degradación se observó en HAPs de 2 y 3 anillos aromáticos, coincidiendo con un incremento en el número de bacterias en los sistemas electroestimulados. No obstante, la adición de nutrientes no generó el impacto positivo esperado, e incluso en ciertos casos, el aumento del pH por la urea afectó negativamente la actividad microbiana. Esto destaca el potencial de esta técnica para la recuperación de ecosistemas de suelos contaminados con petróleo.

**Palabras clave:** campo eléctrico, bacterias, hidrocarburos poliaromáticos.

### ABSTRACT

Global fuel consumption has led to an increase in oil spills, negatively impacting the environment, especially the soil. Hydrocarbon contamination, particularly PAHs, is a concern due to its toxicity. This study focused on evaluating elec-

\* Grupo de Estudios Ambientales - UTN-Facultad Regional Santa Cruz - Río Gallegos - Santa Cruz -Argentina. <https://orcid.org/0000-0002-0382-3681> [adrianjacuna@yahoo.com.ar](mailto:adrianjacuna@yahoo.com.ar). Autor de la correspondencia G. Pucci [puccigraciela@gmail.com](mailto:puccigraciela@gmail.com)

\*\* CEIMA- Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud - Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco - Comodoro Rivadavia - Chubut - Argentina. <https://orcid.org/0000-0002-9834-7226> [maxi.gutierrez.gutierrez.me@hotmail.com](mailto:maxi.gutierrez.gutierrez.me@hotmail.com)

\*\*\* Centro de Investigación y Transferencia de la Provincia de Santa Cruz - CONICET - Río Gallegos - Santa Cruz -Argentina. German Javier Tomas. <https://orcid.org/0000-0001-7836-4005> [germanjaviertomas@frsc.utn.edu.ar](mailto:germanjaviertomas@frsc.utn.edu.ar)

\*\*\*\* CEIMA- Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud - Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco - Comodoro Rivadavia - Chubut - Argentina. <https://orcid.org/0000-0002-0238-2394>. [puccigraciela@gmail.com](mailto:puccigraciela@gmail.com)

trobioremediation combined with biostimulation to degrade PAHs in a Patagonian soil chronically contaminated by conventional oil exploitation. Experiments lasted 60 days, using cubes with and without a constant electric field (0.5 V/cm, with polarity reversal every 4 days), and with or without the addition of specific nutrients (urea and monopotassium phosphate in a C:N:P ratio of 100:10:1). pH, electrical conductivity, humidity, hydrocarbon-degrading bacteria, and PAH concentrations were monitored by HPLC and heavy metals. The results showed that the application of the electric field enhanced PAH biodegradation, achieving up to 67.88% reduction in systems without nutrients, in contrast to the 38.59% observed in the control systems. The greatest degradation was observed in PAHs with two and three aromatic rings, coinciding with an increase in the number of bacteria in the electrostimulated systems. However, the addition of nutrients did not have the expected positive impact, and in some cases, the increased pH caused by urea negatively affected microbial activity. This highlights the potential of this technique for the recovery of ecosystems in oil-contaminated soils.

**Key words:** electric field, bacteria, polyaromatic hydrocarbons.

**Recibido:** febrero 10 de 2025

**Aprobado:** 20 de octubre de 2025

## INTRODUCCIÓN

Las necesidades de combustible debido a la expansión demográfica han provocado un aumento masivo de su consumo en todo el mundo. El proceso de la extracción de petróleo y de su transporte tanto dentro como fuera de los yacimientos, genera incidentes que tienen como consecuencias un gran impacto en el ambiente, más precisamente en el suelo. Estos derrames de petróleo tienen un impacto significativo en los elementos socio-económicos (Fu *et al.*, 2021). Específicamente, la contaminación por hidrocarburos de petróleo ha sido una preocupación ambiental crucial que contamina el suelo, el agua y la atmósfera. Implementar métodos de control adecuados es esencial para recuperar los recursos petroleros y también para cumplir con los estándares de protección ambiental (Li *et al.*, 2023; Jagaba *et al.*, 2022).

El petróleo crudo es una mezcla heterogénea constituida por diferentes componentes orgánicos de tipo alifáticos y aromáticos, cicloalcanos, asfaltenos y resinas, algunos pueden contener también metales pesados (Sancho *et al.*, 2020). Los metales pesados, junto con los hidrocarburos del petróleo crudo, generan contaminación (Karbassi *et al.*, 2015). Una mezcla de hidrocarburos aromáticos y alifáticos procedentes de productos del petróleo crudo se ha definido utilizando el término "hidrocarburos totales del petróleo" (TPH), y ambos pueden ser tóxicos para los microorganismos del suelo, además de beneficiosos como fuente de carbono (Maliszewska-Kordybach y Smreczak, 2013). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), el petróleo y sus derivados representan las principales fuentes de contaminación del suelo (Krzyszczak y Czech, 2021). Estos grupos de contaminantes orgánicos figuran como prioritarios y reciben considerable atención debido a sus pro-

iedades tóxicas, genotóxicas, mutagénicas y potencialmente cancerígenas (Aravind *et al.*, 2022).

La contaminación del suelo con petróleo crudo se ha convertido en un grave problema para el ambiente. El impacto de este genera un cambio en las comunidades bacterias aumentando el número de las que pueden biodegradar los hidrocarburos en decrecimiento de las bacterias que no lo utilizan como fuente de carbono y energía. Siempre hay que considerar las interacciones que se presentan, la actividad microbiana puede verse restringida debido a tensiones abióticas como la baja porosidad de suelo, su elevada salinidad y la presencia de metales e hidrocarburos tóxicos (Abdul Rahman *et al.*, 2021).

Las técnicas biológicas son un proceso de remediación eficaz, accesibles en costos y respetuoso con el ambiente que se han implementado ampliamente en áreas contaminadas por petróleo. Existen muchas técnicas disponibles para remediar hidrocarburos, incluidos métodos *in situ* y *ex situ*, como tratamientos biológicos, químicos y electroquímicos (Widera *et al.*, 2024).

En el proceso de biorremediación, los microorganismos utilizan naturalmente los hidrocarburos del petróleo como fuente de energía, convirtiéndolos así en compuestos no peligrosos. La bioestimulación implica la adición de sustancias estimulantes, como nutrientes o biopolímeros, que favorecen el crecimiento de microorganismos y su naturaleza enzimática en el ambiente contaminado. Durante la técnica de bioestimulación, se puede lograr una composición microbiana más abundante que conduzca a una mejor remediación (Behera *et al.*, 2021).

La electrobiorremediación surgió como una alternativa prometedora hace varias décadas, que combina la capa-

idad de degradación de las bacterias y los procesos que tiene el campo eléctrico sobre los suelos y contaminantes, con el objeto de superar las limitaciones inherentes de la biorremediación. La aplicación del campo eléctrico mejora la biodisponibilidad de los contaminantes del suelo proporcionando las condiciones necesarias para el desarrollo microbiano (Gill *et al.*, 2014; Came-selle & Reddy, 2022). El transporte electrocinético es especialmente apropiado en suelos de baja permeabilidad como las arcillas, donde otros métodos para suministrar oxígeno y nutrientes no son efectivos. La electro-biorremediación se fundamenta en tres procesos, electromigración, electroósmosis y electroforesis. La electro-ósmosis es el movimiento del agua a través del suelo desde el ánodo hasta el cátodo en una celda electrolítica. Esto genera un movimiento de arrastre de los hidrocarburos y una distribución de la humedad. La electromigración es el transporte de iones y complejos iónicos al electrodo de carga opuesta. La concentración de sales tiene un impacto en el microbiota presente en el suelo. La electroforesis es el transporte de partículas cargadas o coloides bajo la influencia de un campo eléctrico. Diversos autores están aplicando estos sistemas, pero generalmente los realizan sobre suelos saturados en agua, elemento que es difícil en los suelos donde las precipitaciones anuales son muy bajas.

El objeto de este trabajo fue evaluar la técnica de electro-biorremediación y estimulación por el agregados de nutrientes para la degradación de hidrocarburos poliaro-

máticos (HAPs), de un suelo proveniente de la explotación hidrocarburífera convencional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestras de suelo.** La muestra de suelo utilizada fue colectada de un área de tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos por la tecnología de biopilas perteneciente a una empresa petrolera de la Región Patagónica Cuenca del Golfo San Jorge (CSJB). Las muestras fueron tomadas a profundidades entre 10 y 30 cm tamizadas previamente al armado de las experiencias.

**Experiencia de electro-biorremediación.** Se llevaron a cabo experimentos electrocinéticos a potencial constante utilizando una cuba de vidrio para pruebas electrocinéticas cuyas dimensiones fueron de 38 cm de largo, 15 cm de profundidad y 15 cm de ancho (Figura 1). Para las pruebas con aplicación de campo eléctrico se realizaron dos sistemas denominados cuba A y cuba B, sin y con agregado de nutrientes para bioestimulación, respectivamente. En cada cuba se colocaron 600 g de suelo con humedad del 12% y a la cuba B se fertilizó con urea y fosfato monopotásico para lograr una relación C:N:P de 100:10:1. La experiencia fue realizada por duplicado durante 60 días, a 28°C, con aplicación de un campo eléctrico constante de 0,5 V/cm con inversión de su polaridad cada 4 días. Por otro lado, se confeccionaron dos sistemas control sin aplicación de campo eléctrico, uno fertilizado con nutrientes (SN) y otro sin la

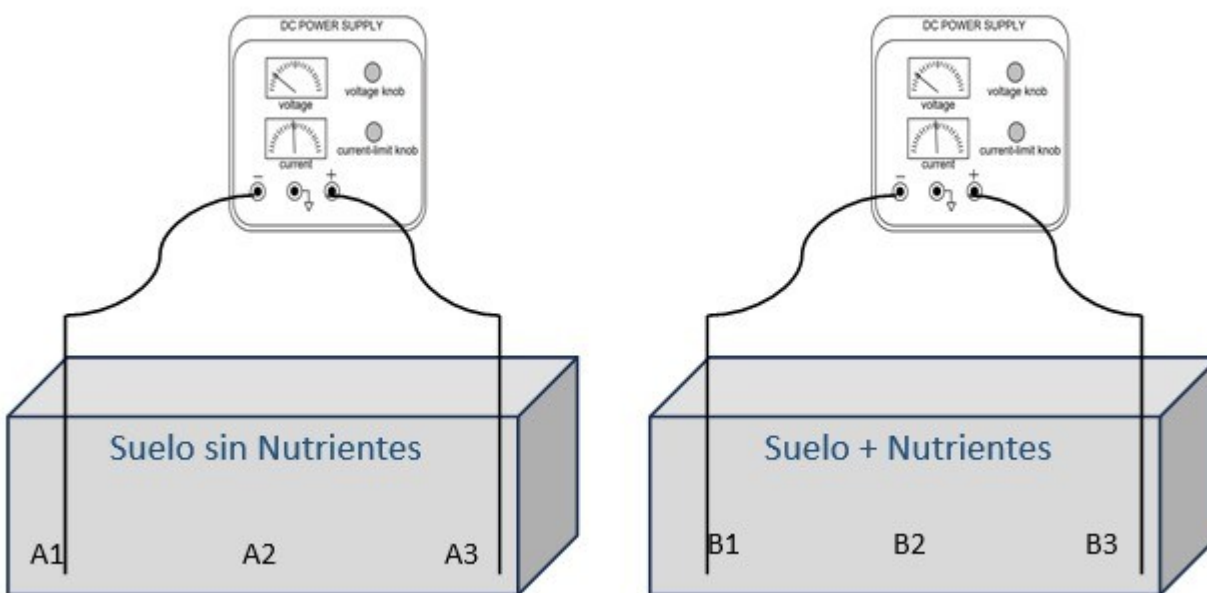


Figura 1. Celda de electro-biorremediación utilizada para el desarrollo de las experiencias en las que se aplicó el campo eléctrico con rotación de la polaridad cada 4 días.

incorporación de fertilizantes (SH). La humedad se controló semanalmente mediante un método gravímetro y se mantuvo en aproximadamente el 12 %. El monitoreo de los sistemas se realizó al comienzo y final de la experiencia, teniendo la precaución de tomar muestras de los sistemas con aplicación de campo eléctrico (cuba A y B) en los sitios del compartimento central denominados A1, A2 y A3 de la cuba sin nutrientes; y B1, B2 y B3 de las cubas con agregado de nutrientes como se muestra en la Figura 1. En los sistemas sin aplicación de campo eléctrico solo fue tomada una muestra compuesta para su análisis en los tiempos antes descritos.

**Conteo de bacterias.** Se realizó una suspensión de 10 g de suelo en 90 mL de solución fisiológica. Se homogeneizó durante 30 minutos en agitador orbital a 150 rpm. A partir de allí, se realizaron diluciones decimales. Los recuentos bacterianos se determinaron por diseminación en superficie incubándose 20 días a 28°C. Se utilizó el medio R2A (Reasoner & Geldreich, 1985) (extracto de levadura 0,5 g, peptona proteasa 0,5 g, caseína ácida 0,5 g, glucosa 0,5 g, almidón 0,5 g, piruvato de sodio 0,3 g,  $K_2HPO_4$  0,3 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,05 g, agar 15 g, agua destilada 1000 mL) para microorganismos aerobios totales. El medio mineral MM-PGO ( $NaCl$  5 g,  $K_2PO_4$  0,5 g,  $NH_4PO_4$  0,5 g,  $(NH_4)_2SO_4$  1 g,  $MgSO_4$  0,2 g,  $KNO_3$  3 g,  $FeSO_4$  0,05 g, SL 10 B (HCl (25 %)) 7,7 mL,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  1,5 g,  $ZnCl_2$  0,07 g,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  0,1 g,  $H_3BO_3$  0,3 g,  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  0,19 g,  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$  0,002 g,  $NiCl_2 \cdot 6H_2O$  0,024 g,  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  0,036 g, agua destilada 1000 mL) 10 mL, agar-agar 15 g, agua destilada 1000 mL suplementado con 0,1 % de una mezcla de petróleo y gasoil 1:1) se utilizó para determinar el número de microorganismos degradadores de hidrocarburos (Pucci y Pucci, 2003).

**Análisis fisicoquímico.** Las determinaciones de aniones y cationes solubles y pH fueron realizadas con un extracto de suelo que se obtuvo a partir de 40 g de muestra suspendida en 100 mL de agua destilada, que fue homogeneizada en un agitador orbital a 180 rpm durante 30 minutos, que finalmente fue centrifugada a 3500 rpm. La determinación de pH fue realizada potenciométricamente con electrodo de vidrio por la norma EPA 9040C (2004) y el contenido de agua fue medido gravimétricamente mediante desecación a 105 °C. La determinación de cationes y aniones se realizó de acuerdo a los siguientes métodos estándar: sulfato por la norma SM 4500-E (1992), calcio y magnesio por la norma ASTM D-511 (2021), amonio por la norma EPA 350.1 (1993), nitrato por la norma EPA 352.1 (1971), nitrito por la norma SM 4500  $NO_2$  (1992), fosfato por la norma SM 4500-C (1992) y sodio y potasio por la norma ASTM D 1428 (1982).

**Análisis de hidrocarburos poliaromáticos.** La extracción de TPH se llevó a cabo en Soxhlet colocando las muestras de suelo en dedales confeccionados de papel de filtro de tipo Whatman No.1 y refluendolas con hexano durante 16 horas de acuerdo a lo propuesto por la norma EPA 1664 (2010). Finalizada la extracción, el solvente se evaporó hasta sequedad en rotavapor. Posteriormente el TPH obtenido se fraccionó mediante cromatografía en columna (Mishra *et al.*, 2001) de gel de sílice pre-activado (24 horas a 100°C; columnas, 45 × 2 cm; tamaño de malla, 60-120) eluyendo inicialmente con 200 mL de n-hexano para separar la fracción de hidrocarburos alifáticos, seguido de 150 mL de benceno para separar la fracción de hidrocarburos aromáticos utilizando una velocidad de flujo de 90 gotas por minuto. Finalmente se tomó la fracción aromática obtenida y se concentró en rotavapor para ser sometida a la técnica de HPLC para cuantificación de los hidrocarburos poliaromáticos. Para la identificación y cuantificación de los HAPs, se utilizó un HPLC marca Shimadzu modelo LC10A VP utilizando la mezcla de referencia estándar HAP M/S Dr. Ehrenstofer, Supelco, EE.UU. con un detector UV-VIS a 254 nm y con una columna HAPs (4 µm 250 x 3,0 mm) utilizando agua:acetonitrilo (50:50) como fase móvil con un flujo de 1 mL/minuto.

**Análisis de metales pesados totales.** Con el fin de evaluar un posible desplazamiento de estos contaminantes por la influencia del campo eléctrico, para la cuantificación de metales pesados en los sistemas con aplicación de corriente directa, 0,5 g de suelo fueron sometidos a una extracción con ácido nítrico según lo establecido en la norma EPA 3050B. Los metales, arsénico, bario, cadmio, cinc, cobre, cromo, mercurio, níquel, plata, plomo y selenio se cuantificaron por espectrometría de absorción atómica según la norma EPA 7000B (2007).

## RESULTADOS

Los efectos de la electrobiorremediación en las propiedades fisicoquímicas del suelo se observan en la Tabla 1. Al comparar el comportamiento del pH y la conductividad eléctrica en los sistemas sometidos al campo eléctrico (A y B), se pudo observar que en el sistema con incorporación de nutrientes estos parámetros aumentaron. Tanto el pH como la conductividad eléctrica del suelo sometido al campo eléctrico mostraron un aumento en dirección al sitio B1 en el sistema con incorporación de nutrientes, observándose que los compuestos químicos que más se concentraron en este sitio de la celda fueron fosfato, nitrito, amonio y sodio. Respecto de los metales pesados determinados en ambos sistemas con aplicación del campo eléctrico (Tabla 1), se observó en el bario un aumento en sentido de los pun-

Tabla 1. Análisis químico inicial y final de las experiencias realizadas.

	Inicial	A1	A2	A3	B1	B2	B3	SH	SN
Humedad (%)	5,18	11,95	4,93	10,01	15,02	14,26	13,9	12,8	4,94
pH	7,45	7,23	7,29	7,65	9,45	8,89	7,39	7,38	9,18
Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	1371	2660	2780	2740	4700	4610	3470	3150	2410
Sulfato (ppm)	1193	743	480	419	380	692	549	580	790
Fosfato (ppm)	230	26,9	18,3	29,9	112,5	103,1	101,2	58,1	28,5
Nitrito (ppm)	3,7	1,9	0,3	0,6	41,5	27,6	16,6	1,9	2,5
Nitrato (ppm)	13,5	9,1	9,1	8,9	98,6	36,5	110,4	11,7	46,7
Amonio (ppm)	1,11	22,62	22,32	8,92	564,91	804	375,91	11,70	628,90
Sodio (ppm)	460	595	330	414	486	428	169	488	104
Potasio (ppm)	13,10	11,47	11,57	13,33	25,89	24,49	33,68	5,75	5,26
Arsénico	2,1	3	3,2	2,2	2,7	2,6	2,2		
Bario	1157,6	359,2	495,6	632,2	632,2	695	735,4		
Cadmio	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1		
Cinc	38,8	40,8	42	42	39	41,6	40,4		
Cobre	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20		
Cromo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10		
Mercurio	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2		
Níquel	6,2	5,6	5,6	6,2	5,6	6,2	8,2		
Plata	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2		
Plomo	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10		
Selenio	< 0,8	< 0,8	< 0,8	< 0,8	< 0,8	< 0,8	< 0,8		

Cuba de electrobiorremediación sin nutrientes (A) sitio 1, 2 y 3. Cuba de electrobiorremediación con nutrientes (B) sitio de muestreo 1, 2 y 3. Suelo con humedad (SH). Suelo con nutrientes (SN).

tos A3 y B3. El arsénico, que es propio de los suelos patagónicos, se mantuvo sin modificaciones y el cinc, en las cubas sin nutrientes agregados, presentó la misma tendencia que el bario, pero en las celdas con incorporación de nutrientes la mayor concentración de cinc se observó en el centro de esta.

La urea adicionada como fuente de nitrógeno produjo un aumento del amonio en los sistemas fertilizados (SN), posiblemente por desdoblamiento microbiano, lo que pudo haber impactado en el aumento del pH del suelo de los mismos que puede afectar a la población microbiana presente disminuyendo su número. El fosfato añadido

como fertilizante, como el que ya contenía el suelo naturalmente (0,13 ppm), se concentró en cercanía de los electrodos en los sistemas con aplicación del campo eléctrico con una tendencia mayor en el sitio B1 en el sistema con agregados de nutrientes. El nitrato se consumió en 1,8 ppm en el sistema SH, observándose que en el sistema A su utilización como nutriente fue de 4,4 ppm. El nitrito se utilizó el 50% del presente inicialmente en los sistemas sin incorporación de nutrientes (A y SH).

Los cambios en el contenido de humedad del suelo a lo largo del tiempo fueron diferentes de acuerdo al tratamiento aplicado. Los valores medios de los contenidos

Tabla 2. Valores de los hidrocarburos poliaromáticos en el inicio al final de las experiencias realizadas.

	Inicial	A1	A2	A3	B1	B2	B3	SH	SN
1-Metil naftaleno (ppm)	6,60	2,10	8,70	3,10	2,70	2,50	1,90	6,80	2,80
2-Metil naftaleno (ppm)	2,70	<0,1	<0,1	3,30	1,00	0,30	0,30	2,60	0,30
Acenafteno (ppm)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Fluoreno (ppm)	70,60	7,10	38,90	6,80	11,40	5,60	5,50	38,60	7,30
Fenantreno (ppm)	7,20	5,60	10,90	5,00	5,90	1,80	1,90	7,10	2,20
Antraceno (ppm)	133,00	81,50	103,00	74,30	73,10	52,50	40,80	32,10	65,20
Fluorantreno (ppm)	272,80	77,70	93,30	94,40	280,50	227,10	169,20	276,40	226,10
Pireno (ppm)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Benzo(a)antraceno (ppm)	158,90	92,50	68,20	97,40	106,90	146,50	190,50	143,90	141,10
Criseno (ppm)	390,80	173,40	126,20	145,10	340,60	462,80	377,70	121,30	366,50
Benzo(b)fluorantreno (ppm)	490,40	193,40	464,70	63,90	289,10	310,90	141,30	249,60	172,00
Benzo(k)fluorantreno (ppm)	248,80	80,90	182,20	82,10	136,80	136,20	73,00	173,80	159,60
Benzo(a)pireno (ppm)	198,10	104,50	187,40	75,20	<0,1	29,40	0,80	168,50	113,70
Dibenzo(a,h)antraceno (ppm)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Benzo(ghi)pireno (ppm)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Indol(1.2.3.cd)pireno (ppm)	52,80	<0,1	<0,1	<0,1	39,20	84,70	31,50	21,10	35,40
HAPs total (ppm)	2032,70	818,70	1283,50	650,60	1287,20	1460,30	1034,40	1241,80	1292,20
% Biodegradación	-	59,60	36,70	67,90	36,50	27,90	48,90	38,60	36,20

Cuba de electrobiorremediación sin nutrientes (A) sitio 1, 2 y 3. Cuba de electrobiorremediación con nutrientes (B) sitio de muestreo 1, 2 y 3. Suelo con humedad (SH). Suelo con nutrientes (SN).

de humedad del suelo en experimentos con un campo eléctrico fueron más altos que los del experimento sin campo eléctrico (Tabla 1), principalmente en los sistemas fertilizados. Los resultados muestran que la intensidad del campo eléctrico influyó en el contenido de humedad del suelo dado que se observaron mayores contenidos de agua en cercanías de los electrodos. El campo eléctrico afectó la distribución espacial del contenido de humedad por influencia de la electroósmosis (Virkytyte *et al.*, 2002), observándose luego de 60 días un 4,93 % en el centro de la celda del sistema sin fertilización, valor inferior a lo observado en cercanías de los electrodos (entre 10 y 12%). Por otro lado, en el sistema con aplicación de campo eléctrico y de nutrientes el contenido de humedad fue similar en los tres puntos evaluados, con una tendencia a aumentar hacia el sitio B1. Estos hallazgos respaldan los estudios realizados por Hamed y Bhadra (1997), que demostraron que la aplicación de un campo eléctrico en un suelo produce a un mayor flujo de agua por electroósmosis entre sus poros (Li *et al.*, 2020).

En la Tabla 2 y la Figura 2 se presentan los resultados de la degradación de los HAPs. Independientemente de la incorporación de nutrientes o no al suelo, la aplicación del campo eléctrico mejoró el porcentaje de biodegradación de este tipo de contaminantes. Esto pudo observarse de forma más marcada en los sistemas sin fertilización, ya que en el sistema con aplicación de campo eléctrico (A) se evidenció un porcentaje de biodegradación de HAPs, máximo de 67,88% en el sitio A3 y solo del 38,59% en el sistema SH. En los sistemas fertilizados esta diferencia no fue tan marcada, observándose un porcentaje de biodegradación de HAPs máximo de 48,97% en el sitio B3, mientras que en el sistema SN fue de 36,25%, encontrándose que en los sistemas sin fertilización la biodegradación fue mejor independientemente de la aplicación del campo eléctrico.

Los HAPs poseen una estructura de anillo estabilizada por resonancia que influye directamente en la capacidad de degradación por parte de los microorganismos debido a su naturaleza compleja. La Figura 2 muestra el grado de degradación acumulada de los HAPs durante el

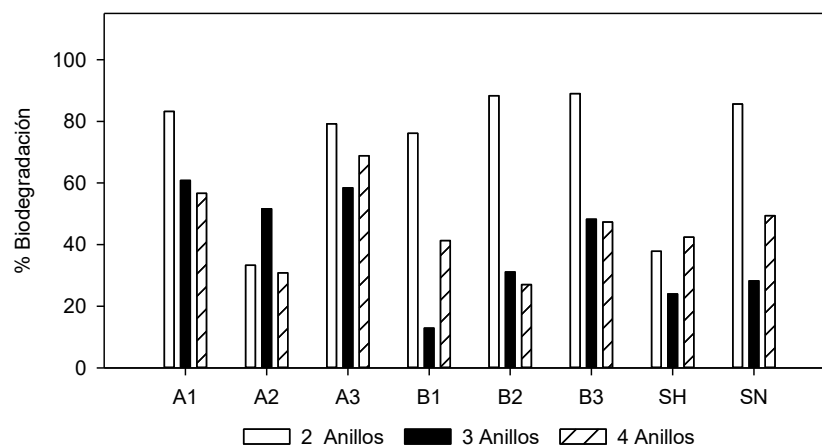


Figura 2 . Porcentaje de degradación de hidrocarburos poliaromáticos discriminados por cantidad de anillos en su estructura química a los 60 días del proceso estudiado. Cuba de electrobiorremediación sin nutrientes (A) sitio 1, 2 y 3. Cuba de electrobiorremediación con nutrientes (B) sitio de muestreo 1, 2 y 3. Suelo con humedad (SH). Suelo con nutrientes (SN).

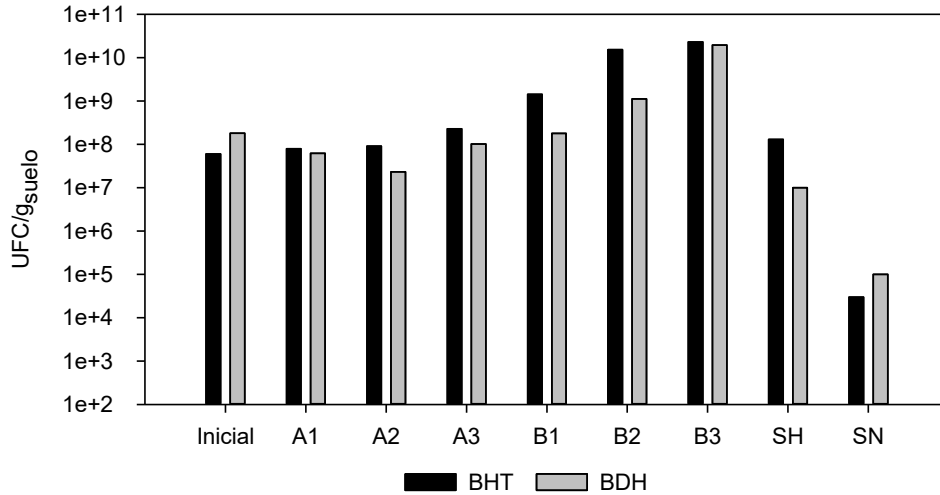
periodo experimental en función de su número de anillos aromáticos y al tratamiento aplicado. La mayor degradación ocurrió con los HAPs que poseen 2 o 3 anillos aromáticos, los que fueron más biodegradados en los sistemas con aplicación del campo eléctrico comparados con sus respectivos controles sin aplicación de corriente continua. Este proceso de biodegradación fue acompañado por un aumento en el número de bacterias de los suelos (Figura 3) que presentaron su mayor número en los sistemas con aplicación de campo eléctrico.

## DISCUSIÓN

En los casos de los suelos contaminados crónicamente, como en este estudio que se trabajó con muestras reales de campo, las interacciones entre los hidrocarburos y las partículas de suelo disminuyen la biodisponibilidad de estos para las bacterias (Chen *et al.*, 2019). Su contaminación se derivó de un derrame de petróleo accidental lo que presumiblemente condujo al envejecimiento de los contaminantes y adsorciones de estos por parte de las partículas del suelo. El suelo en estudio estaba contaminado por todas las fracciones del petróleo estudiadas (hidrocarburos alifáticos e hidrocarburos aromáticos policíclicos) y presentó una alta abundancia bacteriana con microorganismos hidrocarburoclásticos (Figura 3) con valores óptimos para el desarrollo de procesos de biorremediación que se mantuvieron durante el tiempo de estudio. La electrobiorremediación es una tecnología emergente utilizada para remediar suelos contaminados con hidrocarburos por aplicación de un campo eléctrico (Ambaye *et al.*, 2023). La aplicación de un campo eléctrico de forma directa al suelo puede influir indirectamente en la actividad y composición microbiana al cambiar las condiciones ambientales del mismo,

siendo el pH, el contenido de humedad, la conductividad eléctrica y la temperatura del suelo los principales factores que determinan su composición y actividad microbiana (Xue *et al.*, 2018). Los resultados muestran a la electrobiorremediación favoreció la disminución de hidrocarburos por la movilización y aumento de la biodisponibilidad de estos. La aplicación del campo eléctrico evidenció mejores resultados en la biodegradación de los HAPs, el equilibrio del pH se mantuvo por las rotaciones cada 4 días de los polos, como la adopción de condiciones de tratamiento más suaves sin las modificaciones drásticas que produce la electrobiorremediación cuando estos se mantienen constantes en el tiempo (Gidudu, 2022).

Los sistemas controles presentaron una degradación de 38,6% en comparación de las cubas sin nutrientes que fue según el sitio entre 36,7 hasta 67,9%. La biorremediación de los HAPs suele estar limitada por su alta sorción en las partículas del suelo generando una elevada persistencia de estos compuestos en esta matriz ambiental. En este sentido, el proceso de electroósmosis generado por la electrobiorremediación favorece la desorción de los HAPs para que estén biodisponibles para ser degradados (Li *et al.*, 2020). Además, cuando se aplicó el campo eléctrico, en aquellos sistemas sin agregado de nutrientes se observó una mejor biodegradación de los HAPs. Esto pudo estar asociado a que el desdoblamiento microbiano de la urea en el suelo (Tabla 1) pudo ser responsable del aumento de pH en el sistema B. En el sitio B3 de este sistema se observó el mayor porcentaje de biodegradación cuando la fertilización fue aplicada, lo que se correlaciona con el sitio de la celda con mayor número de microorganismos, menor conductividad eléctrica y valores cercanos a la neutrali-



**Figura 3.** Desarrollo bacteriano en las placas de R2A y Medio mineral con Petróleo (MBM-PGO) al inicio y final de la experiencias.  
Cuba de electrobiorremediación sin nutrientes (A) sitio 1, 2 y 3. Cuba de electrobiorremediación con nutrientes (B) sitio de muestreo 1, 2 y 3. Suelo con humedad (SH). Suelo con nutrientes (SN).

dad del pH. Aunque resultados similares sin la aplicación de campo eléctrico pero en sistemas deficientes de nitrógeno Acuña *et al.* (2012) y también Soghandi *et al.* (2024) obtuvieron también una mejor degradación de hidrocarburos aromáticos. Estos resultados fueron concordantes con lo propuesto por Haritash y Kaushik (2009), que demostraron que la degradación de los HAPs en suelos contaminados depende de las condiciones ambientales, la cantidad y el tipo de microorganismos y la naturaleza y estructura química del contaminante presente. De esta forma, la eficiencia de la electrobiorremediación prolonga la supervivencia de los microorganismos o mejora la actividad microbiana en suelos contaminados, lo que se logra realizando un correcto manejo de estas variables ambientales en la matriz contaminada (Locatelli *et al.*, 2013).

Si bien en general los HAPs de dos anillos fueron los más degradados en los sistemas con aplicación de campo eléctrico, esto pudo deberse a que estos hidrocarburos son los que más fácilmente pueden volatilizarse de los sistemas. Por otro lado, en estos sistemas sin fertilización se observó que la mayor degradación de los HAPs fue a expensas de los compuestos constituidos por 2 y 3 anillos bencénicos en todos los sitios de la celda estudiados. Estos resultados obtenidos son concordantes con lo observado por Budiyo *et al.* (2018) cuando demostraron que los HAPs de bajo peso molecular que contienen menos de cuatro anillos de benceno son fácilmente biodegradables. En este sentido Han *et al.* (2017) investi-

garon la aplicación de diferentes desechos agrícolas en la bioestimulación de la biodegradación de HAPs en microcosmos de suelo durante 90 días. La concentración inicial de HAPs totales en el suelo fue de 36,1 mg/kg, donde los HAPs de cuatro anillos comprendieron el 41,7 % del total de los HAPs. Los resultados que obtuvieron demostraron tasas de degradación más altas y comprendidas entre el 40 y 60 % para los HAPs con bajo peso molecular respecto de los de mayor peso molecular. De manera similar, Lukić *et al.* (2016) demostraron, en experiencias en suelos contaminados con hidrocarburos, una mayor resistencia a la degradación para los HAPs de alto peso molecular.

## CONCLUSIÓN

En el presente estudio, se observó que la aplicación de un campo eléctrico fue beneficioso para la obtención de mejores resultados en la eliminación de los hidrocarburos poliaromáticos, y la presencia de nutrientes en la relación C:N:P 100:10:1, no tuvo el impacto esperado de mejora en los resultados.

## REFERENCIAS

- Abdul Rahman, N.S.N., Abdul Hamid, N.W., Nadarajah, K. (2021). Effects of abiotic stress on soil microbiome. *International Journal of Molecular Sciences* 22 (16), 9036.
- Acuña AJ, Pucci OH, Pucci GN. (2012). Effect of nitrogen deficiency in the biodegradation of aliphatic and



- aromatic hydrocarbons in Patagonian contaminated soil. *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences*.11 (3), 479-485.
- Ambaye, T. G., Vaccari, M., Franzetti, A., Prasad, S., Formicola, F., Rosatelli, A., ... & Rtimi, S. (2023). Microbial electrochemical bioremediation of petroleum hydrocarbons (PHCs) pollution: Recent advances and outlook. *Chemical Engineering Journal*, 452:139372.
- Aravind Kumar, J., Krithiga, T., Sathish, S., Annam Renita, A., Prabu, D., Lokesh, S., Geetha, R., Kartick, Raja Namasivayam, S., Sillanpaa, M. (2022). Persistent organic pollutants in water resources: Fate, occurrence, characterization and risk analysis. *Science Total Environmental*. 831:154808.
- ASTM D 1428. (1982). Tentative Methods of Test for Sodium and Potassium Ions in Industrial Water and Water-Formed Deposits by Flame Photometry. 1 de Agosto del 2000
- ASTM D-511 (2021) Standard Test Methods for Calcium and Magnesium In Water. 6 de diciembre del 2021
- Behera, I.D., Nayak, M., Biswas, S., Meikap, B.C., Sen, R. (2021). Enhanced biodegradation of total petroleum hydrocarbons by implementing a novel two-step bio-augmentation strategy using indigenous bacterial consortium. *Journal of Environmental Management*, 292:112746.
- Budiyanto, F., Thukair, A., Al-Momani, M., Musa, M. M., & Nzila, A. (2018). Characterization of halophilic bacteria capable of efficiently biodegrading the high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon pyrene. *Environmental Engineering Science*, 35 (6), 616-626.
- Cameselle, C., Reddy, K. R. (2022). Electrobioremediation: Combined electrokinetics and bioremediation technology for contaminated site remediation. *Indian Geotechnical Journal*, 52 (5)1205-1225.
- Chen, C. H., Liu, P. W. G., & Whang, L. M. (2019). Effects of natural organic matters on bioavailability of petroleum hydrocarbons in soil-water environments. *Chemosphere*, 233, 843-851.
- EPA 1664 (2010). U.S. Environmental Protection Agency. N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated N-Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Non-Polar Material) by Extraction and Gravimetry. Febrero del 2010
- EPA 350.1 (1993) U.S. Environmental Protection Agency. EPA Method 350.1: Determination of Ammonia Nitrogen by Semi-Automated Colorimetry
- EPA 352.1 (1971) U.S. Environmental Protection Agency. Nitrogen, nitrate (colorimetrics, Brucine) by spectrophotometer.
- EPA 7000B,2007. U.S. Environmental Protection Agency. SW-846 Test Method 7000B: Flame Atomic Absorption Spectrophotometry. Febrero del 2007
- EPA 9040C (2004) U.S. Environmental Protection Agency. Test Method 9040C: pH Electrometric Measurement. Noviembre del 2004
- Fu, X. G., Shi, K., Xue, J. L., Chen, C., Bai, Y., Qiao, Y. L., Yu, H. (2021). Systematic adsorption process of petroleum hydrocarbon by immobilized petroleum-degradation bacteria system in degradation pathways. *Petroleum Science*, 18(5), 1543-1550.
- Gidudu, B., & Chirwa, E. M. (2022). The role of pH, electrodes, surfactants, and electrolytes in electrokinetic remediation of contaminated soil. *Molecules*, 27 (21), 7381.
- Gill, R.T., Harbottle, M.J., Smith, J.W.N., Thornton, S.F. (2014). Electrokinetic-enhanced bioremediation of organic contaminants: a review of processes and environmental applications. *Chemosphere*, 107(1), 31-42.
- Hamed, J. T., & Bhadra, A. (1997). Influence of current density and pH on electrokinetics. *Journal of Hazardous materials*, 55 (3), 279-294.
- Han, X., Hu, H., Shi, X., Zhang, L., He, J. (2017). Effects of different agricultural wastes on the dissipation of PAHs and the PAH-degrading genes in a PAH-contaminated soil. *Chemosphere*, 172 (2), 286-293.
- Haritash, A.K., Kaushik, C.P. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Journal of Hazardous Materials*, 169 (1-3), 1-15.
- Jagaba, A.H., Kutty, S.R.M., Lawal, I. M., Birniwa, A.H., Affam, A.C., Yaro, N.S.A., Usman, A.K., Umaru, I., Abubakar, S., Noor, A., Soja, U.B., Yakubu, A.S. (2022). Circular economy potential and contributions of petroleum industry sludge utilization to environmental sustainability through engineered processes-A review. *Cleaner and Circular Bioeconomy* 3:100029.
- Karbassi, A.R., Tajziehchi, S., Afshar, S. (2015). An investigation on heavy metals in soils around oil field area. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 1 (4), 275-282.
- Krzyszczak, A., Czech, B. (2021). Occurrence and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons derivatives in environmental matrices. *Science of The Total Environment*, 788:147738
- Li, C., Cui, C., Zhang, J., Shen, J., He, B., Long, Y., Ye, J. (2023). Biodegradation of petroleum hydrocarbons-based pollutants in contaminated soil by exogenous effective microorganisms and indigenous microbiome. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 253:114673.
- Li, F., Guo, S., Wang, S., Zhao, M. (2020). Changes of microbial community and activity under different electric fields during electro-bioremediation of PAH-contaminated soil. *Chemosphere*, 254:126880.
- Locatelli, A., Spor, A., Jolivet, C., Piveteau, P., Hartmann, A. (2013). Biotic and abiotic soil properties influence

- survival of *Listeria monocytogenes* in Soil. *PLoS One Journal*. *Pone*. 8 (10), 75969
- Lukiæ, B., Panico, A., Huguenot, D., Fabbicino, M., van Hullebusch, E.D., Esposito, G. (2016). Evaluation of PAH removal efficiency in an artificial soil amended with different types of organic wastes. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*, 15 (1), 1-11
- Maliszewska-Kordybach, B., Smreczak, B., Klimkowicz-Pawlas, A. (2013). The levels and composition of persistent organic pollutants in alluvial agriculture soils affected by flooding. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185 (12), 9935–9948.
- Mishra, S., Jyot, J., Kuhad, R. C., & Lal, B. (2001). In situ bioremediation potential of an oily sludge-degrading bacterial consortium. *Current microbiology*, 43: 328-335.
- Pucci, G.N., Pucci, O.H. (2003). Biodegradabilidad de componentes de mezclas naturales de hidrocarburos previamente sometidas a Landfarming. *Revista Argentina de Microbiología*, 35 (2), 62-68.
- Reasoner, D. J., Geldreich, E. (1985). A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and environmental microbiology*, 49 (1), 1-7.
- SM 4500 NO<sub>2</sub> (1992) Standart method. Turbidimetrics method.
- SM 4500-C (1992) Standart method. Turbidimetrics method.
- SM 4500-E (1992) Standart method. Turbidimetrics method.
- Soghandi, B., & Salimi, F. (2024). Study on amendment of rapeseed meal, soybean meal, and NPK fertilizer as biostimulants in bioremediation of diesel-contaminated soil by autochthonous microorganisms. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 33(4), 430-450.
- Virkutyte, J., Sillanpää, M., & Latostenmaa, P. (2002). Electrokinetic soil remediation—critical overview. *Science of the total environment*, 289 (2), 97-121
- Widera, B., Tyszkiewicz, N., Truu, J., Rutkowski, P., M<sup>3</sup>ynarz, P., & Pasternak, G. (2024). Relationship between biodiversity and power generated by anodic bacteria enriched from petroleum-contaminated soil at various potentials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 194:105849.
- Xue, P. P., Carrillo, Y., Pino, V., Minasny, B., & McBratney, A. B. (2018). Soil properties drive microbial community structure in a large scale transect in Southeastern Australia. *Scientific reports*, 8 (1), 11725.