

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN GEOLOGÍA Y
PETRÓLEOS**

**BIOELECTRODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS EN
EMULSIÓN O/W**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN PETRÓLEOS**

OPCIÓN: PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

JOSÉ JAVIER MORÁN DE LA TORRE
jose.moran@epn.edu.ec

DIRECTOR: ING. PABLO BENALCÁZAR
pablo.benalcazar@epn.edu.ec

Quito, 2021

DECLARACIÓN

Yo, José Javier Morán De La Torre, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.


A través de la presente declaración cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Escuela Politécnica Nacional, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.



JOSÉ JAVIER MORÁN DE LA TORRE

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por José Javier Morán De La Torre, bajo mi supervisión.



ING. PABLO BENALCÁZAR
DIRECTOR

AGRADECIMIENTOS

A la Escuela Politécnica Nacional por ser un hogar a lo largo de mi trayectoria de vida estudiantil.

Al Ing. Pablo Benalcázar que a través de su ejemplo en calidad de docente supo conllevar este proyecto de manera satisfactoria.

A los diferentes docentes de la EPN y técnicos externos quienes de alguna u otra manera aportaron en el cumplimiento del desarrollo de este proyecto de investigación.

A la familia Simbaña Rengifo por toda su calidez humana y por ofrecerme su espacio para realizar mis estudios, además de brindarme apoyo incondicional durante toda mi vida estudiantil.

A mi novia Johanna, por ser medicina y amor, fuiste y eres fuente de inspiración y felicidad en mi proceso de crecimiento y de vida.

A mis amigos Jorge, Alex, David y Richard, quienes más que una amistad conformamos una familia.

DEDICATORIA

Dedico todo mi trabajo al Gran Espíritu, fuente de vida y energía, quien durante todo este proceso supo conllevarme por la dirección de la sabiduría, tranquilidad, libertad y amor.

A mi madre Matilde, por su infinito espíritu de amor, quien supo guiarme por el camino de la paz durante todo el transcurso de mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	5
OBJETIVOS	7
Objetivo General.....	7
Objetivos Específicos	7
HIPÓTESIS	7
MARCO TEÓRICO	8
1.1. Microorganismos	8
1.2. El petróleo y los hidrocarburos.....	15
1.3. Contaminación del agua por hidrocarburos en el Ecuador.....	22
1.4. Biodegradación	27
1.5. Medios de Cultivo	31
METODOLOGÍA	35
2.1. Recolección de muestras	35
2.2. Construcción del Sistema Bioelectroquímico.....	38
2.3. Preparación de electrodos	40
2.4. Preparación de la emulsión.....	40
2.5. Preparación del agua con nutrientes.....	43
2.6. Preparación del caldo bacteriológico.....	44
2.7. Siembra de Microorganismos.....	45
2.8. Aislamiento de Microorganismos.....	47
2.9. Identificación de Microorganismos.....	49
2.10. Diseño Experimental	51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
3.1. Cálculo del porcentaje de petróleo en emulsión con surfactante Tween 20 ...	64
3.2. Funcionamiento del Sistema Bioelectroquímico.....	68
3.3. Tabla de Resultados del informe de Laboratorio de Análisis Instrumental	86
3.4. Comparación de resultados	89
CONCLUSIONES	93
RECOMENDACIONES	94
BIBLIOGRAFÍA	96
ANEXOS	99
ANEXO I	100

ANEXO II	102
ANEXO III	105
ANEXO IV	108

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Composición química del petróleo	16
Tabla 1.2. Clasificación de los hidrocarburos	20
Tabla 1.3. Clasificación de crudo según grados API	21
Tabla 1.4. Estudios epidemiológicos de las enfermedades ocasionadas por los hidrocarburos, en las poblaciones que habitan cerca de instalaciones hidrocarburíferas en Ecuador.....	26
Tabla 1.5. Organismos degradadores de petróleo.....	28
Tabla 2.1. Materiales del Sistema Bioelectroquímico	38
Tabla 2.2. Reactivos	39
Tabla 2.3. Equipos	39
Tabla 2.4. Concentraciones de reactivos.....	40
Tabla 2.5. Agitación del producto	41
Tabla 2.6. Mezcla con Tween 20 a 90 ml	41
Tabla 2.7. Mezcla con Tween 20 a 120 ml	41
Tabla 2.8. Mezcla Surfactante con agua y Tween 20 a 90 ml	43
Tabla 2.9. Mezcla Surfactante con agua y Tween 20 a 120 ml	43
Tabla 2.10. Concentraciones del agua con nutrientes.....	43
Tabla 2.11. Concentraciones del caldo bacteriológico.....	44
Tabla 2.12. Proceso de recolección de datos del sistema bioelectroquímico	51
Tabla 2.13. Concentración de reactivos para el sistema bioelectroquímico	53
Tabla 2.14. Cuadro Comparativo	55
Tabla 3.1. Cantidades de agua.....	64
Tabla 3.2. Cantidades de la mezcla del surfactante	64
Tabla 3.3. Cálculos del porcentaje de petróleo en las mezclas con surfactante a Tween 20 de 90 ml.....	65
Tabla 3.4. Cálculos del porcentaje de petróleo en las mezclas con surfactante a Tween 20 de 120 ml.....	66
Tabla 3.5. Datos de la Semana 1	68
Tabla 3.6. Datos de la Semana 2	69
Tabla 3.7. Datos de la Semana 3	70
Tabla 3.8. Datos de la semana 4	71
Tabla 3.9. Datos de la Semana 5	72
Tabla 3.10. Datos de la Semana 6.....	73
Tabla 3.11. Datos de la Semana 7.....	74
Tabla 3.12. Datos de la Semana 8.....	75
Tabla 3.13. Datos de la Semana 9.....	76
Tabla 3.14. Análisis estadístico de los STD con la Prueba Anova.....	77
Tabla 3.15. Análisis estadístico del pH con la Prueba Anova.....	81
Tabla 3.16. Resultados muestra original (Parte amarilla)	87
Tabla 3.17. Resultados muestra original (Parte negra).....	87
Tabla 3.18. Resultados muestra resultado (Parte blanca).....	88
Tabla 3.19. Resultados muestra resultado (Parte interna).....	88
Tabla 3.20. Resultados muestra en proceso aerobio bioelectroquímico.....	89
Tabla 3.21. Comparación de resultados obtenidos (Muestra original parte negra y muestra final)	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Bacterias cocos.....	10
Figura 1.2. Bacterias bacilos	10
Figura 1.3. Tinción de Gram.....	12
Figura 1.4. Tipos de virus.....	13
Figura 1.5. Morfología de los hongos	14
Figura 1.6. Protozoos, virus unicelulares	15
Figura 1.7. Estructuras químicas de diferentes componentes mayoritarios de un crudo de petróleo	18
Figura 1.8. Medio de Cultivo con PDA (Potasa Dextrosa Agar)	34
Figura 2.1. Localización de la Cantera de Pungarayacu	36
Figura 2.2. Muestras de bacterias y crudos pesados del campo Pungarayacu	37
Figura 2.3. Recolección de microorganismos de montaña del campo Pungarayacu.....	37
Figura 2.4. Recolección de microorganismos de montaña de Papallacta	38
Figura 2.5. Esquema del Sistema Bioelectroquímico	40
Figura 2.6. Siembra de las muestras de petróleo y agua contaminada en cajas Petri con PDA	45
Figura 2.7. Aislamiento de bacterias con la técnica de estría y 3 puntos	48
Figura 2.8. Bacterias observadas desde el Microscopio digital.....	49
Figura 2.9. Muestra original.....	56
Figura 2.10. Espectro en absorbancia de la muestra original (Parte amarilla)	57
Figura 2.11. Espectro en absorbancia de la muestra original (Parte negra)	57
Figura 2.12. Espectro en transmitancia de la muestra original (Parte amarilla)	58
Figura 2.13. Espectro en transmitancia de la muestra original (Parte negra).....	58
Figura 2.14. Muestra Resultado	59
Figura 2.15. Espectro en absorbancia de la muestra resultado (Parte blanca)	59
Figura 2.16. Espectro en absorbancia de la muestra resultado (Parte interna)	60
Figura 2.17. Espectro en transmitancia de la muestra resultado (Parte blanca)	61
Figura 2.18. Espectro en transmitancia de la muestra resultado (Parte interna).....	61
Figura 2.19. Muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico	61
Figura 2.20. Espectro en absorbancia de la muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico.....	62
Figura 2.21. Espectro en transmitancia de la muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico.....	63
Figura 3.1. Porcentaje de crudo en el agua	67
Figura 3.2. Porcentaje de crudo en la mezcla con surfactante.....	67
Figura 3.3. Curva de Resultados Semana 1	68
Figura 3.4. Curva de Resultados Semana 2	69
Figura 3.5. Curva de Resultados Semana 3	70
Figura 3.6. Curva de Resultados Semana 4	71
Figura 3.7. Curva de Resultados Semana 5	72
Figura 3.8. Curva de Resultados Semana 6	73
Figura 3.9. Curva de Resultados Semana 7	74
Figura 3.10. Curva de Resultados Semana 8	75

Figura 3.11. Curva de Resultados Semana 9 76

RESUMEN

La investigación se realizó para conocer el funcionamiento del sistema bioelectroquímico para establecer parámetros que permitan evaluar la biodegradación del petróleo en fuentes de agua contaminadas con hidrocarburo. Se emplearon microorganismos nativos (bacterias) dentro del campo de Pungarayacu y de montaña para la bioelectrodegradación de hidrocarburos en emulsión con agua. El diseño del sistema bioelectroquímico integrado por la celda y; las emulsiones, con sus diferentes esquemas y aplicaciones, se acondicionaron según bibliografía disponible e ingenio de los profesores tutores. La investigación se desarrolló en diferentes laboratorios de la Escuela Politécnica Nacional con la colaboración de sus técnicos y asistentes de laboratorio. Las bacterias fueron manejadas mediante las técnicas de aislamiento, reproducción e identificación de microorganismos, determinándose que las bacterias de la biodegradación en el sistema bioelectroquímico fueron los *Bacillus* y los *Cocos*. El sistema bioelectroquímico se desarrolló en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Geología y Petróleos, en donde se recolectaron los datos estadísticos para analizar los resultados de la biodegradación a diferentes condiciones de temperatura, de amperaje y voltaje. De los resultados obtenidos en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Química se observa que la biodegradación afecta a la estructura interna de las muestras, evidenciando un cambio importante al inicio y al fin del estudio; esto se debe al cambio que sufren los grupos funcionales del petróleo durante el proceso interno en el sistema bioelectroquímico. Como conclusión general se establece que la biodegradación en el sistema bioelectroquímico en función de los parámetros empleados, presentan resultados levemente visibles pero que son significantes en la biodegradación del petróleo.

Palabras claves: bioelectroquímico, biodegradación, microorganismos.

ABSTRACT

The research was carried out to know the functioning of the bioelectrochemical system to establish parameters that allow evaluating the biodegradation of oil in water sources contaminated with hydrocarbons. Native microorganisms (bacteria) were used within the Pungarayacu and mountain fields for the bioelectrodegradation of hydrocarbons in emulsion with water. The design of the bioelectrochemical system integrated by the cell and the emulsions, with their different schemes and applications, were conditioned according to the available bibliography and the ingenuity of the tutors. The research was developed in different laboratories of the National Polytechnic School with the collaboration of its technicians and laboratory assistants. The bacteria were handled through the techniques of isolation, reproduction, and identification of microorganisms, determining that the bacteria of biodegradation in the bioelectrochemical system were *Bacillus* and *Cocos*. The bioelectrochemical system was developed in the laboratory of the Faculty of Geology and Petroleum Engineering, where statistical data were collected to analyze the results of biodegradation at different temperature, amperage, and voltage conditions. From the results obtained in the Laboratory of Instrumental Analysis of the Faculty of Chemistry, it is observed that biodegradation affects the internal structure of the samples, showing an important change at the beginning and at the end of the study; this is due to the change that the functional groups of oil undergo during the internal process in the bioelectrochemical system. As a general conclusion, it is established that biodegradation in the bioelectrochemical system, depending on the parameters used, presents slightly visible results, but they are significant in the biodegradation of oil.

Keywords: bioelectrochemical, biodegradation, microorganisms.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial existe una fuerte dependencia de combustibles fósiles como fuente de energía y un incremento sostenido de la demanda energética. Las reservas de petróleo se agotarán por lo que es necesario empezar con el desarrollo de nuevas tecnologías para la generación de energías amigables con el medio ambiente, entre las cuales se encuentra la energía que se obtiene de la biomasa, hidroeléctricas, eólica, geotérmica entre otras (Andrango, 2017).

De esta manera se conoce que el crecimiento económico y social del Ecuador, el avance y desarrollo de la industria, la tecnología y la evolución de los estilos de vida de la población conlleva a un deterioro de los ecosistemas cuando los procedimientos o procesos no son realizados de una manera responsable con el medio ambiente (Ministerio del Ambiente, 2015).

Se conoce que alrededor del 80% de los crudos explotados se encuentran en estado emulsionado en todo el mundo. La formación de estas emulsiones es un problema que puede surgir durante la recuperación, tratamiento y transporte y refinación de petróleo. Las emulsiones se producen cuando el petróleo y agua de producción se ponen en contacto debido a una deformación de la zona, o cuando se inyectan mezclas de vapor de agua en el pozo, o en las instalaciones de superficie (Velásquez & Pereira, 2014).

En la presente investigación se analiza la biorremediación como alternativa ecológica frente al deterioro progresivo de la calidad del medio ambiente por el derramamiento de crudos, ya que esta problemática genera una amenaza real a la salud pública, extinción de especies vegetales y animales (Trujillo & Ramírez, 2012). De tal manera, se procede a construir un sistema bioelectroquímico que permita realizar la biorremediación a través del uso de microorganismos que aceleren la biodegradación del petróleo en el sitio contaminado.

Así, el óptimo funcionamiento del sistema bioelectroquímico dependerá de las condiciones impartidas en el medio de trabajo, también de la composición de los reactivos y de la intensidad de corriente suministrada, entre otros; además, los resultados obtenidos serán fuentes de estudios para futuras generaciones, así como

también serán fuentes de investigación para futuras aplicaciones que las industrias involucradas necesitan hoy en día (Viñas, 2005).

Además, mediante el cultivo de microorganismos se logrará identificar las bacterias que actuarán en el sistema bioelectroquímico, de tal manera que una vez sean identificadas, los resultados tendrán un mejor aporte en la investigación debido a que se conocerá a detalle las capacidades y características biodegradadoras que poseen tales bacterias (Slant, 2006).

Es así como este trabajo de titulación permitirá dar a conocer las diferentes aplicaciones y usos que se generarán a partir del uso de la bioelectrodegradación en de la industria petrolera e industrias causales de contaminación de aguas y que serán de gran aporte para la academia como para el país. Es así que hoy en día existen diferentes técnicas de tratamientos para las aguas residuales de petróleo a ser consideradas para realizar esta investigación, como por ejemplo: el tratamiento físico, coagulación y floculación, y el tratamiento biológico, las cuáles pueden ser utilizadas como futuras aplicaciones en las diferentes etapas de la explotación del crudo hasta el debido tratamiento de aguas residuales (Dheea, et al., 2017).

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La industrialización del mundo implica un alto consumo energético y derivados de petróleo, es así como la extracción, transporte y refinación del petróleo genera diversos componentes que son empleados como materias primas básicas en las industrias químicas y petroquímicas.

Los diferentes procesos que abarcan las actividades hidrocarburíferas producen una enorme cantidad de residuos sólidos y líquidos contaminados por petróleo como por ejemplo las aguas de formación o los efluentes líquidos, los mismos que vienen con un riesgo de liberación de compuestos que causan daño al medio ambiente (Nandy, et al., 2020).

La explotación petrolera en el norte del oriente ecuatoriano es causal de la deforestación de cerca de 2 millones de hectáreas de bosques nativos y del derrame de miles de barriles de crudo en los alrededores de ríos y bosques de la región. Debido a esto se encuentran sustancias tóxicas y metales pesados que han contaminado las fuentes de agua en la zona y con ello han traído una irremediable crisis en la salud a las poblaciones aledañas (Abascal, 2016).

Debido a los numerosos derrames petroleros que han ocurrido en el país, las empresas involucradas se han dedicado a buscar soluciones inmediatas, económicas y ecológicas para el tratamiento de aguas contaminadas a causa del crudo derramado. De tal manera aparecen diferentes tecnologías en el mercado como la biorremediación, la cual dependiendo de los eventos que se presenten, su proceso puede ser muy eficaz en los sitios perjudicados por los derrames petroleros (Vizueté & Pascual, 2020).

En el medio ambiente, los hidrocarburos son eliminados del suelo por procesos de biodegradación, volatilización, percolación y drenaje superficial, debido a esto en los últimos años se ha prestado mayor atención a los métodos biológicos tanto para el tratamiento de residuos industriales como para la recuperación de sitios contaminados. Estos métodos se conocen como procesos de biorremediación y tienen como principal objetivo la optimización y el aprovechamiento de las capacidades biodegradadoras naturales de los hongos y microorganismos (Trujillo & Ramírez, 2012).

Además, cuando los hidrocarburos absorben agua, dan lugar a la formación de emulsiones (sistema termodinámicamente inestable) constituido por una suspensión de partículas líquidas en el seno de otra fase líquida no miscible de agua en hidrocarburo, aumentando el volumen del contaminante en factor de 3 a 4 veces. Estas emulsiones son altamente viscosas y persisten en la superficie del agua, provocando que los demás procesos se retarden y que el hidrocarburo se disipe; este aumento de viscosidad se da debido al aumento de la fase interna de la emulsión (Velásquez & Pereira, 2014).

Es así como la formación de las emulsiones O/W se produce principalmente por la presencia de resinas y asfaltenos presentes en el petróleo, las cuales desempeñan el papel de emulsionantes naturales. Estos agentes emulsionantes interaccionan mutuamente lo que resulta en la formación de una membrana elástica alrededor de las gotas, previniendo que las gotas de agua se unan y decanten por gravedad. Esta membrana producida es bastante gruesa y se puede observar fácilmente en un microscopio óptico (Velásquez & Pereira, 2014)

Recientemente se han sugerido los sistemas bioelectroquímicos como una estrategia secundaria para superar algunas de las limitaciones que se presentan con las tecnologías de biorremediación desarrolladas en la actualidad. El uso de estos sistemas bioelectroquímicos se han estado revisando hasta estos días y, por ejemplo, se puede apreciar que los sedimentos no son la única matriz ambiental que puede ser tratado con un enfoque basado en estos sistemas. Es decir, para realizar eficazmente la biorremediación de suelos y agua se puede utilizar el sistema bioelectroquímico sin ningún problema (Daghio, et al., 2016).

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar los sistemas bioelectroquímicos en el tratamiento de hidrocarburos en emulsión O/W.

Objetivos Específicos

- Estudiar las técnicas de aislamiento en medios de cultivo sólido para la obtención de cultivos puros de bacterias.
- Analizar los diferentes mecanismos de evaluación utilizando los medios disponibles para biodegradar el hidrocarburo.
- Discutir las ventajas y desventajas de los sistemas bioelectroquímicos durante el proceso de biodegradación de petróleo.
- Investigar las diferentes aplicaciones que se generarán a partir del uso de esta nueva tecnología en la industria hidrocarburífera.

HIPÓTESIS

La corriente eléctrica suministrada a la celda bioelectroquímica en presencia de microorganismos e hidrocarburos mejora la descomposición de estos compuestos orgánicos.

MARCO TEÓRICO

1.1. Microorganismos

1.1.1. Introducción

Los microorganismos son pequeños seres vivos estudiados por la microbiología. La estructura de los microorganismos es muy simple y alberga especies beneficiosas, patógenas y otras que varían según las circunstancias (Marítimo, 2015).

Dentro de los microorganismos existen especies unicelulares y pluricelulares, tanto procariotas (como las bacterias) como eucariotas (como los protozoos o los hongos). También incluyen seres ultramicroscópicos, solo visibles con microscopios electrónicos, como son los virus (Marítimo, 2015).

Entre las características generales de los microorganismos se tienen:

- ✓ Su alimentación y supervivencia requiere nutrientes como proteínas o carbohidratos.
- ✓ Para su desarrollo necesitan agua, aunque la cantidad varía entre microorganismos. Así, por ejemplo, las bacterias requieren menos agua que los mohos o los hongos.
- ✓ Los microorganismos suelen tener rangos estrechos de temperaturas en los que se desarrollan de forma óptima y varían de unos grupos a otros, pero la gran mayoría se desarrolla entre los 30 y los 50 °C.
- ✓ Las bacterias pueden requerir oxígeno para sobrevivir (aerobios estrictos), su ausencia completa (anaerobios) o tolerar el oxígeno (anaerobios facultativos). Los hongos y demás microorganismos eucariotas suelen ser aerobios.

- ✓ Al igual que con la temperatura, los rangos que toleran de pH suelen ser estrechos. En este sentido se diferencian los microorganismos acidófilos (ambiente ácido), neutros o alcalófilos (ambientes alcalinos).
- ✓ El tiempo que requieren para su desarrollo y crecimiento depende del tipo de microorganismo y de que las condiciones sean óptimas. Así, se diferencian microorganismos de crecimiento lento y de crecimiento rápido.

1.1.2. Clasificación de los microorganismos

1.1.2.1. Bacterias

Las bacterias son organismos microscópicos unicelulares. Existen miles de tipos de bacterias diferentes y pueden vivir en todos los medios y ecosistemas, en cualquier parte del mundo. Viven en el suelo, en el agua del mar y en las profundidades de la corteza terrestre (Bush, 2020).

Son importantes para los ecosistemas del planeta. Algunas especies pueden vivir en condiciones extremas de presión y temperatura. El cuerpo humano está lleno de bacterias; se estima que contiene más bacterias que células humanas. La mayoría de las bacterias que se encuentran en el organismo son beneficiosas y no producen ningún daño. Se conoce que una cantidad significativamente pequeña de especies son las que causan enfermedades (Graham, s.f.).

1.1.2.2. Tipos de bacterias según su forma

Cocos

Los cocos son las bacterias que tienen forma esférica. Pueden vivir como células individuales o bien agruparse entre ellas formando cadenas (Prieto, 2016); ver Fig. 1.1.

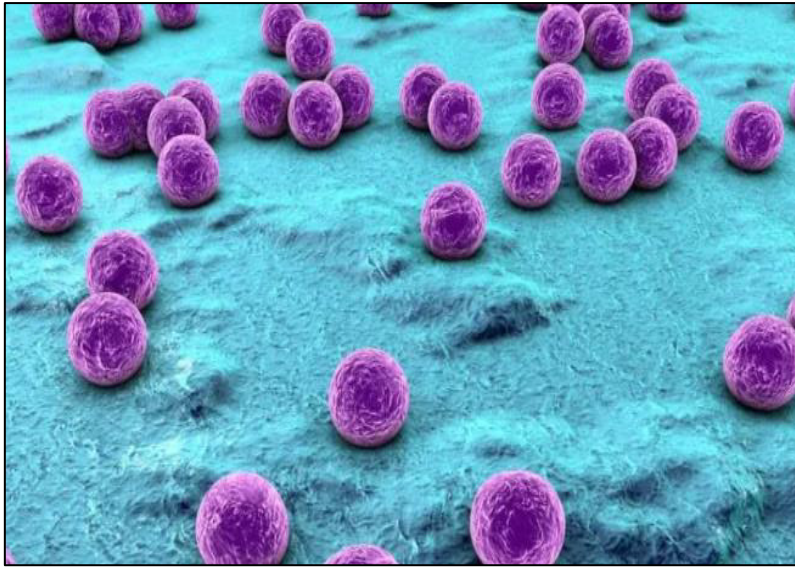


Figura 1.1. Bacterias cocos

Fuente: (Prieto, 2016)

Bacilos

Los bacilos son las bacterias que tienen forma de barra. “*Escherichia coli*” y “*Salmonella*” son las especies de bacterias más conocidas y forman parte de este grupo. Ambas están relacionadas con intoxicaciones alimentarias (Prieto, 2016); ver Fig. 1.2.

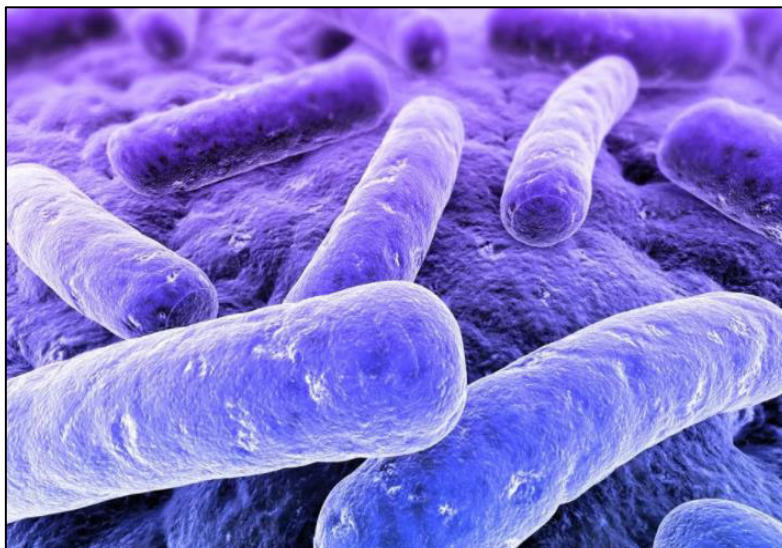


Figura 1.2. Bacterias bacilos

Fuente: (Prieto, 2016)

Vibrios

Los vibrios son las bacterias que tienen una morfología ligeramente curvada, en forma de coma. Suelen encontrarse en medios acuáticos. “*Vibrio cholerae*” es un famoso ejemplo de este grupo, pues es causante de la cólera en humanos (Prieto, 2016).

Espirilos

Los espirilos son bacterias que tienen forma de tirabuzón rígido. “*Spirillum volutans*” es una de las especies de bacterias más abundantes y se encuentra en medios acuáticos dulce (Prieto, 2016).

1.1.2.3. Tipos de Bacterias según su pared celular

Una característica común de las bacterias es que están recubiertas de una pared celular, una estructura que está por encima de la membrana celular (todas las células de todos los seres vivos tienen esta membrana) y que da rigidez, protege y permite una comunicación entre la bacteria y el medio que la rodea (Prieto, 2016).

Pese a la gran diversidad de especies bacterianas, existen básicamente dos tipos de pared (Prieto, 2016). Esta diferenciación es básica en las tareas de identificación de microorganismos ya que cuando a las bacterias se les aplica un tinte, este adopta un color u otro en función de qué tipo de pared tenga. Esto es clave en microbiología, pues permite agilizar mucho los análisis.

Grampositivas

Las grampositivas son las bacterias que cuando se aplica la tinción de Gram (tinción a base de una combinación de productos químicos) adoptan un color morado o azul oscuro.

Este color se debe a que su pared está formada por una capa gruesa de moléculas que hace que el colorante se quede atrapado. “*Staphylococcus aureus*” es el ejemplo típico de bacteria grampositiva (Prieto, 2016).

Gramnegativas

Las gramnegativas son las especies de bacterias que cuando se aplica la tinción de Gram adoptan un color rojo o rosa.

Esto se debe a que su pared es más delgada y no retiene el colorante como las otras, lo que hace que no se las vean de color morado. “*Escherichia coli*” es el ejemplo típico de bacteria gramnegativa (Prieto, 2016); ver Fig. 1.3.

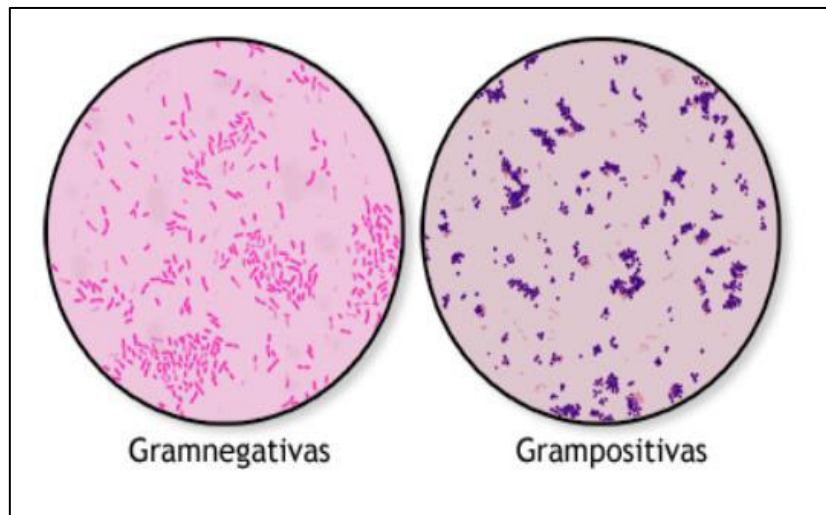


Figura 1.3. Tinción de Gram

Fuente: (Vyas, 2021)

1.1.3. Virus

Los virus son más pequeños que las bacterias. No son células completas: sólo son material genético empaquetado dentro de una cubierta proteica. Necesitan otras estructuras celulares para reproducirse, lo que significa que no pueden sobrevivir por sí solos salvo que vivan dentro de otros organismos vivos como humanos, plantas o animales (Caeme, 2020); ver Fig. 1.4.

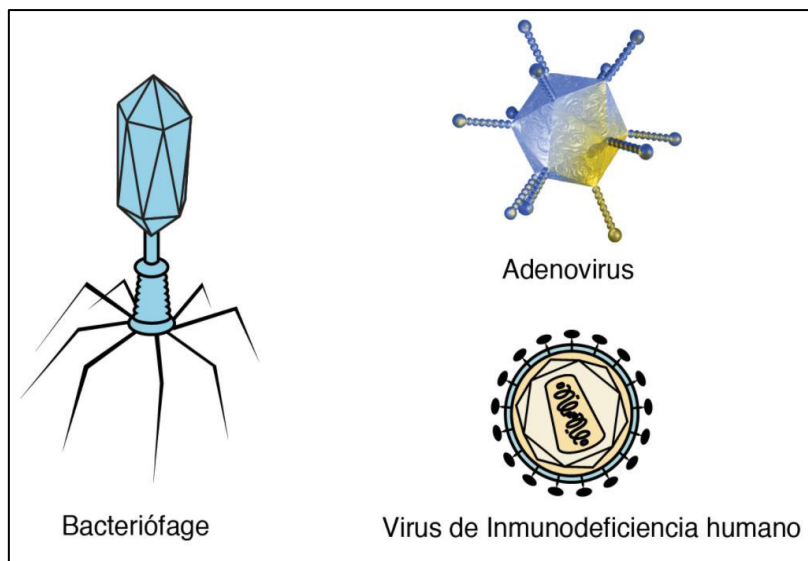


Figura 1.4. Tipos de virus

Fuente: (Graham, s.f.)

1.1.4. Hongos

Son organismos eucariontes y saprótrofos que se alimentan de materia orgánica muerta: restos de plantas y animales, sustancias de desecho, productos sintéticos y cualquier elemento soluble que difunda en el medio. Necesitan compuestos carbonados ricos en energía elaborados por otros organismos; son descomponedores por excelencia cumpliendo un papel muy importante en los ciclos de los nutrientes junto con las bacterias *actinomyces* y protozoos (Steciow, 1991); ver Fig. 1.5.

Son organismos aeróbicos o anaeróbicos; es decir, que dependen o no del oxígeno para vivir, por lo que muchos hongos son utilizados para la elaboración del vino, pan, quesos, ácidos grasos, antibióticos y otros productos químicos (Steciow, 1991).



Figura 1.5. Morfología de los hongos

Fuente: (Portillo, s.f.)

1.1.5. Parásitos

Los parásitos son los protozoos como las amebas y los helmintos y gusanos. Se trata de organismos eucariotas. Los protozoos son unicelulares y los helmintos y gusanos son pluricelulares. Los parásitos no se suelen clasificar como microorganismos, pero a menudo la microbiología se estudia junto a la parasitología (Marítimo, 2015); ver Fig. 1.6.



Figura 1.6. Protozoos, virus unicelulares

Fuente: (Ho, 2019)

1.2. El petróleo y los hidrocarburos

1.2.1. Antecedentes Históricos

El petróleo es conocido por la humanidad desde la prehistoria, encontrándose de forma natural en capas “anticlinales” dentro de la tierra. El hombre lo utilizó en sus inicios de forma limitada, hace 6.000 años se usaba para pegar ladrillos, piedras, en medicina, y en América los indígenas de la época precolombina conocían y usaban el petróleo como impermeabilizante para las embarcaciones (News, 2015).

En el siglo XVIII se perfeccionaron los métodos de refinado obteniendo productos derivados, los que se empleaban principalmente para el engrasado de máquinas. El primer pozo petrolero fue perforado en 1.859, en Pensilvania, Estados Unidos por el coronel Edwin L. Drake a una profundidad de 21 metros, marcó el comienzo del rápido crecimiento de la moderna industria petrolera (Chow, s.f.).

En 1.895 con los primeros automóviles y sus motores de combustión interna se necesitó la gasolina, acontecimiento que trajo consecuencias importantes para la industria petrolera, debido a que en poco tiempo se necesitó aumentar la producción de los derivados del petróleo por el incremento de vehículos en el mundo (Chow, s.f.).

1.2.2. Definición

El petróleo es una compleja mezcla natural de compuestos hidrocarburíferos que se encuentran en una roca. Se originó por la descomposición de la materia orgánica durante largos periodos, cuando la Tierra era inestable y estaba poblada por dinosaurios, plantas y árboles que fueron enterrados y se transformaron en

hidrocarburo por la presión y la temperatura (Poveda, et al., 2013).

El crudo puede presentarse en los tres estados de materia: sólido, líquido y gaseoso, además se caracteriza por ser una matriz contaminante que contiene una elevada diversidad de compuestos, por lo que es un sustrato ideal para evaluar el potencial catabólico de cepas o consorcios microbianos de interés en la biorremediación.

1.2.3. Composición

El petróleo está formado por hidrocarburos, que son compuestos de hidrógeno y carbono, en su mayoría parafinas, naftenos y aromáticos. Junto con cantidades variables de derivados hidrocarbonados de azufre, oxígeno y nitrógeno, además de cantidades variables de gas disuelto y pequeñas proporciones de componentes metálicos. También puede contener, sales y agua en emulsión o libre. Sus componentes útiles se obtienen por destilación fraccionada en las refinerías de petróleo. Los componentes no deseados, como azufre, oxígeno, nitrógeno, metales, agua, sales, etc., se eliminan mediante procesos fisicoquímicos ([Petróleo], 2008); ver Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Composición química del petróleo

Composición del petróleo en porcentaje	
Elementos	Porcentaje
C	83-87 %
H	11-16 %
S	0-4 %
O	0-3,5 %
N	0-0,5 %

Fuente: ([Petróleo], 2008).

1.2.4. Composición por familias de hidrocarburos.

Las familias de los hidrocarburos se agrupan en:

1.2.5. Parafinas volátiles (n-alcanos e isoprenoides volátiles).

Son alcanos ramificados y no ramificados formados por cadenas de 1 a 10 átomos de carbono (C1.C10), son la fracción más volátil y representan hasta el 30 % del crudo de petróleo. Los homólogos de mayor peso molecular disminuyen su presencia en el crudo con el incremento de peso molecular (Viñas, 2005).

1.2.6. Parafinas no volátiles (n-alcanos e isoprenoides).

Son alcanos lineales y ramificados formados por cadenas de 11 a 40 átomos de carbono, representan el 15 – 20 % del crudo de petróleo, los componentes entre C11-C15 carbonos son de volatilidad intermedia. (Viñas, 2005).

1.2.7. Naftenos (cicloalcanos).

Esta familia está compuesta por las cicloparafinas o cicloalcanos representan el 31 % del crudo, siendo los compuestos más abundantes los ciclopentanos alquilados. Los compuestos mono y dicíclicos corresponden del 50- 55 % de esta fracción, los tricíclicos al 20 % y los tetracíclicos al 25 % (Viñas, 2005).

1.2.8. Oleofinas (alquenos).

Los alquenos están poco presentes en el crudo de petróleo, pero adquieren importancia en los productos resultantes del refinado, ya que se generan durante el proceso de cracking, existiendo hasta un 30 % en gasolinas y un 1 % en fueles (Viñas, 2005); ver Fig. 1.7.

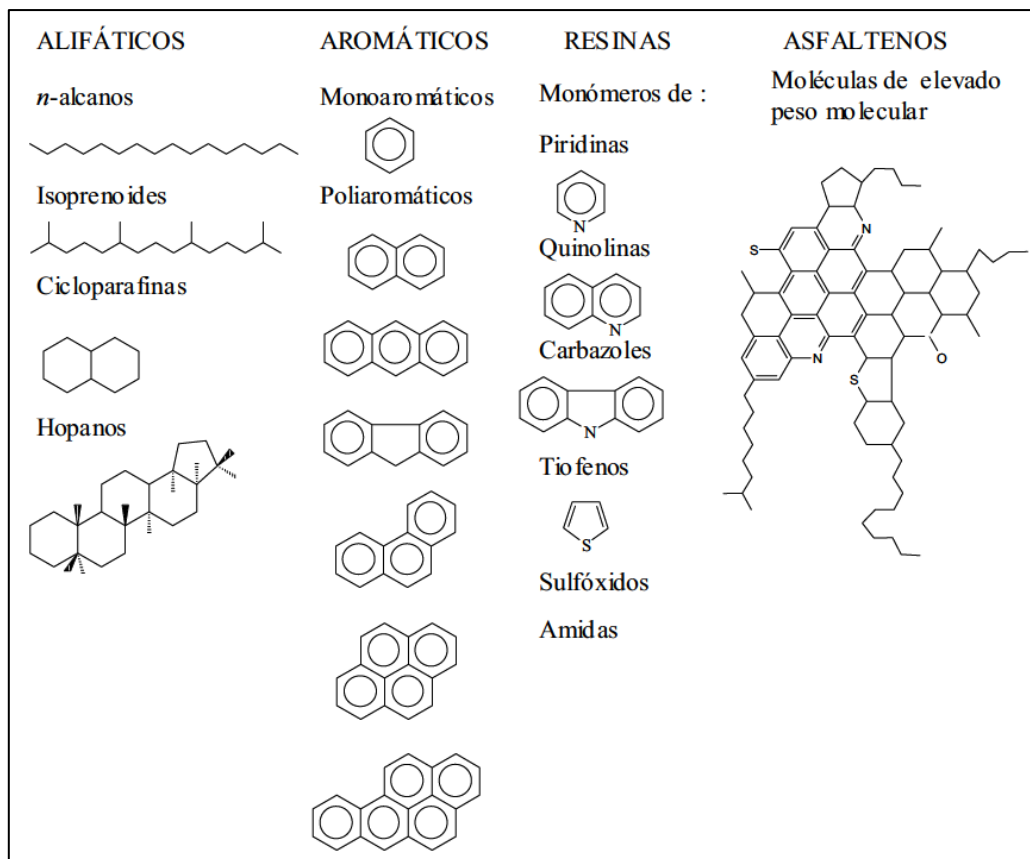


Figura 1.7. Estructuras químicas de diferentes componentes mayoritarios de un crudo de petróleo

Fuente: (Viñas, 2005)

1.2.9. Hidrocarburos aromáticos Policíclicos (HAPs).

Los compuestos aromáticos tienen estructuras basadas en la molécula de benceno, pudiendo presentar uno o varios anillos bencénicos en su estructura. Los compuestos aromáticos más simples son el Benceno, tolueno, etilbenceno y los tres xilenos, conocidos colectivamente como BTEX (compuestos orgánicos volátiles), son los que están entre los más solubles en el agua y son los componentes más móviles de la gasolina, siendo los BTEX los potencialmente más peligrosos por sus efectos cancerígenos (Viñas, 2005).

Así encontramos hidrocarburos monoaromáticos con un anillo bencénico, diaromáticos con 2 anillos bencénicos y poliaromáticos (HAPs) con más de dos anillos bencénicos.

1.2.10. Hidrocarburos monoaromáticos.

Representados por el benceno y sus alquilados (monoalquilados como el tolueno y dialquilados como los xilenos).

1.2.11. Hidrocarburos poliaromáticos.

Constituyen la familia mayoritaria de hidrocarburos aromáticos presentes en un crudo, entre los hidrocarburos diaromáticos, encontramos el naftaleno y sus alquilados (mono, di, tri y tetrametilnaftalenos). Entre los hidrocarburos poliaromáticos de tres anillos, tenemos el fenantreno, antraceno, fluoreno, y sus derivados alquilados. El fenantreno y los metilfenantrenos, representan los componentes mayoritarios de los triaromáticos (Viñas, 2005).

1.2.12. Resinas y asfáltenos.

Los asfaltos y resinas son compuestos de alto peso molecular que contienen nitrógeno, azufre y oxígeno, las estructuras de los asfaltos y resinas son complejas, están integradas por núcleos policíclicos o naftenoaromáticos, constituyen entre un 10 % en crudos poco degradados o ligeros, hasta un 60 % en crudos muy degradados. Los compuestos de estos dos grupos son recalcitrantes debido a su insolubilidad y a la presencia de grupos funcionales que los protege de ataques microbianos por las extensas estructuras de anillos aromáticos (Viñas, 2005).

En la Tabla 1.2 se presenta la clasificación de los hidrocarburos.

Tabla 1.2. Clasificación de los hidrocarburos

Nombre	Definición	Fórmula
Alcanos	Son hidrocarburos saturados homólogos del metano (CH ₄)	C _n H _{2n+2}
Cicloalcanos	Son hidrocarburos cíclicos saturados, derivados del ciclopropano (C ₃ H ₆) y del ciclohexano (C ₆ H ₁₂). Muchos de estos hidrocarburos contienen grupos metilo en contacto con cadenas parafínicas ramificadas	C _n H _{2n}
Hidrocarburos aromáticos	Son hidrocarburos cíclicos insaturados constituidos por el benceno (C ₆ H ₆) y sus homólogos.	C _n H _n
Alquenos	Son moléculas lineales o ramificadas que contienen un enlace doble de carbono (-C=C-).	C _n H _{2n}
Alquinos	Son moléculas lineales o ramificadas que contienen un enlace triple de carbono.	C _n H _{2n-2}

Fuente: ([Petróleo], 2008).

1.2.13. Clasificación del crudo según gravedad API

Es la escala de gravedad específica desarrollada por el Instituto Estadounidense del Petróleo (American Petroleum Institute, API) para medir la densidad relativa de diversos líquidos de petróleo, expresada en grados. La gravedad API está graduada en grados en un instrumento de hidrómetro y fue diseñada de manera tal que la mayoría de los valores quedaran entre 10° y 70° de gravedad API ([Gravedad API], s.f.).

La fórmula arbitraria utilizada es:

$$\text{Gravedad API} = \left(\frac{141,5}{GE \text{ a } 60^\circ F} \right) - 131,5$$

donde GE es la gravedad específica del fluido. En la Tabla 1.3 se presenta la clasificación del crudo según los grados API.

Tabla 1.3. Clasificación de crudo según grados API

Denominación del crudo	Grados API
Extrapesados	< 10
Pesados	10-22,3
Medios	22,3-31,1
Ligeros	>31,1

Fuente: (Dubois, 2000)

1.2.14. Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH).

El término hidrocarburos totales de petróleo (abreviados TPH en inglés) se usa para describir una gran familia de varios cientos de compuestos químicos originados de petróleo crudo. Debido a que hay muchos productos químicos diferentes en el petróleo crudo y en otros productos de petróleo, no es práctico medir cada uno en forma separada (Atsdr, 1999).

Sin embargo, es útil medir la cantidad total de TPH en un sitio. Los TPH son una mezcla de productos químicos compuestos principalmente de hidrógeno y carbono, denominados hidrocarburos. Los TPH se han dividido en grupos de hidrocarburos de petróleo que se comportan en forma similar en el suelo o el agua (Atsdr, 1999).

Estos grupos o fracciones de hidrocarburos de petróleo contienen muchos productos químicos individuales. Algunas sustancias químicas que pueden encontrarse en los TPH incluyen a hexano, combustibles de aviones de reacción, aceites minerales,

benceno, tolueno, naftalina, y fluoreno, como también otros productos de petróleo y componentes de gasolina. Sin embargo, es probable que muestras de TPH contengan solamente algunas, o una mezcla de estas sustancias químicas (Atsdr, 1999).

1.3. Contaminación del agua por hidrocarburos en el Ecuador

1.3.1. Generalidades

Durante las operaciones de explotación, extracción y transporte los materiales pueden contaminar el medio ambiente circundante a través de filtraciones accidentales o deliberadas, dando lugar a una amplia liberación de contaminantes en el medio ambiente. Y se puede observar la afectación que los hidrocarburos generan a la fertilidad a través de mecanismos como la toxicidad directa en los organismos en el suelo, reducción en la retención de humedad y/o nutrientes, compactación, cambios en pH y salinidad. La toxicidad de los hidrocarburos de petróleo, tanto alifático como aromático, es variable, pero en general, en aquellos de menor peso molecular son más tóxicos (Velásquez, 2017).

Los derivados de hidrocarburos como la gasolina, queroseno, aceites, combustibles, parafinas y el asfalto impactan la capa superficial del suelo, además pueden ser movilizados hasta aguas subterráneas generando así su contaminación, incluso pueden ser transportados por escorrentía incrementando aún más el daño ambiental.

La contaminación afecta las condiciones fisicoquímicas de agua al presentarse una disminución de oxígeno disuelto por a la reducción de la transferencia de oxígeno entre la fase atmósfera y agua, al igual que la entrada de luz al medio, lo que inhibe el crecimiento de ciertas especies y disminuye la fijación de nutrientes. Uno de los efectos adicionales tanto en agua como suelos es que el petróleo consume oxígeno, aumenta la demanda bioquímica del agua y puede generar condiciones anóxicas (Velásquez, 2017).

1.3.2. Agua

Los cuerpos de agua como lagos, ríos y humedales constituyen una variedad de recursos y comunidades acuáticas que pueden ser amenazadas por derrames de hidrocarburos. Los hidrocarburos tienden a flotar debido a la diferencia de densidad que presentan con respecto al agua, bloqueando la penetración de la luz y el intercambio de gases. De esta manera se reporta que dicho bloqueo favorece la solubilización de materiales que afectan a las distintas poblaciones como el plancton o los microinvertebrados que viven en el fondo de ríos y pantanos (Velásquez, 2017).

Velásquez (2017) reporta que la mayor parte de los componentes tóxicos y volátiles son eliminados por evaporación, mientras, otros se oxidan por la radiación UV en la luz del sol; todo esto depende del peso molecular, debido a que, algunos compuestos tóxicos de los hidrocarburos pueden disolverse en el agua y degradarse mientras otros presentan la capacidad de depositarse en los sedimentos. De todas maneras, cualquiera que sea la respuesta o acción de dichas sustancias, la fauna y flora del lugar es la primera y directamente afectada.

1.3.3. Suelo

El tipo de suelo arena, limo y arcilla y la cantidad de materia orgánica existente determinan el destino de los hidrocarburos del petróleo y la extensión del daño a las plantas. Velásquez (2017) reporta que “la contaminación por hidrocarburos de petróleo ejerce efectos adversos sobre las plantas indirectamente, generando minerales tóxicos en el suelo disponible para ser absorbidos, además, conduce a un deterioro de la estructura del suelo; pérdida del contenido de materia orgánica; y pérdida de nutrientes minerales del suelo, tales como potasio, sodio, sulfato, fosfato, y nitrato” de igual forma, el suelo se expone a la lixiviación y erosión. La presencia de estos contaminantes ha dado lugar a la pérdida de la fertilidad del suelo, bajo rendimiento de cosechas, y posibles consecuencias perjudiciales para los seres humanos y el ecosistema en su totalidad.

1.3.4. Derrames históricos en el Ecuador

Ecuador es el cuarto productor de hidrocarburos en América Latina y es conocido como el país con la biodiversidad más densa del planeta en referencia a su superficie. Los productos petroleros representan el 56,8% de las exportaciones totales del país y el 67,41% de las exportaciones de materias primas (Becerra, et al., 2013).

En el pasado, el desarrollo descontrolado de las actividades petroleras causó grandes impactos ambientales, sanitarios y sociales en todo el país. En particular, la compañía petrolera Texaco, que operó en Ecuador entre 1964 y 1992, habría derramado en la naturaleza una cantidad de petróleo que supera en un 50% a los 10,8 millones de galones correspondientes al derrame del Exxon Valdez en las costas de Alaska en 1989, cuya limpieza costó más de 7.000 millones de dólares (Becerra, et al., 2013).

1.3.5. Problema de la contaminación petrolera en el Ecuador

En los inicios de la explotación petrolera en el Oriente ecuatoriano no se disponía de política clara para reducir el efecto contaminante de esta actividad. Incluso las pocas áreas destinadas a la conservación de los ecosistemas, como parques nacionales y áreas protegidas, no han sido respetadas por las compañías petroleras (San Sebastián, et al., 2000).

Con la explotación petrolera se construyeron carreteras que hicieron posible la colonización y deforestación de un millón de hectáreas de selva, a su vez, cientos de pozos petroleros generan cada día más de 4,3 millones de galones de desechos tóxicos, que son derramados prácticamente en el medio ambiente sin tratamiento previo. Los desechos de crudo, regados regularmente por las carreteras con fines de mantenimiento y control de polvo, son esparcidos al medio ambiente con las lluvias. Se estima que las roturas accidentales en el Sistema del Oleoducto Transecuatoriano

(SOTE) han provocado el derrame de unos 400,000 barriles (16,8 millones de galones) de petróleo (San Sebastián, et al., 2000).

Estas prácticas han contaminado ríos, riachuelos y esteros, muchas veces las únicas fuentes de agua para los habitantes de esta región. Paralelamente, la continua quema diaria de petróleo y millones de pies cúbicos de gas producen compuestos altamente tóxicos que contribuyen a la contaminación del aire.

El desastre medioambiental se sintetiza en:

- ✓ Número de galones de petróleo regados en ríos y esteros: más de 20 millones
- ✓ Número de galones de agua tóxica derramada en ríos y esteros: más de 20 millones.
- ✓ Pies cúbicos de gas quemado: más de 300 millones

1.3.6. Efectos de los hidrocarburos en los seres vivos.

Debido a la variedad de la composición de los hidrocarburos, los efectos son diversos en los seres vivos, y dependen de factores como, el tipo de compuesto químico, la cantidad vertida y el tiempo de exposición. Los hidrocarburos una vez que entren en contacto con el medio ambiente son altamente contaminantes. (Pérez, 2008)

1.3.7. Efectos de la contaminación por hidrocarburos en el ser Humano.

Según algunos estudios realizados en las poblaciones aledañas a instalaciones petroleras y zonas donde existe contaminación por hidrocarburos en el Ecuador, se afirma que existe una relación directa entre la exposición a los hidrocarburos con una mayor prevalencia de enfermedades, las mismas que se pueden manifestar a corto y largo plazo en la población (Bravo, 2007). En la Tabla 1.4 se presenta un estudio epidemiológico de las enfermedades ocasionadas por los hidrocarburos.

Tabla 1.4. Estudios epidemiológicos de las enfermedades ocasionadas por los hidrocarburos, en las poblaciones que habitan cerca de instalaciones hidrocarburíferas en Ecuador.

Fecha	Institución u Organización	Nombre, título del estudio	Efectos sobre las personas
1994	CDES (Centro de Derechos Económicos Sociales, Ecuador)	Violaciones de derechos en la Amazonía ecuatoriana las consecuencias humanas del desarrollo petrolero	Reportaron numerosos problemas de piel (dermatosis), de la población expuestas.
2000	Instituto de Epidemiología y Salud Comunitaria "Manuel Amunárriz"	Informe Yana Curí: Impacto de la actividad petrolera en la salud de poblaciones rurales de la Amazonía Ecuatoriana	Indica que las mujeres del grupo expuesto habían sufrido mayor frecuencia de hongos en la piel, mayor frecuencia de los siguientes síntomas como irritación de la nariz y los ojos; dolor de cabeza y dolor de oído, diarrea y gastritis.
2003	Acción Ecológica	Ecuador ni es, ni será ya país amazónico	El estudio arrojo que las enfermedades que la población atribuye a la contaminación son el 96 % problemas de piel, le siguen problemas respiratorios (75 %) y en tercer lugar los problemas digestivos (64 %).
	San Sebastián y Hurtig, en el Internacional	Incidencia de leucemia en niños y explotación de	Los resultados del estudio indican, que existe relación entre la cercanía a la

2004	Journal of Epidemiology	petróleo en la Amazonía del Ecuador	explotación petrolera y la incidencia de leucemia en niños
------	----------------------------	---	--

Fuente: (Aguilera, 2003)

1.3.8. Daños a la fauna y flora.

La contaminación por hidrocarburos afecta a los animales desde los mamíferos, aves, peces, las almejas, los moluscos e insectos; cuando los derrames de petróleo son sobre cursos de agua estos afectan de manera especial a la avifauna acuática, impidiéndoles nadar y alimentarse (Bravo, 2007).

1.4. Biodegradación

1.4.1. Definición

La Biorremediación es cualquier proceso que utiliza organismos vivos como microorganismos, hongos y plantas, por medio de agentes o compuestos derivados de cualquiera de ellos, para retornar un medio ambiente alterado por contaminantes a su condición natural ya sea en el suelo o en las aguas. También se define como el proceso de aceleración de la tasa de degradación natural de hidrocarburos por adición de nutrientes (Trujillo & Ramírez, 2012).

1.4.2. Biorremediación de suelos

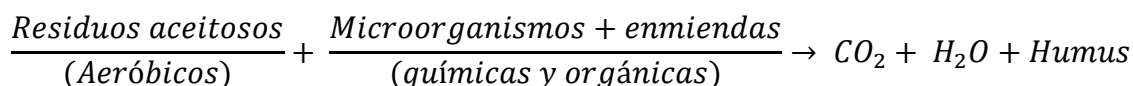
La Biorremediación en suelos es empleada para atacar o sustraer agentes contaminantes específicos del suelo, se realiza por medio de degradación o transformación de diferentes compuestos nocivos en otros de menor toxicidad o materia orgánica en descomposición (Trujillo & Ramírez, 2012).

La biorremediación, es eficiente en el momento de la limpieza de suelos contaminados (si las condiciones de biodegradación son óptimas), en contraste con alternativas más costosas, económica y ambientalmente como la incineración. (Trujillo & Ramírez, 2012).

1.4.3. Proceso de biorremediación de lodos contaminados con hidrocarburos

El principio básico de la biorremediación consiste en aumentar la velocidad de degradación natural de los hidrocarburos contaminantes de los suelos (Trujillo & Ramírez, 2012).

Las bacterias, hongos y otros microorganismos se encargan de transformar los componentes orgánicos del hidrocarburo en: CO₂, H₂O y humus, de la siguiente manera:



1.4.4. Principales microorganismos degradadores de Hidrocarburos

Los suelos contaminados contienen gran cantidad de microorganismos que pueden incluir un número de bacterias y hongos capaces de utilizar hidrocarburos. Los suelos contaminados con hidrocarburos contienen más microorganismos que los suelos no contaminados, pero su diversidad microbiana es más reducida (Trujillo & Ramírez, 2012). En la Tabla 1.5 se presenta los organismos degradadores de petróleo.

Tabla 1.5. Organismos degradadores de petróleo

Bacterias			Hongos		
Achrornobacter	Leumthrix	Xanthomyces	Allescheria	Oidiodendrum	Gonytrichum
Acinetobacter	Moraxella	Lactobacillus	Aspergillus	Paecylomyces	Hansenula
Actinomyces	Nocardia	Erwinia	Aureobasidium	Phialophora	Helminthosporium
Aeromonas	Peptococcus	Flavobacterium	Botrytis	Penicillium	Torulopsis
Alcaligenes	Pseudomonas	Klebsiella	Candida	Rhodosporidium	Trichoderma

Arthrobacter	Sarcina	Coryneforms	Cephalosporium	Rhodotorula	Trichosporon
Bacillus	Spherotilus	Vibrio	Cladosporium	Saccharomyces	Fusarium
Beneckea	Spirillum		Cunninghamella	Saccharomyco-	Sporobolomyces
Brevibacterium	Streptomyces		Debaromyces	Scopulariopsis	

Fuente: (Trujillo & Ramírez, 2012).

1.4.5. Métodos de biorremediación en suelos

1.4.5.1. Biorremediación in situ

Este tipo de tratamiento normalmente es la opción más adecuada para la recuperación de suelos, ya que no es necesaria la preparación y excavación del material contaminado (Trujillo & Ramírez, 2012).

1.4.5.2. Biorremediación ex situ

Se lleva a cabo cuando el procedimiento se realiza fuera del lugar donde está la contaminación. Entre las técnicas más utilizadas se tienen la disposición sobre el suelo (Landfarming), Bioceldas o biopilas, Tratamiento de biosuspensión (Trujillo & Ramírez, 2012).

1.4.5.3. Fitorremediación

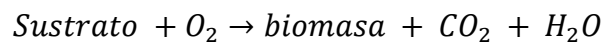
La fitorremediación constituye una variación de las técnicas de biorremediación, que se basa en el uso de plantas y los microorganismos asociados a ellas (Trujillo & Ramírez, 2012).

1.4.6. Fundamento bioquímico de la biodegradación

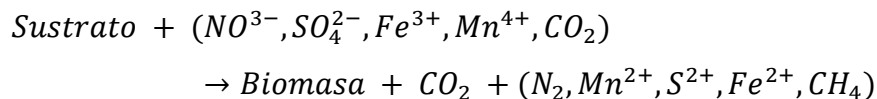
El fundamento bioquímico de la biorremediación se basa en que, en la cadena respiratoria, o transportadora de electrones de las células, se van a producir una serie de reacciones de óxido-reducción cuyo fin es la obtención de energía (Arroyo & Quesada, 2005).

Los aceptores más comúnmente utilizados por los microorganismos son el oxígeno, los nitratos, el hierro (III), los sulfatos y el dióxido de carbono. Cuando el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo aerobio; sin embargo, si utiliza los sulfatos o el dióxido de carbono se produce en condiciones reductoras o anaerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo anaerobio (Arroyo & Quesada, 2005).

Degradación aerobia:



Degradación anaerobia:



La concentración y composición de la comunidad microbiana y la tasa de transformación de contaminantes está influenciada por diversos factores:

1.4.6.1. Necesidad de Nutrientes

El metabolismo microbiano está orientado a la reproducción de los organismos y éstos requieren que los constituyentes químicos se encuentren disponibles para su asimilación y sintetización. Los nutrientes principalmente requeridos son el fósforo y el nitrógeno (Arroyo & Quesada, 2005).

1.4.6.2. pH del suelo

Afecta significativamente en la actividad microbiana. El crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es máximo dentro de un intervalo de pH situado entre 6 y 8 (Arroyo & Quesada, 2005).

1.4.6.3. Temperatura

Generalmente las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura bastante reducidos, entre 15 y 45 °C (condiciones mesófilas), decreciendo la biodegradación por desnaturalización de las enzimas a temperaturas superiores a 40 °C e inhibiéndose a inferiores a 0 °C (Arroyo & Quesada, 2005).

1.4.6.4. Humedad

Los microorganismos requieren unas condiciones mínimas de humedad para su crecimiento. El agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo (Arroyo & Quesada, 2005).

1.4.6.5. Estructura química del hidrocarburo

La inherente biodegradabilidad de un hidrocarburo depende, en gran medida, de su estructura molecular. Siendo los parámetros que más van a afectar la halogenación, la existencia de ramificaciones, la baja solubilidad en el agua y la diferente carga atómica (Arroyo & Quesada, 2005).

1.5. Medios de Cultivo

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de estos es tan grande que la variedad de medios de cultivo es enorme, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos, ni siquiera refiriéndose a las bacterias con exclusividad (Slant, 2006).

1.5.1. Constituyentes Habituales de los medios de cultivo

A continuación, se presentan algunos constituyentes habituales de los medios de cultivo:

- **Agar:** Se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo.
- **Extractos:** Su preparación consiste en que ciertos órganos o tejidos animales o vegetales (carne, hígado, cerebro, semillas, etc.) son extraídos con agua y calor y posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo.
- **Peptonas:** Son mezclas complejas de compuestos orgánicos, nitrogenados y sales minerales, que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales (soja caseína carne, etc.).
- **Fluidos Corporales:** Con frecuencia es necesario añadir a los medios de cultivo de algunos patógenos sustancias como sangre completa, sangre desfibrilada, plasma o suero sanguíneo, sobre todo para conseguir el primer aislamiento a partir del hospedador.
- **Sistemas Amortiguadores:** Para mantener el pH dentro del rango óptimo del crecimiento bacteriano a veces, es necesario añadir algunos componentes al medio de cultivo.
- **Indicadores de pH:** Con el objeto de poder detectar variaciones en el pH debido a fermentaciones u otros procesos, se hace necesario a veces añadir indicadores ácido-base que nos lo indiquen.
- **Agentes Selectivos:** La adición de determinadas sustancias a un medio de cultivo puede convertirlo en selectivo.

1.5.2. Tipos de Medios de Cultivo

Se encuentran los siguientes medios de cultivo:

- ✓ Medios Generales: Son aquellos que permiten el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.
- ✓ Medios de Enriquecimiento: Son aquellos que favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás.
- ✓ Medios Selectivos: Son aquellos que permiten el crecimiento de un tipo de microorganismos determinado, inhibiendo el desarrollo de los demás.
- ✓ Medios Diferenciales: Son aquellos en los que se pone de manifiesto propiedades que un determinado tipo de microorganismos posee.

1.5.3. Preparación de Medios de Cultivo

En la actualidad, la mayoría de los medios de cultivo se encuentran comercializados; normalmente bajo la forma de liofilizados a los que es preciso rehidratar. En estos casos la preparación del medio de cultivo se reduce sencillamente a pesar la cantidad deseada del mismo y disolverla en agua destilada siguiendo las instrucciones del fabricante. Las sustancias termolábiles, se esterilizan por filtración y se añaden al resto de los componentes después de que estos hayan sido previamente esterilizados en el autoclave y enfriados a temperatura ambiente o también a 40 - 50 °C si se trata de medios con agar (Slant, 2006). Ver Fig. 1.8.

Antes de su esterilización los medios líquidos se reparten en los recipientes adecuados (tubos, matraces, etc.). Si es un medio sólido y se ha de distribuir en tubos o en matraces será necesario fundir el agar en baño María u horno microondas, una vez fundido y homogenizado, se distribuye en caliente a los tubos o matraces (no en placas Petri) se tapa y se esteriliza en el autoclave.

Una vez finalizada la esterilización los medios se dejarán enfriar a temperatura ambiente y en el caso de medios sólidos contenidos en tubos deberán, en su caso, inclinarse para que al solidificarse adopten la forma de agar inclinado o pico de flauta si tal es su finalidad.

Las placas de Petri se preparan vertiendo el medio fundido y estéril dentro de ellas y en un ambiente aséptico (por ejemplo, en la proximidad de la llama de un mechero Bunsen) es conveniente homogenizar el medio en el transcurso de la operación para evitar que el agar sedimente en el fondo del recipiente y no se distribuya por igual en todas las placas (Slant, 2006).

Los caldos y medios sólidos pueden conservarse, una vez esterilizados, a temperatura ambiente, pero para reducir su deshidratación y el consiguiente cambio en las concentraciones de sus componentes es preferible conservarlos a 4 °C.

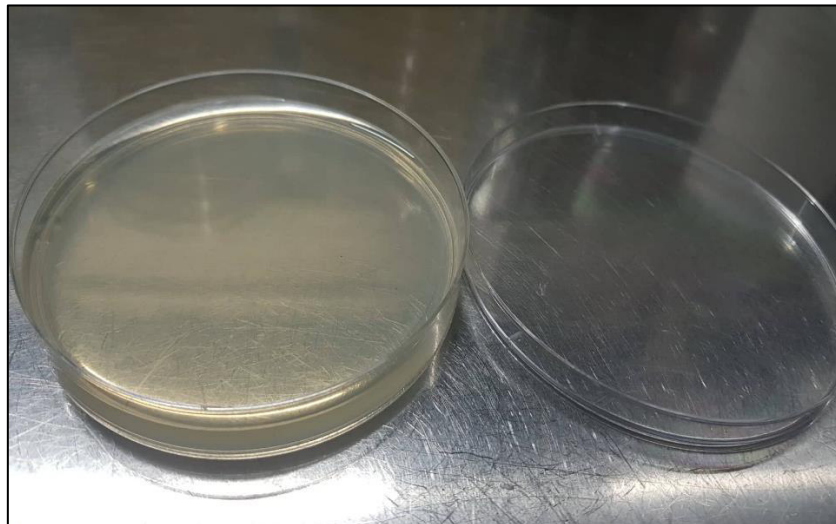


Figura 1.8. Medio de Cultivo con PDA (Potasa Dextrosa Agar)

Elaborado por: (Morán, 2022)

METODOLOGÍA

2.1. Recolección de muestras

La recolección de las muestras tuvo la finalidad de obtener microorganismos nativos, para aislarlos y probar su capacidad degradadora frente a los hidrocarburos presentes en la matriz contaminada. Se tomaron diferentes tipos de muestras las cuáles se detallan a continuación.

2.1.1. Microorganismos y crudo pesado del campo Pungarayacu

2.1.2. Antecedentes

La cantera pertenece al campo petrolero Pungarayacu descubierto en 1980, contiene alrededor de 4000 millones de barriles de petróleo pesado (6-10^º API), en un área aproximada de 270 Km^2 . La cantera se encuentra en la Formación Hollín (125 - 100 Ma) del Cretácico Inferior y aloja el petróleo en arenisca bituminosa (Rivadeneira & Baby, 2014).

La cantera Pungarayacu tiene 30 m de alto, en ella se pueden distinguir tres sistemas de fallas principales con direcciones NS, OE, NO-SE, que constituyen el entramado que beneficia la acumulación de hidrocarburos en esta formación (IIGE, 2020); ver Fig. 2.1.

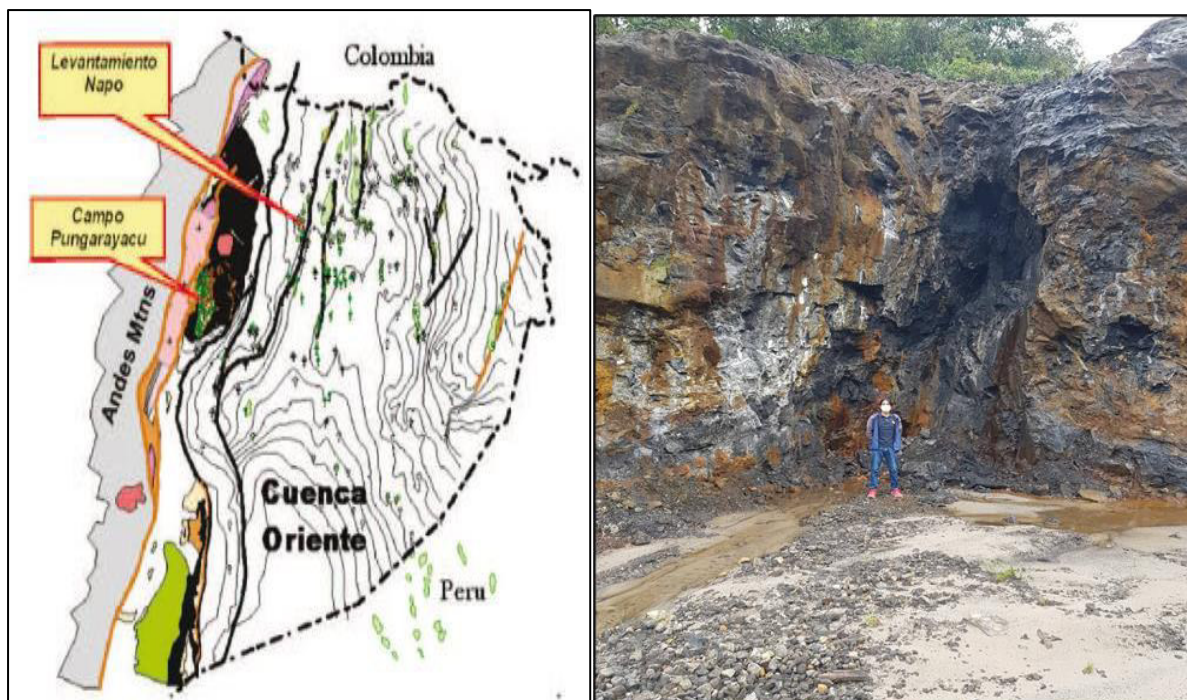


Figura 2.1. Localización de la Cantera de Pungarayacu

Elaborado por: (Morán, 2022)

En el sitio se tomaron muestras de suelo y crudo empleando los siguientes materiales:

- ✓ Machete
- ✓ Espátula
- ✓ Recipientes herméticos
- ✓ Bolsas herméticas
- ✓ Recipiente (cooler)
- ✓ Marcador
- ✓ Hielo
- ✓ Sal

El almacenamiento de las muestras se lo hizo en las fundas ziploc y en los recipientes herméticos. Para transportar las muestras se empleó el cooler en dónde se le añadió hielo y sal con el propósito de conservar las muestras en el viaje; ver Fig. 2.2.



Figura 2.2. Muestras de bacterias y crudos pesados del campo Pungarayacu

Elaborado por: (Morán, 2022)

2.1.3. Microorganismos de montaña del campo Pungarayacu

Los microorganismos de montaña se colectaron cerca del área de la cantera; ver Fig. 2.3. Estas muestras poseen diferentes tipos de bacterias necesarias para realizar la investigación.



Figura 2.3. Recolección de microorganismos de montaña del campo Pungarayacu

Elaborado por: (Morán, 2022)

2.1.4. Microorganismos de montaña de Papallacta

Recolectados los microorganismos del campo Pungarayacu se obtuvieron muestras de suelo de un ecosistema diferente al de la región Amazónica; por lo tanto, se procedió a recolectar muestras de montaña de Papallacta; ver Fig. 2.4.



Figura 2.4. Recolección de microorganismos de montaña de Papallacta

Elaborado por: (Morán, 2022)

2.2. Construcción del Sistema Bioelectroquímico

2.2.1. Materiales

La construcción del sistema Bioelectroquímico se realizó empleando materiales fáciles de encontrar en el mercado local y en su mayoría fueron reciclados.

El sistema bioelectroquímico está compuesto por los materiales detallados en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Materiales del Sistema Bioelectroquímico

Materiales	Características
Balde	De plástico, 4 litros
Grafito	6 placas, dimensión: 12x10x05 cm
Generador de voltaje y amperaje	Marca Baku BK-305D
Lagartos	3 lagartos positivos y 3 lagartos negativos
Material conductor	Anillos de tubo PVC

Elaborado por: (Morán, 2022)

2.2.2. Reactivos

La Tabla 2.2 muestra los reactivos utilizados en el sistema bioelectroquímico.

Tabla 2.2. Reactivos

Reactivos	Cantidad
Ácido Bórico	0,5 gr
Tripolifosfato de Sodio	1 gr
Sulfato de Amonio	1 gr
Melaza	250 ml
Caldo de bacterias	800 ml
Aceite vegetal	720 ml
Tween 20	90 ml y 120 ml

Elaborado por: (Morán, 2022)

2.2.3. Equipos

Para el desarrollo de la investigación se emplearon los equipos que se detallan en la Tabla 2.3. En la Fig. 2.5 se presenta el esquema del sistema bioelectroquímico.

Tabla 2.3. Equipos

Equipos	Características
Agitadores	Hamilton Beach
Recipientes de vidrio	De 1000 ml, 600 ml y 250 ml
Probetas	De 1000 ml, 500 ml y 100 ml
Balanza analítica	Boeco BLC-500

Elaborado por: (Morán, 2022)



Figura 2.5. Esquema del Sistema Bioelectroquímico

Elaborador por: (Morán, 2022)

2.3. Preparación de electrodos

Los electrodos de grafito fueron maquinados en el Departamento de Materiales de la Facultad de Ingeniería Mecánica de la Escuela Politécnica Nacional; las dimensiones de los electrodos son:

- Ancho: 10 cm
- Largo: 12 cm
- Espesor: 0,5 cm

El área total de los 6 electrodos maquinados es de 1572 cm².

2.4. Preparación de la emulsión

La preparación de la emulsión siguió la siguiente secuencia:

- ✓ Se usaron los reactivos Aceite y Tween 20 con las concentraciones que se detallan en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4. Concentraciones de reactivos

Aceite	Tween 20
--------	----------

B1	550 ml	5 ml
B2	550 ml	12,5 ml
B3	550 ml	20 ml

Elaborado por: (Morán, 2022)

Donde:

- B1, B2 y B3 son códigos empleados para cada ensayo que se realizó.
 - El aceite empleado es un aceite vegetal de uso común.
 - El Tween 20 es un surfactante hidrofílico que se usa para emulsificar aceite en agua (O/W)
- ✓ Se procedió a la agitación de la mezcla de las concentraciones de los reactivos. En la Tabla 2.5 se observan los tiempos de agitación y el resultado.

Tabla 2.5. Agitación del producto

Producto	Tiempo de agitación	Descripción
B1	5 min	Se emulsionó
B2	5 min	Se emulsionó
B3	5 min	Se emulsionó

Elaborado por: (Morán, 2022)

- ✓ Luego de observar que las mezclas emulsionaran con diferentes concentraciones del reactivo Tween 20 se procedió a trabajar con altas concentraciones del reactivo para verificar si en realidad sucede lo mismo a grandes escalas. En las Tablas 2.6 y 2.7 se presenta el resultado.

Tabla 2.6. Mezcla con Tween 20 a 90 ml

Aceite vegetal	Tween 20	Tiempo de agitación	Descripción
720 ml	90 ml	5 min	Se emulsionó

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 2.7. Mezcla con Tween 20 a 120 ml

Aceite vegetal	Tween 20	Tiempo de agitación	Descripción
720 ml	120 ml	5 min	Se emulsionó

Elaborado por: (Morán, 2021)

Se observa que al mezclar los reactivos a una mayor concentración durante el mismo tiempo de agitación se emulsionan sin ningún problema. De tal manera se obtiene una mezcla con surfactante (Tween 20) listo para las siguientes preparaciones del caldo bacteriológico.

- ✓ El petróleo obtenido del campo Pungarayacu, tiene las siguientes características:

$$^{\circ}API = \frac{141,5}{GE} - 131,5$$

Donde:

GE: gravedad específica del petróleo

$$GE = \frac{141,5}{^{\circ}API + 131,5}$$

Se conoce que el $^{\circ}API$ del campo Pungarayacu es 8° , entonces:

$$GE = \frac{141,5}{8 + 131,5}$$

$$GE = 1,014 \frac{g}{cm^3}$$

- ✓ Conocida la característica del crudo, se procedió a usar el crudo junto con las mezclas obtenidas anteriormente, además se le añadió agua para mejorar la emulsión. Ver la Tabla 2.8.

Mezcla con Tween 20 a 90 ml:

Tabla 2.8. Mezcla Surfactante con agua y Tween 20 a 90 ml

Agua (ml)	Crudo (gr)	Mezcla Surfactante (ml)	Tiempo de agitación (min)	Descripción
250	35,7	100	60	Emulsión leve
275	35,7	75	60	Emulsión leve
300	35,7	50	60	Emulsión leve
325	35,7	25	60	Emulsión leve

Elaborado por: (Morán, 2022)

Mezcla con Tween 20 a 120 ml:

Tabla 2.9. Mezcla Surfactante con agua y Tween 20 a 120 ml

Agua (ml)	Crudo (gr)	Mezcla Surfactante (ml)	Tiempo de agitación (min)	Descripción
250	33,4	100	60	Emulsión leve
275	33,4	75	60	Emulsión leve
300	33,4	50	60	Emulsión leve
325	33,4	25	60	Emulsión leve

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se observó que las mezclas obtenidas presentan una emulsión leve; posiblemente porque el crudo tiene un °API muy bajo (crudo muy pesado). Además, contiene ciertas bacterias y material orgánico e inorgánico que al momento de proceder a la mezcla con el surfactante y el agua no se disuelve completamente y no se emulsiona totalmente. Esto se evidenció en los diferentes ensayos elaborados en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Petróleos, donde se emplearon varias pruebas para obtener las mezclas resultantes.

2.5. Preparación del agua con nutrientes

- ✓ Se utilizan las concentraciones detalladas en la Tabla 2.10.

Tabla 2.10. Concentraciones del agua con nutrientes

Reactivos	Cantidad
Ácido Bórico	0,5 gr
Tripolifosfato de Sodio	1 gr
Sulfato de Amonio	1 gr
Melaza	250 ml
Caldo de bacterias	800 ml

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se procede a mezclar la mezcla surfactante tanto de Tween 20 a 90 ml como a 120 ml obtenido en los ensayos anteriores en un recipiente grande con el fin de usar el producto en la celda bioelectroquímica y realizar el proceso respectivo de biorremediación.

2.6. Preparación del caldo bacteriológico

Se usaron todas las mezclas producidas a lo largo de la trayectoria del estudio con el fin de obtener un caldo que permita calcular los porcentajes de petróleo degradado mediante la manipulación de corriente eléctrica a diferentes voltajes y amperajes en un determinado tiempo.

En la Tabla 2.11 se detallan las concentraciones para la preparación del caldo bacteriológico.

Tabla 2.11. Concentraciones del caldo bacteriológico

Material	Cantidades
Melaza	250 ml
Bacterias	800 ml
Ácido Bórico	0,5 gr
Tripolifosfato de Sodio	1 gr
Sulfato de Amonio	1 gr
Agua	3285 ml
Mezcla Surfactante con Tween a 90 ml	545 ml
Mezcla Surfactante con Tween a 120 ml	570 ml
Emulsiones preparadas	2800 ml

Elaborado por: (Morán, 2022)

Todo lo preparado se colocó en la celda bioelectroquímica para su correcto funcionamiento y posterior análisis.

2.7. Siembra de Microorganismos

Los medios de cultivos empleados para este análisis fueron generales, los que permitieron el desarrollo óptimo de los microorganismos procedentes del medio ambiente.

El medio de cultivo usado fue el PDA (Potasa Dextrosa Agar); ver Fig. 2.6.

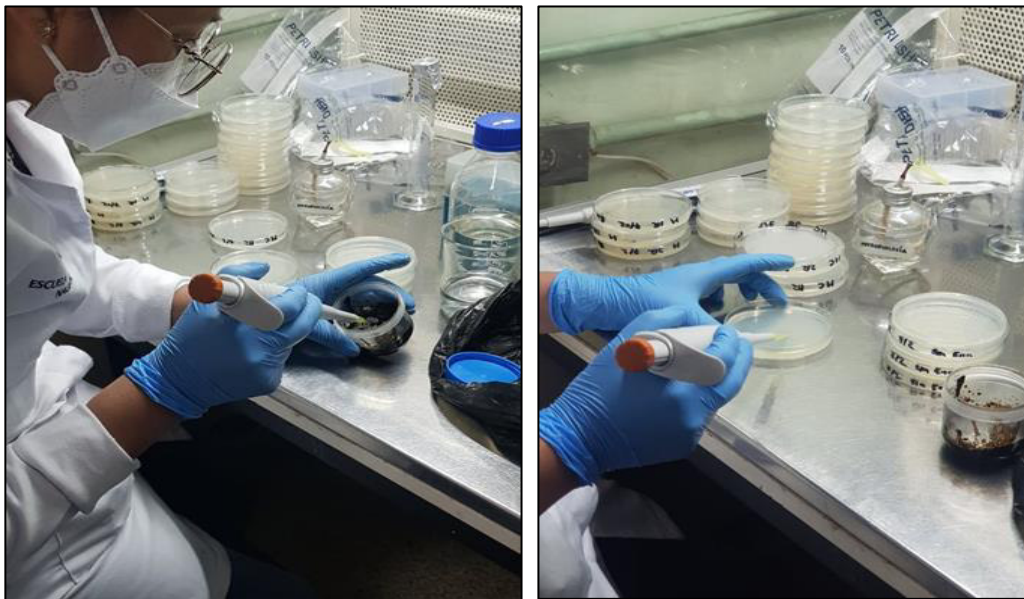


Figura 2.6. Siembra de las muestras de petróleo y agua contaminada en cajas Petri con PDA

Elaborado por: (Morán, 2022)

2.7.1. Materiales

Los materiales empleados fueron:

- Autoclave
- Guantes de laboratorio
- Cabina de flujo laminar (EPA)
- Lámpara de alcohol
- Cajas Petri

- Alcohol
- Probeta
- Agitador
- Varilla agitadora
- Muestras: Metabolitos, MC (micelio) y agua contaminada
- Envases plásticos
- Micropipeta mecánica
- Puntas estériles para la micropipeta
- (10 ml) de agua de peptona bacterada
- Cinta de sellado Film
- Microscopio binocular a láser
- Cámara de almacenamiento
- Estufa

2.7.2. Procedimiento de la siembra de los microorganismos

El procedimiento de la siembra consistió en:

- 1) Esterilizar todos los instrumentos a utilizar en la autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- 2) Utilizar guantes de laboratorio.
- 3) Utilizar la cabina de flujo laminar (condición EPA).
- 4) Esterilizar la zona de trabajo utilizando la lámpara de alcohol dentro de la cabina de flujo laminar (30 cm de esterilización).
- 5) Utilizar las cajas Petri (previamente preparadas con PDA).
- 6) Etiquetar las cajas Petri de acuerdo con el cultivo de las muestras bacterianas con y sin caldo de enriquecimiento que se realizará de la siguiente manera:
 - 3 cajas Petri de Metabolitos sin caldo de enriquecimiento
 - 3 cajas Petri de Mc sin caldo de enriquecimiento
 - 3 cajas Petri de Agua sin caldo de enriquecimiento
 - 3 cajas Petri de Metabolitos con caldo de enriquecimiento
 - 3 cajas Petri de MC con caldo de enriquecimiento

- 3 cajas Petri de Agua con caldo de enriquecimiento
- 7) Proceder a realizar la siembra sin caldo de enriquecimiento.
 - a. Utilizar la micropipeta mecánica con las puntas estériles para tomar los microorganismos de la parte superior de cada muestra y mezclarlos con los 10 ml de agua de peptona bacterada en 3 envases de plástico.
 - b. Sembrar la muestra (Metabolitos) con la técnica de la triple estría en 3 cajas Petri sin caldo de enriquecimiento.
 - c. Sembrar las muestras (MC) con la técnica de la triple estría en 3 cajas Petri sin caldo de enriquecimiento.
 - d. Sembrar las muestras (Agua) tomando 100 microlitros de esta muestra en 3 cajas Petri sin caldo de enriquecimiento.
 - e. Utilizar la técnica de esparcimiento para la muestra de agua con la pipeta Pasteur en la caja Petri sin caldo de enriquecimiento.
 - 8) Proceder a realizar la siembra con caldo de enriquecimiento.

Utilizar los recipientes de plástico pequeños para mezclar cada una de las muestras (25g) con 10ml de caldo de enriquecimiento.

 - a. Sembrar la muestra (Metabolitos) con la técnica de esparcimiento estría en 3 cajas Petri con caldo de enriquecimiento.
 - b. Sembrar la muestra (MC) con la técnica de esparcimiento en 3 cajas Petri con caldo de enriquecimiento.
 - c. Sembrar la muestra (Agua) con la técnica de esparcimiento en 3 cajas Petri con caldo de enriquecimiento.
 - 9) Proceder a sellar cada caja Petri con cinta de sellado Film.
 - 10) Almacenar las cajas Petri de forma separada en a 25 °C durante 7 días en la estufa.
 - 11) A partir del cuarto y quinto día se comienza a desarrollar las bacterias, pero se aconseja esperar 7 días para observar la inoculación de las siembras realizadas.

2.8. Aislamiento de Microorganismos

Se observó el posible crecimiento de bacterias, hongos y levaduras durante el transcurso de varios días luego de la siembra. Así, para estudiar sus características por separado se procedió a aislar cada una de las siembras para obtener un cultivo puro que permita identificar la bacteria, hongo o levadura que actúa dentro del sistema de bioelectroremediación; ver Fig. 2.7.

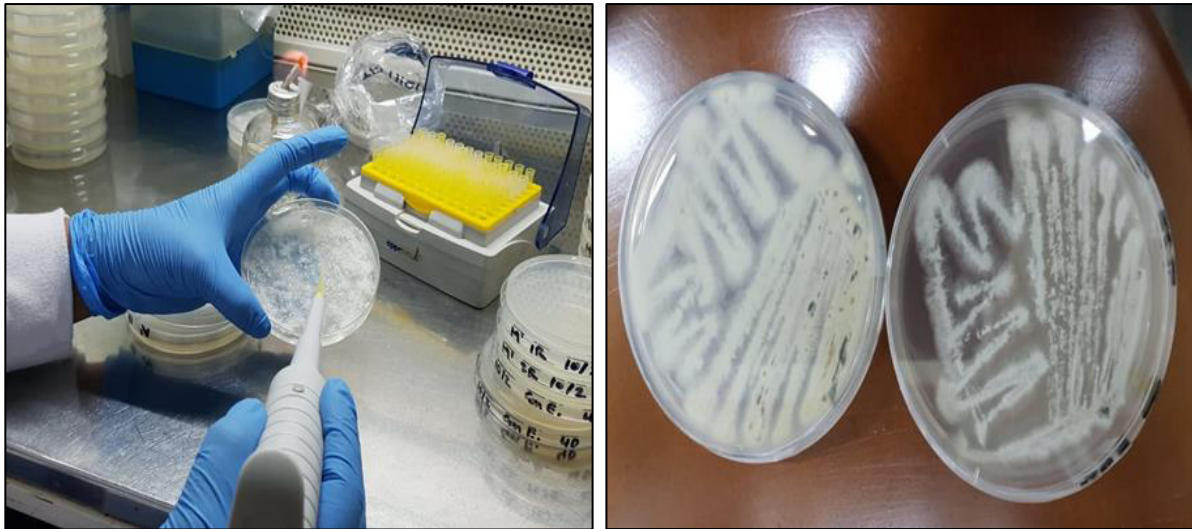


Figura 2.7. Aislamiento de bacterias con la técnica de estría y 3 puntos

Elaborado por: (Morán, 2022)

Para este proceso se usaron los mismos materiales de la siembra.

2.8.1. Procedimiento del aislamiento

El procedimiento de aislamiento se desarrolló en la siguiente secuencia:

- 1) Recolectar con la pipeta las bacterias que más se distinguen visualmente del resto de cada caja Petri.
- 2) Sembrar estas bacterias en dos cajas Petri para cada muestra mediante la técnica de la estría y los 3 puntos.

- 3) La siembra se realiza recolectando las muestras distintivas y colocándolas en las cajas Petri previamente con PDA; este procedimiento es similar al anterior proceso de siembra con todos los materiales usados.
- 4) Almacenar las nuevas siembras a 25 °C durante aproximadamente 7 días en la estufa hasta observar que la muestra no esté contaminada y esté lista para su identificación.

2.9. Identificación de Microorganismos

Después de realizar la siembra y el aislamiento de los microorganismos, se procedió a realizar la respectiva identificación. En la Fig. 2.8, mediante microscopio digital, se observan las bacterias a identificar.

Se refiere que la bacteria u hongo identificado corresponderá al microorganismo predominante en la investigación propiciará el proceso de biodegradación del petróleo de la celda bioelectroquímica.

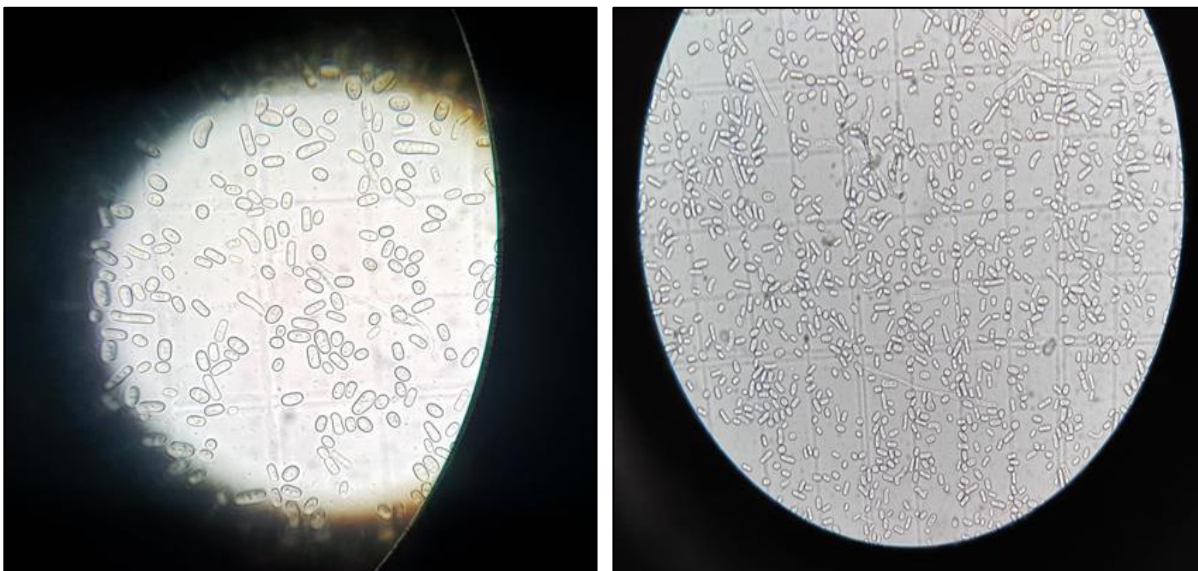


Figura 2.8. Bacterias observadas desde el Microscopio digital

Elaborado por: (Morán, 2022)

2.9.1. Materiales

Los insumos empleados para la identificación de los microorganismos fueron:

- Tween 80 (reactivo especial para la identificación de bacterias)
- Agua Destilada
- Recipiente de 500 ml
- Tubos de ensayo con rosca
- Agitador de tubos de ensayo
- Cubreobjetos
- Cámara de Neubauer
- Microscopio digital

2.9.2. Procedimiento de la identificación

La secuencia del procedimiento para la identificación de los microorganismos fue:

- 1) Mezclar el Tween 80 (usar 20 ml) con agua destilada en un recipiente de 500 ml.
- 2) Usar 10 ml de la mezcla y colocar en la muestra de una caja Petri ya seleccionada que no tenga contaminación (realizar este proceso con cada caja Petri que no muestre contaminación), luego se procede a mezclarlo.
- 3) Colocar la mezcla en un tubo de ensayo y agitarlo durante 30 segundos en el agitador.
- 4) Recoger aproximadamente 20 microlitros de la muestra con la pipeta y colocar en el portaobjetos Neubauer.
- 5) Observar la muestra en el microscopio digital.

Luego de revisión bibliográfica exhaustiva y análisis morfológico se concluyó que las bacterias provienen de las familias *Bacillus* (Bacilo) y *Cocos*.

Estos análisis permiten, en la mayoría de los casos, determinar el género bacteriano involucrado y algunas especies. Sin embargo, ciertos organismos muy próximos filogenéticamente precisan de técnicas complejas de biología molecular, para poder

distinguir uno y otro y es necesario el uso de un microscopio de barrido el cual tiene las características suficientes para realizar la identificación molecular. Muchas bacterias se pueden cultivar con facilidad y su morfología y movilidad se determina por la simple observación de una preparación en fresco, con un microscopio óptico el cual se usó para esta investigación.

Los parámetros fisiológicos usados comúnmente en la identificación del agente bacteriano son la tolerancia al oxígeno y la temperatura, la formación de pigmentos, la producción de catalasa y oxidasa, la acción sobre la glucosa por vía oxidativa o fermentativa y otra actividad enzimática (Carrillo, 2013). Estos parámetros y mediante recursos bibliográficos realizó la identificación de las bacterias que actúan en el sistema bioelectroquímico.

2.10. Diseño Experimental

Se desarrollaron varias pruebas en el laboratorio del Departamento de Petróleos, donde se determinaron los niveles de degradación de hidrocarburos con los microorganismos empleados; seleccionados por sus excelentes condiciones de desarrollo frente a la matriz contaminante.

Las pruebas se realizaron durante un período de nueve semanas (ver Tabla 2.12), y los datos fueron analizados estadísticamente con la finalidad de validar el sistema bioelectroquímico.

Tabla 2.12. Proceso de recolección de datos del sistema bioelectroquímico

Tiempo	Número de Réplicas (Adquisición de Datos)	Descripción
Semana 1	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico

Semana 2	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Semana 3	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Semana 4	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Semana 5	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Semana 6	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Semana 7	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Semana 8	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Semana 9	1 cada día	Durante los 5 días de la semana se tomaron datos relevantes del proceso del sistema bioelectroquímico
Total	45 réplicas	

Elaborado por: (Morán, 2022)

Los datos se obtuvieron mediante el uso de los siguientes equipos:

- Para el cálculo del pH se usó un pH-metro o potenciómetro.
- Para el cálculo de la temperatura y STD se usó un medidor de sólidos totales marca COND 3210.
- Para el cálculo de los miliamperios y el voltaje se usó un generador de alimentación externa BAKU BK-305D.

Los datos analizados en el sistema bioelectroquímico fueron:

- pH
- Temperatura
- Miliamperios (mA)
- Voltaje (V)
- Sólidos Totales Disueltos (STD)

Además, para continuar con un adecuado proceso del funcionamiento del sistema bioelectroquímico, cada 5 días se procedió a suministrar reactivos (ver Tabla 2.13) con el fin de optimizar su funcionamiento.

Tabla 2.13. Concentración de reactivos para el sistema bioelectroquímico

Reactivo	Concentración (gr)
KCl	0.5
Tripolifosfato de Sodio	0.5
Sulfato de Amonio	0.5
Ácido Bórico	0.5

Elaborado por: (Morán, 2022)

Para determinar los niveles de degradación y entender el funcionamiento del sistema bioelectroquímico se llevaron varias muestras al laboratorio de análisis instrumental del Departamento de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, donde se llevó a cabo los análisis respectivos para estudiar el funcionamiento del sistema con más precisión.

2.10.1. Informe del Laboratorio de Análisis Instrumental

Para elaborar este informe se usó el laboratorio instrumental del Departamento de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, en donde se procedió a elegir las muestras más significativas con el fin de estudiar los resultados de manera pertinente. Las muestras seleccionadas fueron:

- ✓ Muestra original (petróleo crudo del campo Pungarayacu).
- ✓ Muestra resultado (petróleo degradado a condiciones ambientales).
- ✓ Muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico (caldo bacteriológico degradado en el sistema bioelectroquímico).
- ✓ Muestra en proceso aerobio no Bioelectroquímico (caldo bacteriológico degradado a condiciones ambientales en un balde cerrado).
- ✓ Muestra en proceso aerobio no Bioelectroquímico (caldo bacteriológico degradado a condiciones ambientales en un recipiente abierto de vidrio).
- ✓ Muestra de aceite vegetal y surfactante

El análisis realizado en el Departamento de Química se denomina Espectrofotometría, que es la técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma

Para interpretar los resultados y los gráficos de los análisis realizados de las seis (6) muestras seleccionadas, entenderá continuación las definiciones de absorbancia y transmitancia que fueron los espectros realizados en el laboratorio y se midieron mediante un instrumento llamado espectrómetro.

Absorbancia

La absorbancia es la capacidad de la sustancia para absorber una luz que incide sobre su superficie, además, es igual al logaritmo del recíproco de la transmitancia. Esto se puede desarrollar aún más, ya que cuando toda la luz que incide en la superficie del objeto es absorbida, la transmitancia es del 0% y la absorción es del 100% (Diferenciario, 2011).

Transmitancia

La transmitancia es la proporción de luz que pasa a través de la superficie del objeto, cuando se denota en porcentaje con respecto a la intensidad total de la luz, entonces se llama transmitancia porcentual. En realidad, la transmitancia es la relación entre la intensidad de la luz transmitida "I" y la intensidad de la luz incidente "I*". A diferencia de la absorbancia, la transmitancia también se puede medir con un equipo normal (Diferenciario, 2011).

En la Tabla 2.14 se presenta la comparación entre Absorbancia y Transmitancia.

Tabla 2.14. Cuadro Comparativo

	Absorbancia	Transmitancia
Definición	La absorbancia es la capacidad de la sustancia para absorber una luz que incide sobre su superficie	La transmitancia es la proporción de luz que atraviesa la superficie del objeto.
Correlación	Cuando se absorbe toda la luz que incide en la superficie del objeto, la transmitancia es del 0% y la absorción es del 100%.	Si toda la luz que incide en la superficie de un objeto atraviesa el objeto, la transmitancia es del 100% y la absorción será del 0%.
Valor	Menos	Más
Medición	La absorción es un valor menor y requiere láser y otras tecnologías	La transmitancia se puede medir fácilmente

similares para la medición.	utilizando el equipo físico.
--------------------------------	---------------------------------

Fuente: (Diferenciario, 2011)

Se obtuvieron los siguientes resultados para cada una de las seis (6) muestras analizadas.

Muestra Original

En la Fig. 2.9 la muestra original y en las Figs. 2.10, 2.11, 2.12 y 2.13 los espectros de la absorbancia y transmitancia, respectivamente.

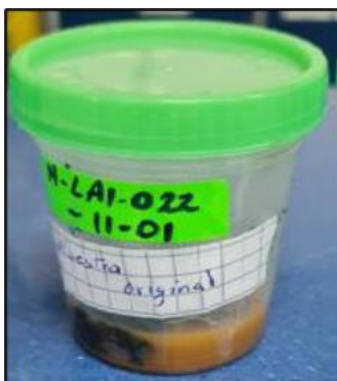


Figura 2.9. Muestra original

Elaborado por: (Morán, 2022)

- Espectro en Absorbancia

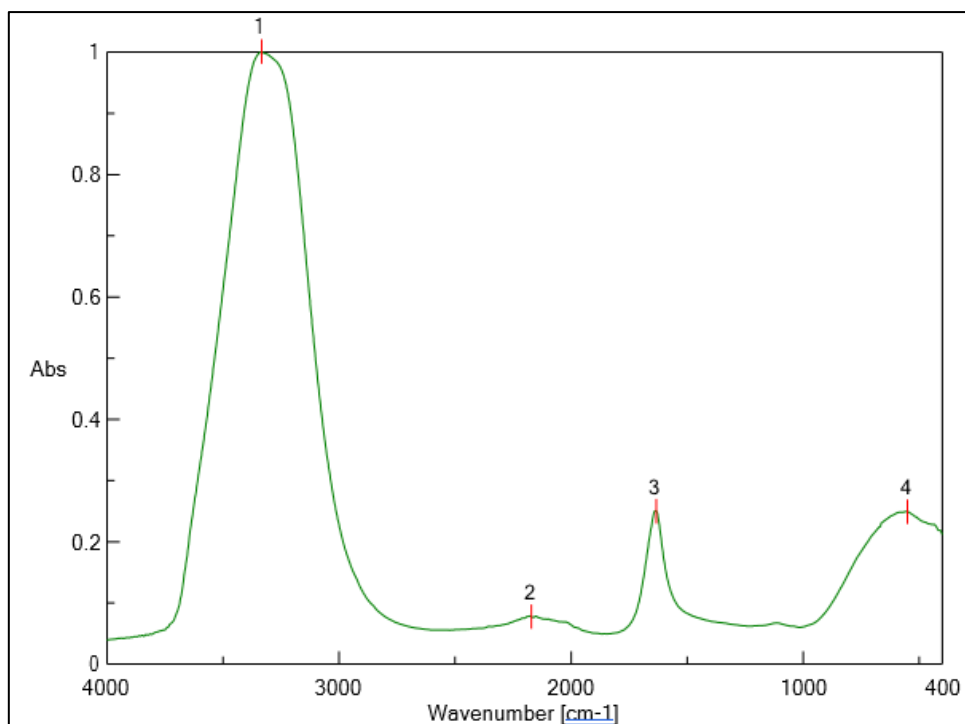


Figura 2.10. Espectro en absorbancia de la muestra original (Parte amarilla)

Elaborado por: (Morán, 2022)

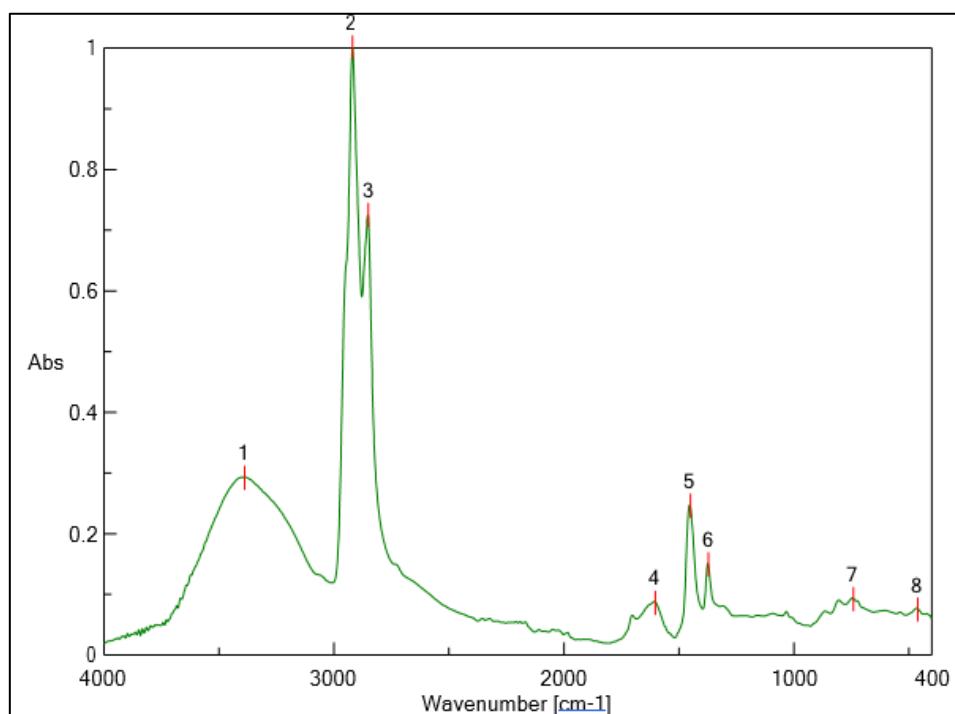


Figura 2.11. Espectro en absorbancia de la muestra original (Parte negra)

Elaborado por: (Morán, 2022)

- Espectro en Transmitancia

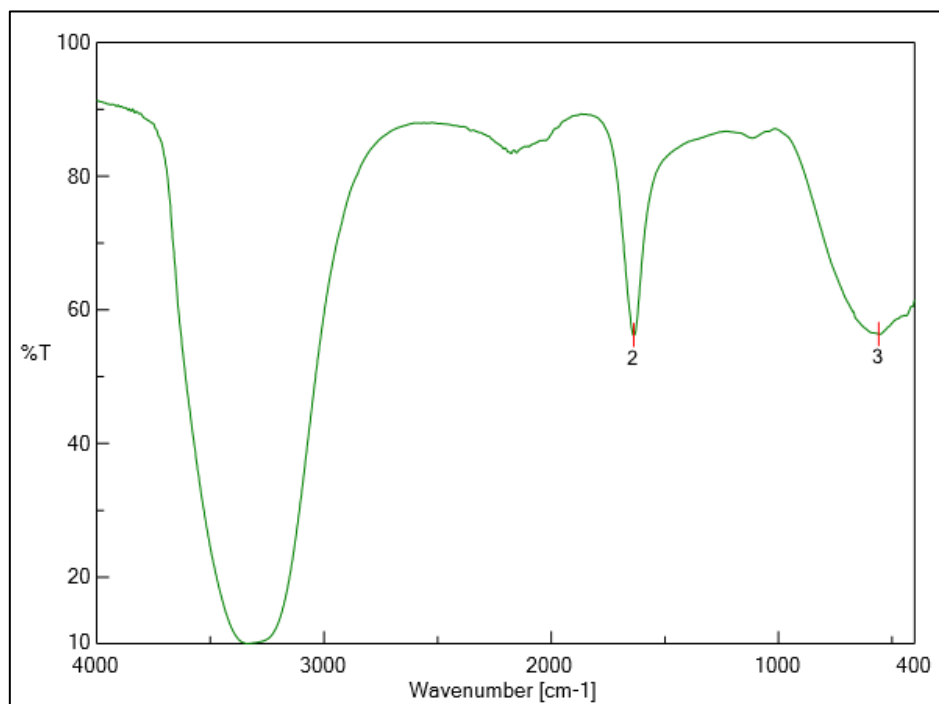


Figura 2.12. Espectro en transmitancia de la muestra original (Parte amarilla)

Elaborado por: (Morán, 2022)

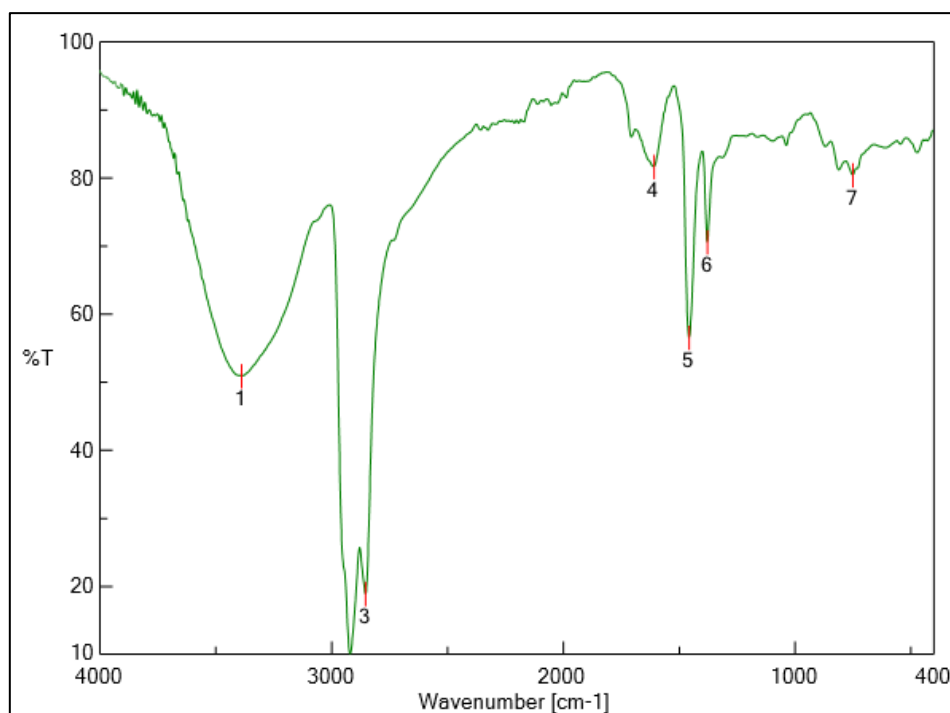


Figura 2.13. Espectro en transmitancia de la muestra original (Parte negra)

Elaborado por: (Morán, 2022)

Muestra Resultado

En la Fig. 2.14 la muestra resultado y en las Figs. 2.15, 2.16, 2.17 y 2.18 los espectros de la absorbancia y transmitancia, respectivamente.



Figura 2.14. Muestra Resultado

Elaborado por: (Morán, 2022)

- Espectro en Absorbancia

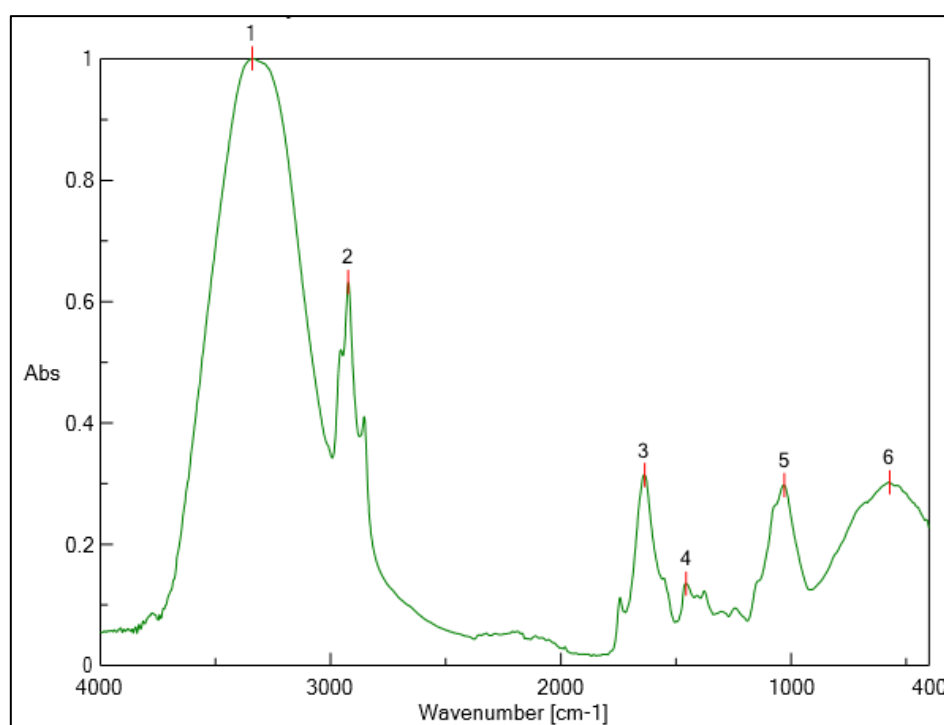


Figura 2.15. Espectro en absorbancia de la muestra resultado (Parte blanca)

Elaborado por: (Morán, 2022)

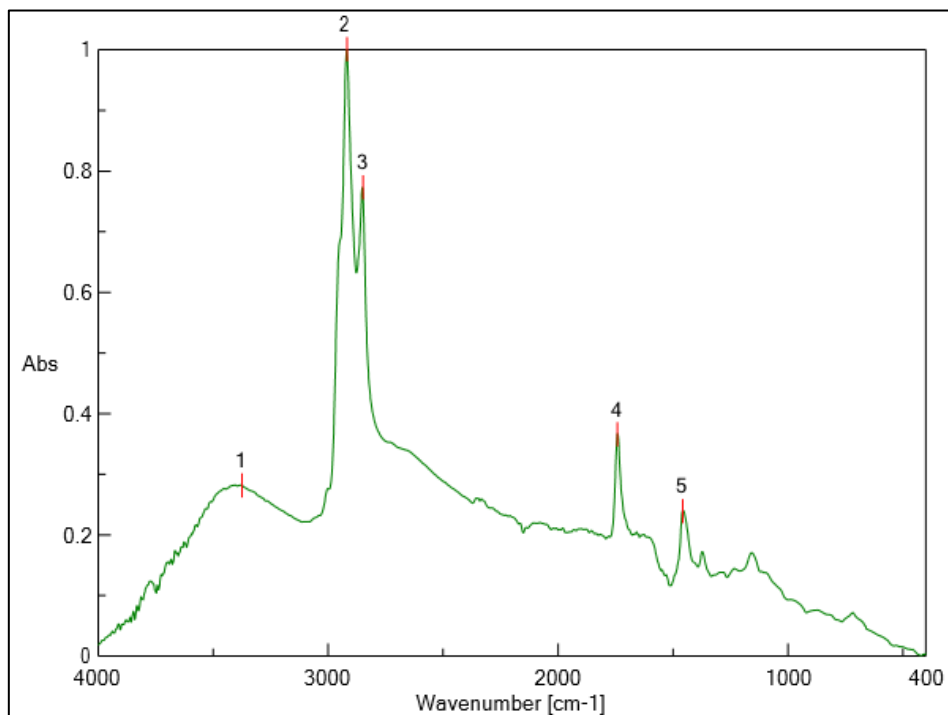


Figura 2.16. Espectro en absorbancia de la muestra resultado (Parte interna)

Elaborado por: (Morán, 2022)

- Espectro en Transmitancia

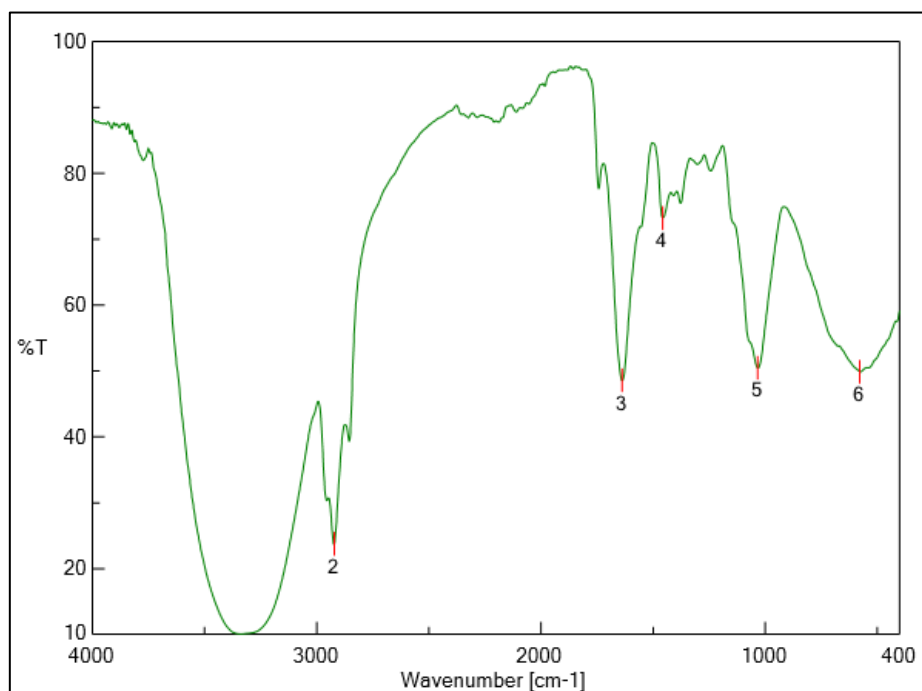


Figura 2.17. Espectro en transmitancia de la muestra resultado (Parte blanca)

Elaborado por: (Morán, 2022)

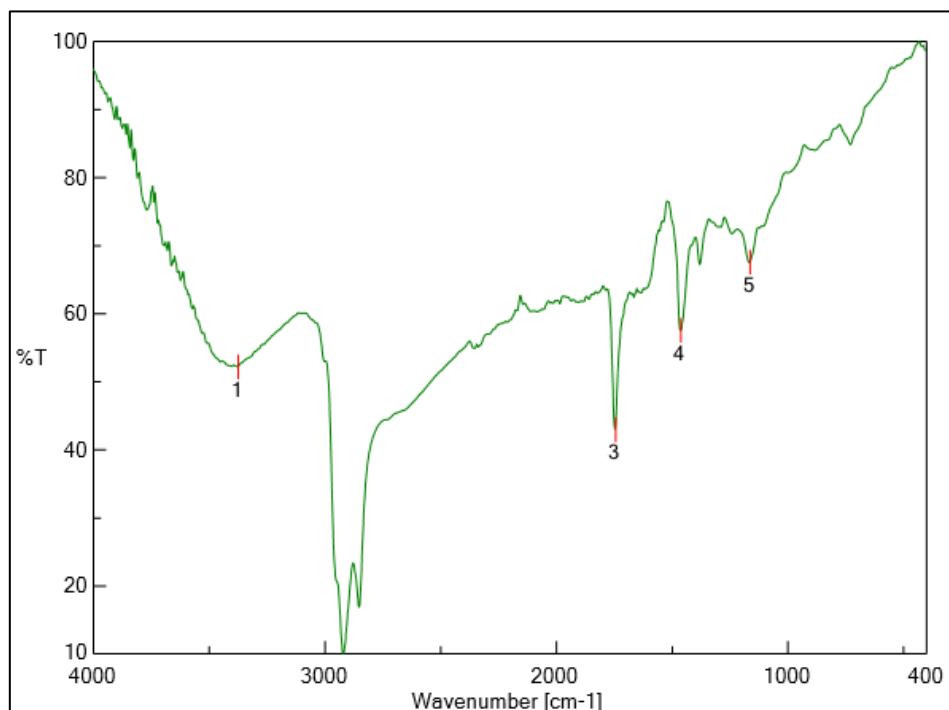


Figura 2.18. Espectro en transmitancia de la muestra resultado (Parte interna)

Elaborado por: (Morán, 2022)

Muestra en Proceso aerobio Bioelectroquímico

En la Fig. 2.19 la muestra en proceso aerobio bioelectroquímico y en las Figs. 2.20 y 2.21 los espectros de la absorbancia y transmitancia, respectivamente.



Figura 2.19. Muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico

Elaborado por: (Morán, 2022)

- Espectro en Absorbancia

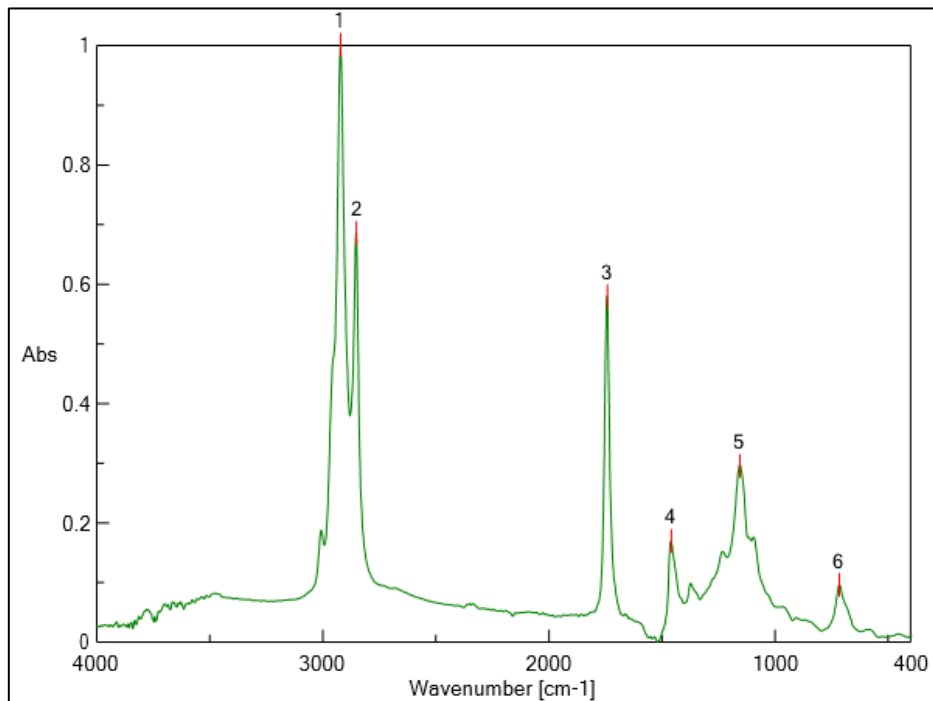


Figura 2.20. Espectro en absorbancia de la muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico

Elaborado por: (Morán, 2022)

- Espectro en Transmitancia

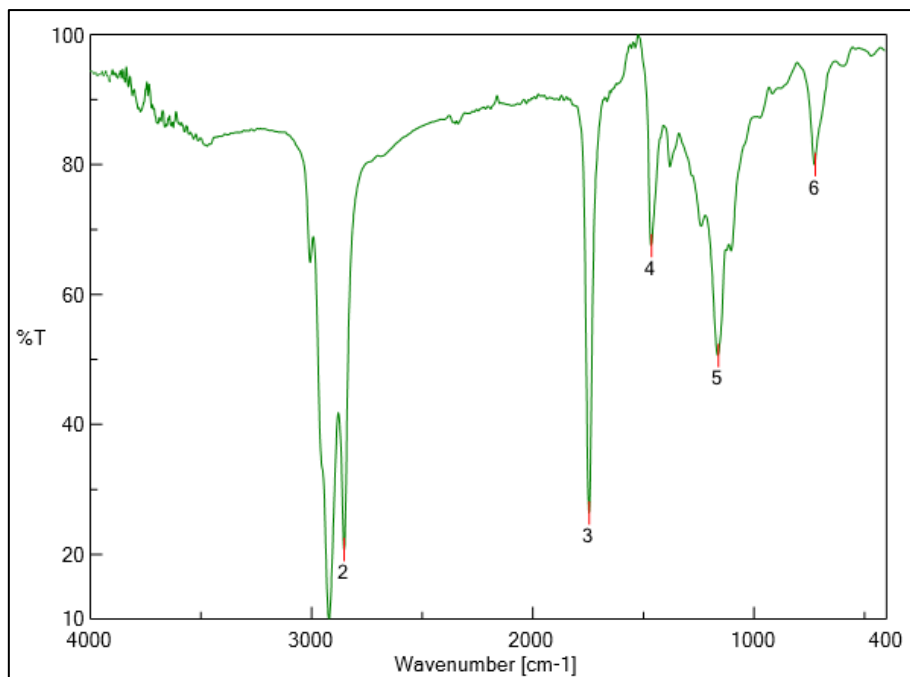


Figura 2.21. Espectro en transmitancia de la muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico

Elaborado por: (Morán, 2022)

Los Informes de los análisis correspondientes de las referidas figuras se encuentran en el Anexo IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Cálculo del porcentaje de petróleo en emulsión con surfactante Tween 20

Se calculó el porcentaje de petróleo en cada ensayo, con el fin de verificar la prueba óptima que permita obtener el 1% de petróleo en la mezcla.

Se usaron los siguientes datos:

- Masa Tween a 90 ml: 99,9 gr
- Masa Tween a 120 ml: 133,2 gr
- Masa del aceite vegetal a un volumen de 720 ml: 660.96 gr
- Masa del crudo con Tween 20 a 90 ml: 35,7 gr
- Masa del crudo con Tween 20 a 120 ml: 33,4 gr

3.1.1. Para Tween 20 a 90 ml:

Se procedió a medir el peso de agua en gramos (ver Tabla 3.1) de diferentes cantidades de agua tomadas en mililitros para adecuar el proceso del cálculo del porcentaje de petróleo.

Las cantidades del agua son tomadas a diferentes medidas con el fin de establecer un patrón en el cálculo y tener mejores resultados.

Tabla 3.1. Cantidades de agua

Agua (ml)	Agua (gr)
250	241,2
275	265,8
300	290,6
325	315,1

Elaborado por: (Morán, 2022)

De igual manera se midió el peso de la mezcla del surfactante (ver Tabla 3.2) obtenido en las mezclas de las emulsiones para agilizar el cálculo.

Las cantidades de la mezcla del surfactante son tomadas a diferentes medidas con el fin de establecer un patrón en el cálculo y tener mejores resultados.

Tabla 3.2. Cantidades de la mezcla del surfactante

Mezcla Surfactante (ml)	Mezcla Surfactante (gr)
100	93,1
75	70,3
50	49,2
25	25,5

Elaborado por: (Morán, 2022)

Cálculo del porcentaje de los diferentes componentes de la mezcla:

- $$\% Tween a 90 ml = \frac{Masa Tween}{Masa Tween + Masa aceite + Masa crudo} \times 100$$

$$\% Tween a 90 ml = \frac{99.9}{99.9 + 660.96 + 35.7} \times 100$$

$$\% Tween a 90 ml = 12,541$$

- $$\% Aceite Vegetal = 82,976$$

- $$\% Crudo = 4,481$$

Los porcentajes de crudo se presentan en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Cálculos del porcentaje de petróleo en las mezclas con surfactante a Tween 20 de 90 ml

Agua (gr)	Mezcla Surfactante (gr)	Tween 20 (gr)	Aceite Vegetal (gr)	Crudo (gr)	% Crudo
241,2	93,1	11,676	77,251	4,172	1,248
265,8	70,3	8,816	58,332	3,150	0,937
290,6	49,2	6,170	40,824	2,205	0,648
315,1	25,5	3,198	21,159	1,142	0,335

Elaborado por: (Morán, 2022)

3.1.2. Para Tween 20 a 120 ml:

Cálculo del porcentaje de los diferentes componentes de la mezcla:

$$\bullet \quad \% \text{ Tween a } 120 \text{ ml} = \frac{\text{Masa Tween}}{\text{Masa Tween} + \text{Masa aceite} + \text{Masa crudo}} \times 100$$

$$\% \text{ Tween a } 120 \text{ ml} = \frac{133.2}{133.2 + 660.96 + 35.7} \times 100$$

$$\% \text{ Tween a } 120 \text{ ml} = 16,095$$

- $\% \text{ Aceite Vegetal} = 79,868$
- $\% \text{ Crudo} = 4,035$

Los porcentajes de crudo se presentan en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4. Cálculos del porcentaje de petróleo en las mezclas con surfactante a Tween 20 de 120 ml

Agua (gr)	Mezcla Surfactante (gr)	Tween 20 (gr)	Aceite Vegetal (gr)	Crudo (gr)	% Crudo
241,2	93,1	14,984	74,357	3,757	1,123
265,8	70,3	8,816	58,332	3,150	0,937
290,6	49,2	6,170	40,824	2,205	0,648
315,1	25,5	3,198	21,159	1,142	0,335

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se observa que conforme el peso del agua incrementa el porcentaje de crudo disminuye; es decir la cantidad de agua usada en los ensayos van a tener una relación de proporción inversa ante el porcentaje de petróleo; ver Fig. 3.1.

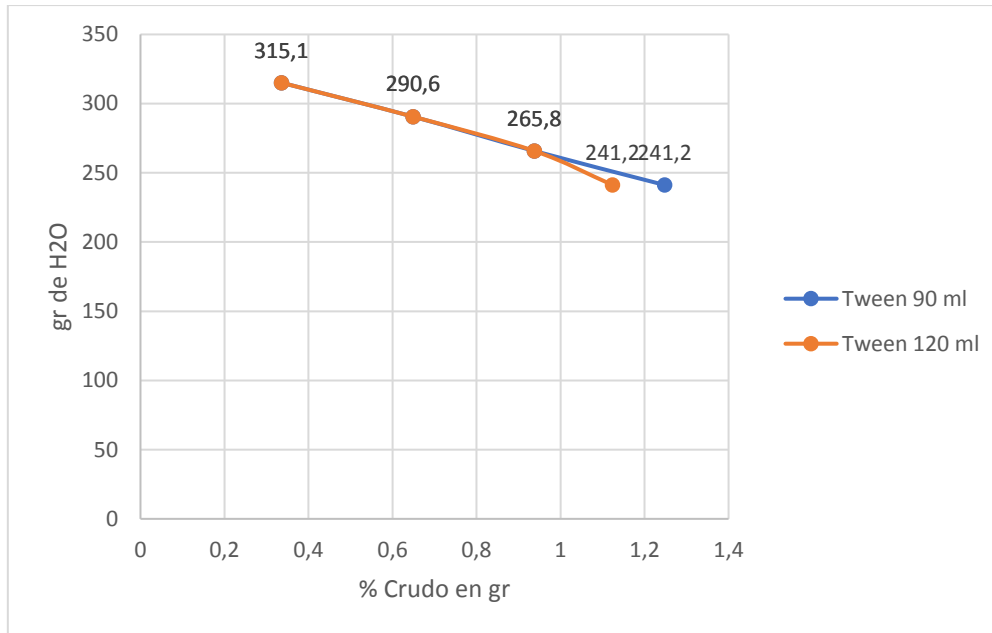


Figura 3.1. Porcentaje de crudo en el agua

Elaborado por: (Morán, 2022)

Además, se observa que a medida que la mezcla surfactante tiene más masa el porcentaje de crudo aumenta; es decir la masa de la mezcla surfactante y la del crudo son directamente proporcionales. Ver Fig. 3.2.

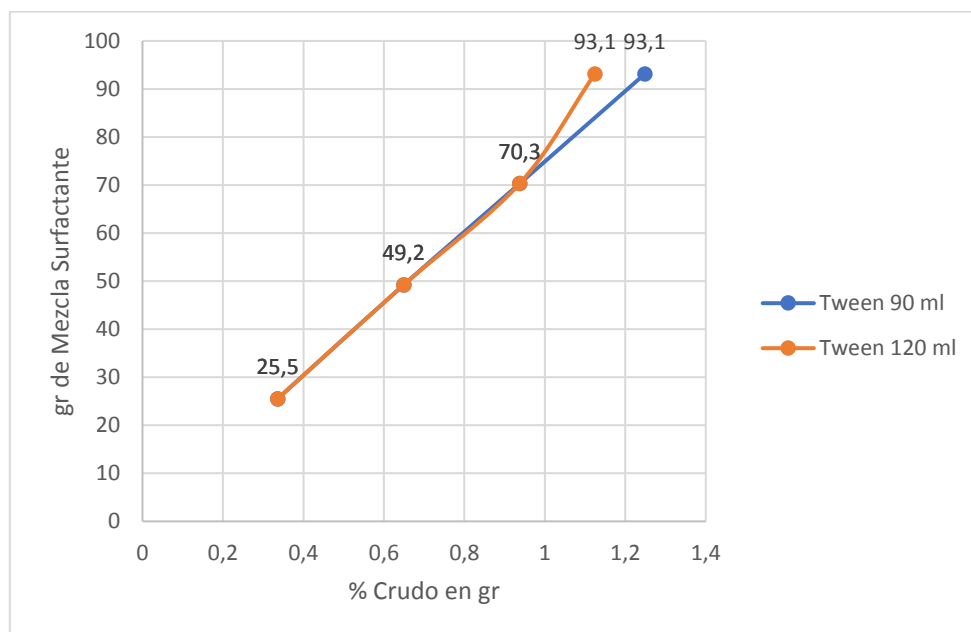


Figura 3.2. Porcentaje de crudo en la mezcla con surfactante

Elaborado por: (Morán, 2022)

3.2. Funcionamiento del Sistema Bioelectroquímico

3.2.1. Datos recolectados del sistema bioelectroquímico

Los datos se obtuvieron con el objetivo de analizar el desempeño del sistema bioelectroquímico a través del tiempo y en diferentes condiciones. Los resultados se basan en la toma de datos cada 5 días durante las 9 semanas que se llevó a cabo el funcionamiento del sistema bioelectroquímico (bioelectroremediación); ver Tablas 3.5 a 3.13 y Figs. 3.3 a 3.11.

Tabla 3.5. Datos de la Semana 1

SEMANA 1	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	5,19	24	34	1,2	38
	2	4,18	24	35	2,2	12
	3	5,21	25	35	1,2	4
	4	4,67	25	35	1,2	3
	5	4,71	25	35	1,2	1

Elaborado por: (Morán, 2022)

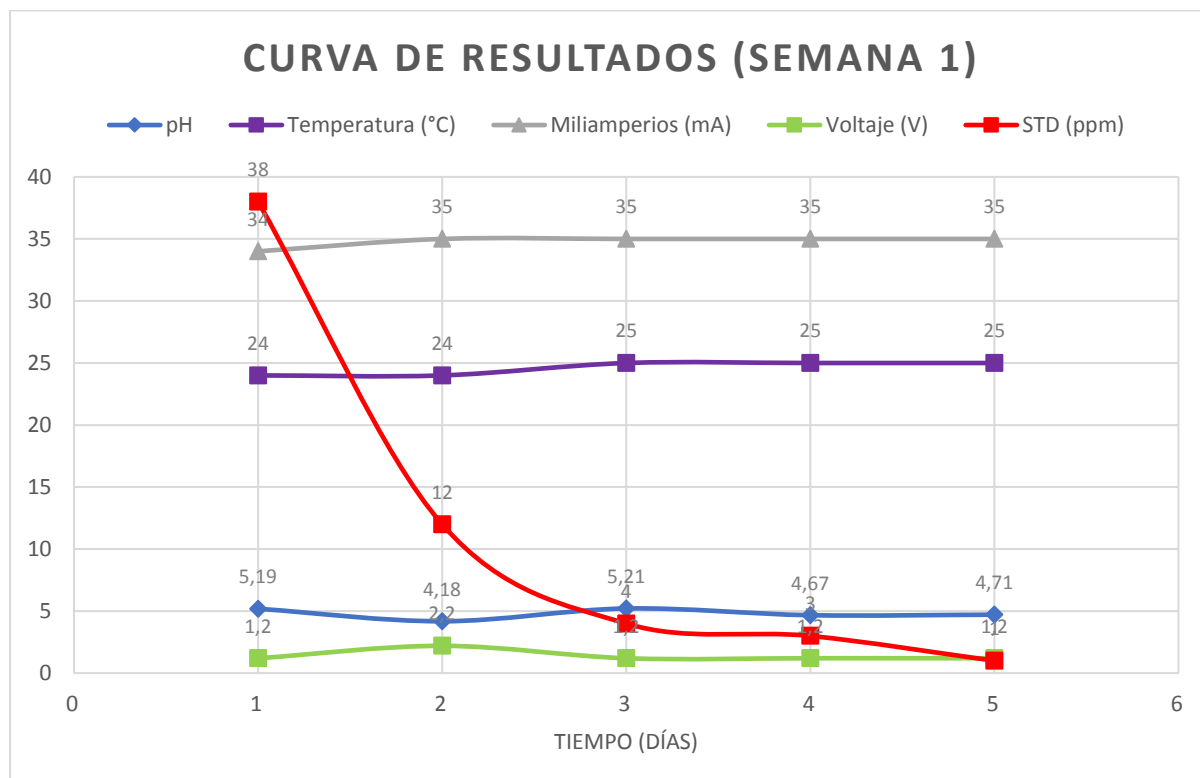


Figura 3.3. Curva de Resultados Semana 1

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.6. Datos de la Semana 2

SEMANA 2	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	4,66	21,6	35	1,6	54
	2	4,62	27	35	1,4	19
	3	4,32	20,7	34	1,5	9
	4	4,3	24	35	1,5	5
	5	4,29	25	35	1,5	2

Elaborador por: (Morán, 2022)

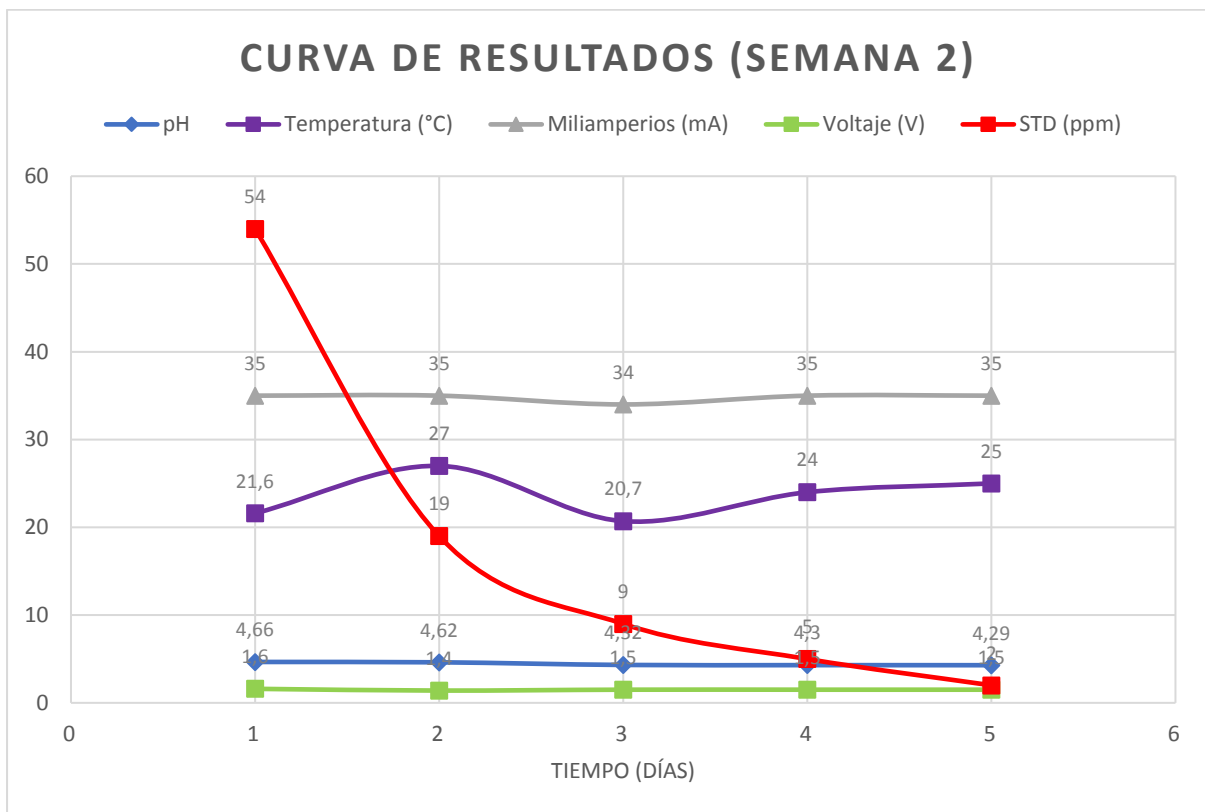


Figura 3.4. Curva de Resultados Semana 2

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.7. Datos de la Semana 3

SEMANA 3	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	4,52	21,6	35	2,1	34
	2	4,81	27	35	2	14
	3	4,7	24	34	2	8
	4	4,75	24	35	2	3
	5	4,78	25	35	2	1

Elaborado por: (Morán, 2022)

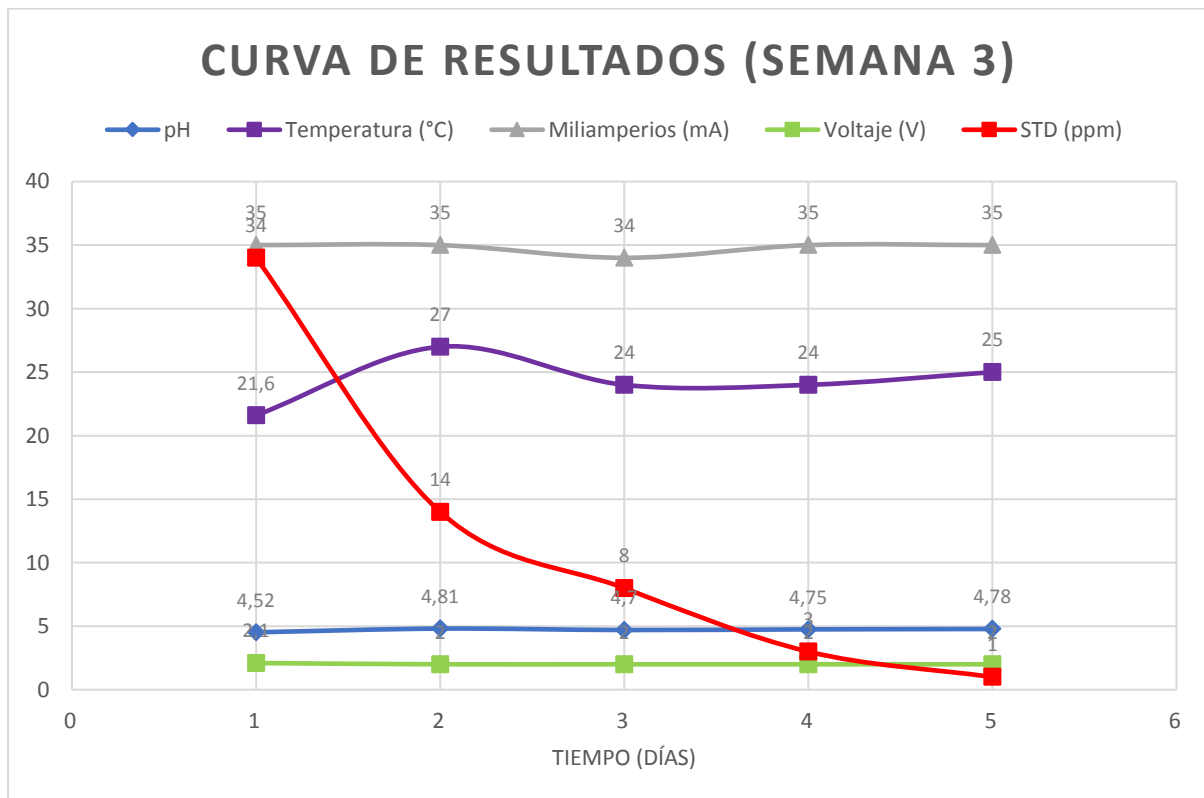


Figura 3.5. Curva de Resultados Semana 3

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.8. Datos de la semana 4

SEMANA 4	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	4,67	20	30	2,3	15
	2	4,72	20	30	2,3	8
	3	4,75	20,7	30	2,4	6
	4	4,69	21	30	2,4	2
	5	4,77	20	30	2,3	0

Elaborado por: (Morán, 2022)

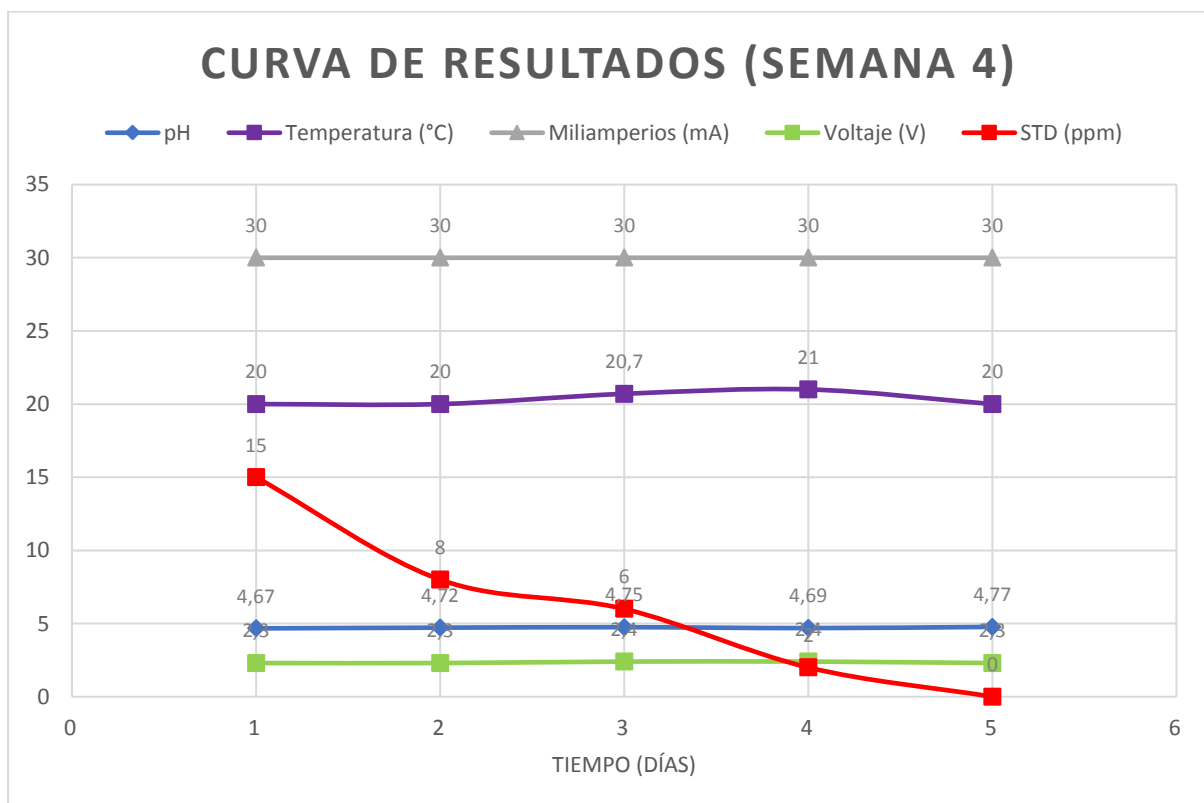


Figura 3.6. Curva de Resultados Semana 4

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.9. Datos de la Semana 5

SEMANA 5	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	4,85	18	30	2,4	23
	2	4,71	18	30	2,3	14
	3	4,64	17	30	2,4	8
	4	4,58	18	30	2,4	1
	5	4,55	18	30	2,4	0

Elaborado por: (Morán, 2022)

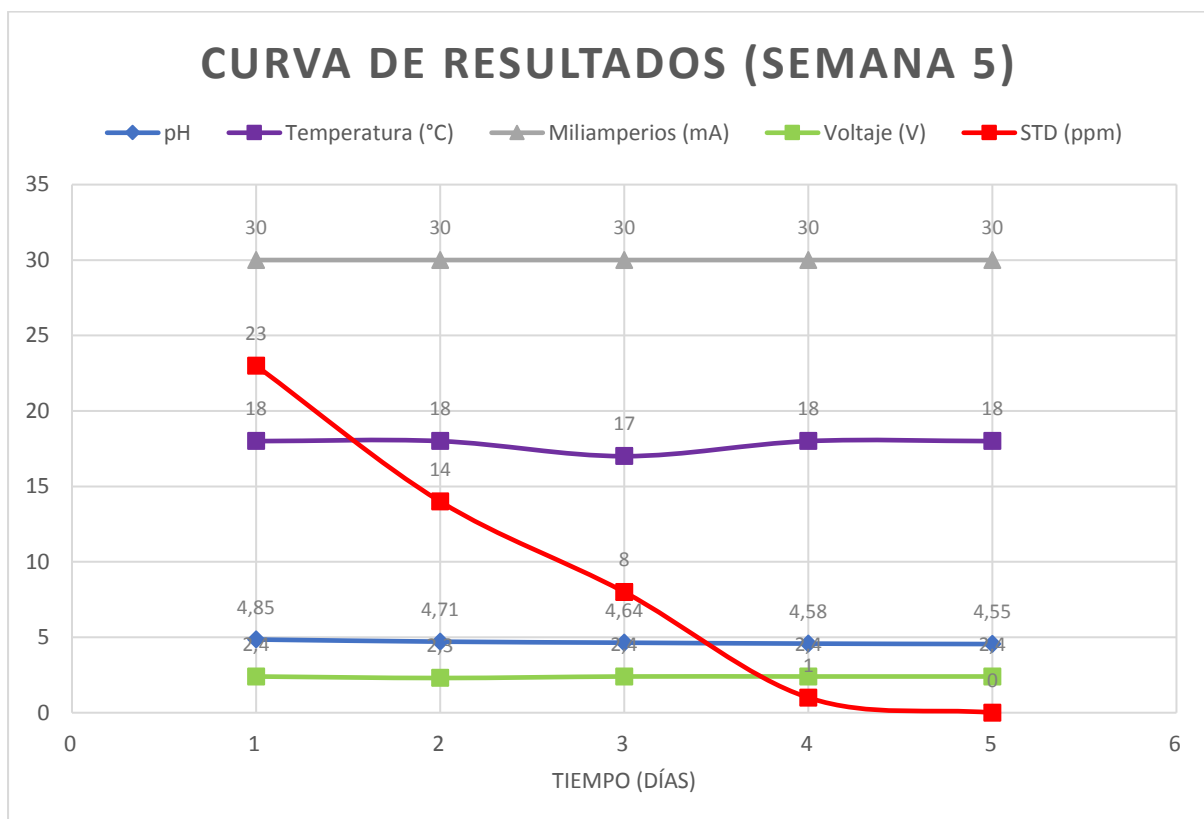


Figura 3.7. Curva de Resultados Semana 5

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.10. Datos de la Semana 6

SEMANA 6	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	4,87	18,5	40	2,4	11
	2	5,4	18,4	30	2,4	10
	3	5,9	18,5	30	2,4	5
	4	5,6	17,2	40	2,4	3
	5	5,5	17,8	30	2,4	0

Elaborado por: (Morán, 2022)

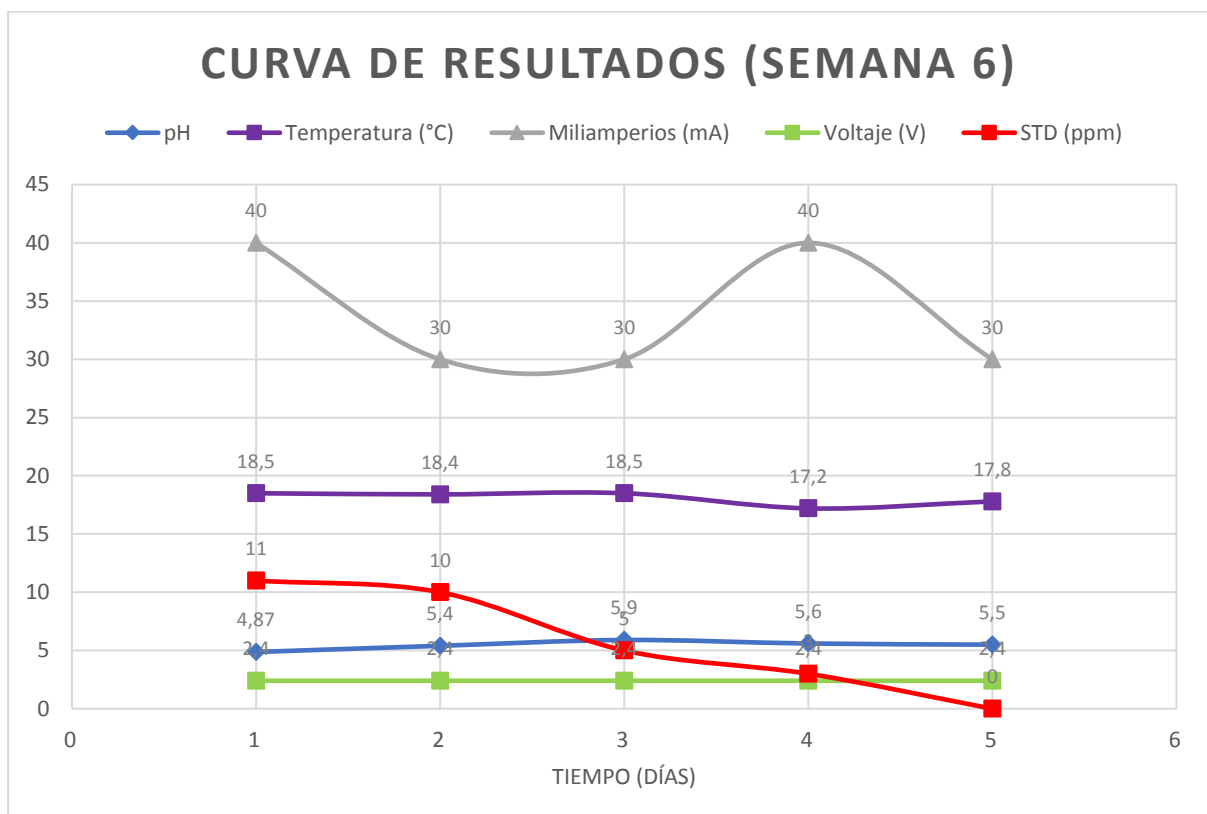


Figura 3.8. Curva de Resultados Semana 6

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.11. Datos de la Semana 7

SEMANA 7	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	5,4	17,2	30	2,4	9
	2	5,6	17,8	40	2,4	7
	3	5,68	17,5	40	2,4	3
	4	5,5	17,5	40	2,4	1
	5	5,6	17,3	30	2,4	0

Elaborado por: (Morán, 2022)

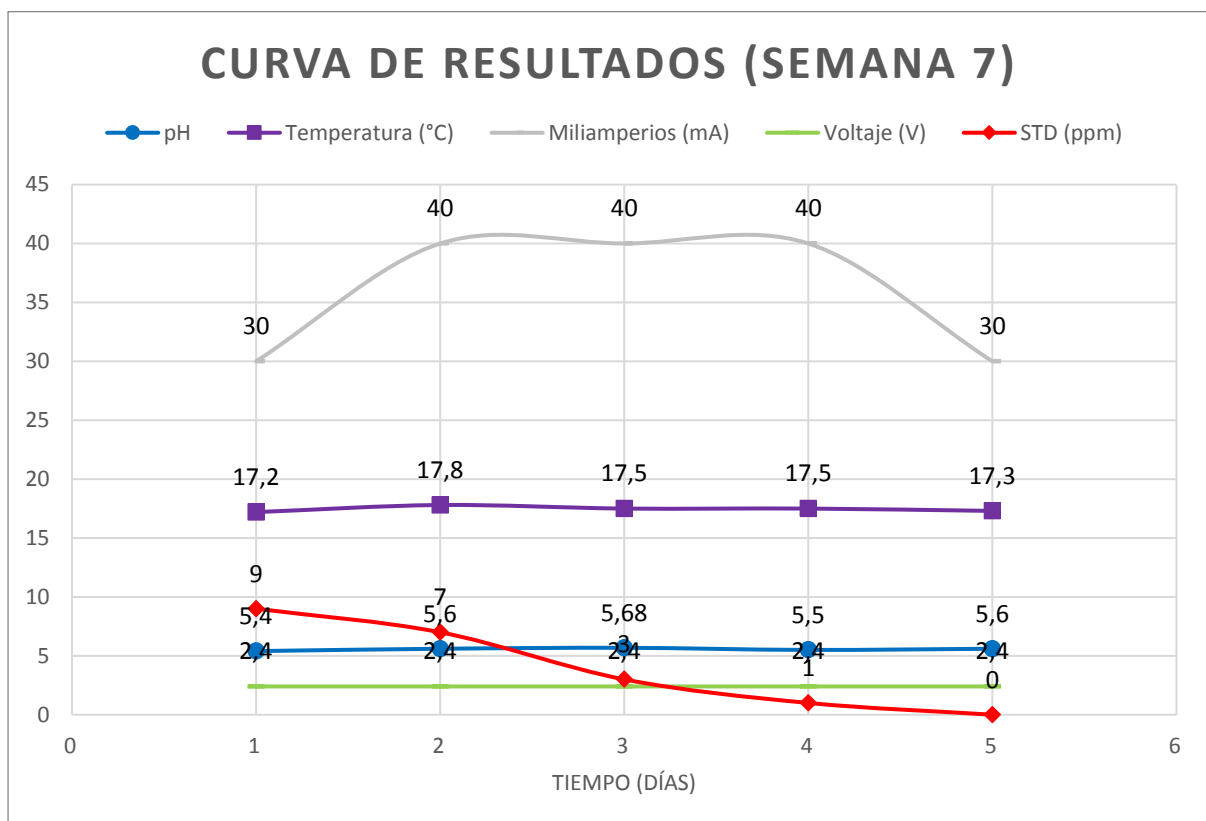


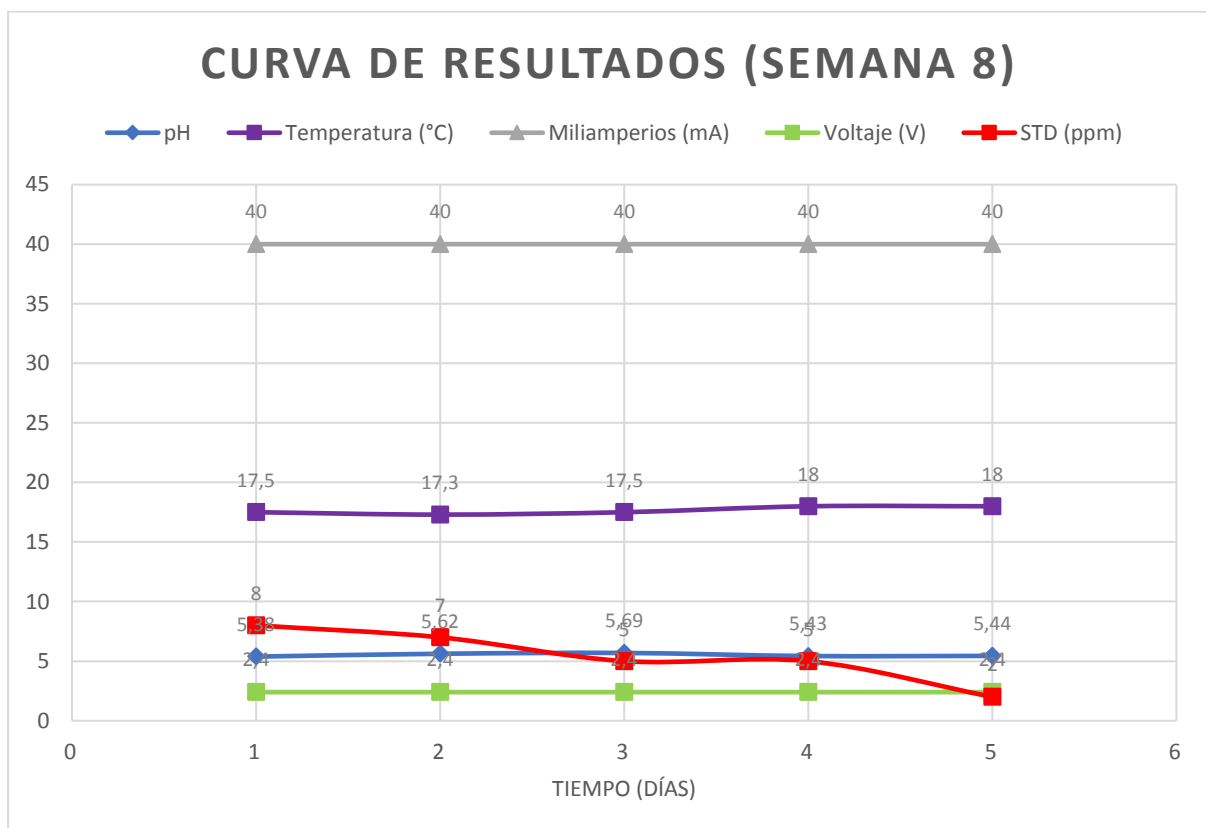
Figura 3.9. Curva de Resultados Semana 7

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.12. Datos de la Semana 8

SEMANA 8	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	5,38	17,5	40	2,4	8
	2	5,62	17,3	40	2,4	7
	3	5,69	17,5	40	2,4	5
	4	5,43	18	40	2,4	5
	5	5,44	18	40	2,4	2

Elaborado por: (Morán, 2022)

**Figura 3.10.** Curva de Resultados Semana 8

Elaborado por: (Morán, 2022)

Tabla 3.13. Datos de la Semana 9

SEMANA 9	Tiempo (días)	pH	Temperatura (°C)	Miliamperios (mA)	Voltaje (V)	Sólidos Totales disueltos (ppm)
	1	5,12	18	40	2,4	14
	2	5,33	18	40	2,4	9
	3	5,4	17,5	40	2,4	5
	4	5,45	17,4	40	2,4	2
	5	5,48	17,5	40	2,4	1

Elaborado por: (Morán, 2022)

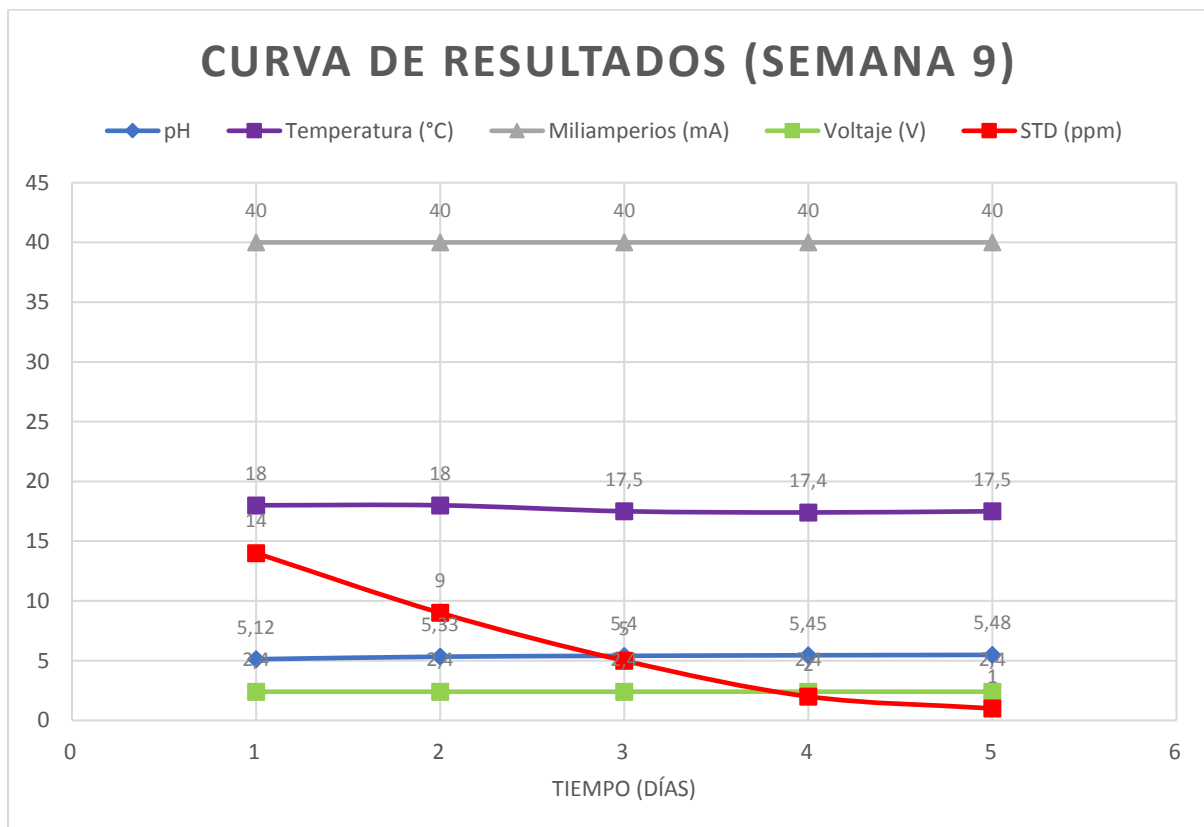


Figura 3.11. Curva de Resultados Semana 9

Elaborado por: (Morán, 2022)

3.2.2. Análisis de resultados

Análisis cuantitativo

Para este análisis se realizó el Prueba Anova de medidas repetidas, es un análisis estadístico que analiza grupos de variables dependientes relacionadas que representan diferentes mediciones del mismo atributo. Esta prueba proporciona análisis multivariantes para los datos de medidas repetidas. Se pueden contrastar tanto los modelos equilibrados como los no equilibrados.

La Prueba Anova usa una hipótesis nula y alternativa. La hipótesis nula es un enunciado que afirma que todas las medias de la población son iguales, y la hipótesis alternativa es la hipótesis de que no todas las medias son iguales (esto no implica que todas las medias sean desiguales, implica que al menos un par de medias es desigual).

Procedimiento del análisis estadístico:

- **Primera Prueba**

Se procedió a tomar los datos de los Sólidos totales disueltos (STD) de las pruebas realizadas en la celda bioelectroquímica en las semanas 1, 2, 3, 4, 5 y 7, ya que estas pruebas tuvieron resultados significantes durante el tiempo de la investigación. Ver Tabla 3.14 de los análisis estadísticos de los STD con la Prueba Anova.

Tabla 3.14. Análisis estadístico de los STD con la Prueba Anova

	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 7
	38	54	34	15	23	9
	12	19	14	8	14	7
	4	9	8	6	8	3

	3	5	3	2	1	1
	1	2	1	0	0	0
Sum =	58	89	60	31	46	20
Average =	11.6	17.8	12	6.2	9.2	4
$\sum_i X_{ij}^2 =$	1614	3387	1426	329	790	140
St. Dev. =	15.339	21.23	13.285	5.848	9.576	3.873
SS =	941.2	1802.8	706	136.8	366.8	60
n =	5	5	5	5	5	5

Elaborado por: (Morán, 2022)

El tamaño total de la muestra es $N = 30$. Por tanto, los grados totales de libertad son:

$$df_{total} = 30 - 1 = 29$$

Además, los grados de libertad entre grupos son $df_{between} = 6 - 1 = 5$, y los grados de libertad dentro de los grupos son:

$$df_{within} = df_{total} - df_{between} = 29 - 5 = 24$$

Primero, calcular la suma total de valores y la gran media. Se obtiene lo siguiente:

$$\sum_{ij} X_{ij} = 58 + 89 + 60 + 31 + 46 + 20 = 304$$

Además, la suma de los valores al cuadrado es:

$$\sum_{ij} X_{ij}^2 = 1614 + 3387 + 1426 + 329 + 790 + 140 = 7686$$

Según los cálculos anteriores, la suma total de cuadrados se calcula de la siguiente manera:

$$SS_{total} = \sum_{ij} X_{ij}^2 - \frac{1}{N} \left(\sum_{ij} X_{ij} \right)^2 = 7686 - \frac{304^2}{30} = 4605.467$$

La suma interna de cuadrados se calcula como se muestra en el cálculo a continuación:

$$\begin{aligned} SS_{within} &= \sum SS_{withingroups} = 941.2 + 1802.8 + 706 + 136.8 + 366.8 + 60 \\ &= 4013.6 \end{aligned}$$

La suma de cuadrados entre cuadrados se calcula directamente como se muestra en el cálculo a continuación:

$$SS_{between} = SS_{total} - SS_{within} = 4605.467 - 4013.6 = 591.867$$

Ahora que se calcula la suma de cuadrados, calcular la suma media de cuadrados:

$$\begin{aligned} MS_{between} &= \frac{df_{between}}{SS_{between}} = \frac{591.867}{5} = 118.373 \\ MS_{within} &= \frac{df_{within}}{SS_{within}} = \frac{4013.6}{24} = 167.233 \end{aligned}$$

Finalmente, habiendo calculado ya la suma media de cuadrados, el estadístico F se calcula de la siguiente manera:

$$F = \frac{MS_{within}}{MS_{between}} = \frac{118.373}{167.233} = 0.708$$

1) Hipótesis nulas y alternativas

Ho: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6$

Ha: No todos los medios son iguales

Las hipótesis anteriores se probarán utilizando una relación F para un ANOVA de medidas repetidas.

2) Región de rechazo

Según la información proporcionada, el nivel de significancia es $\alpha = 0.5$, y los grados de libertad son $df_1 = 5$ y $df_2 = 5$, por lo tanto, la región de rechazo para esta prueba F es $R = \{F: F > 0.895\}$.

3) Estadísticas de prueba

La estadística F se calcula de la siguiente manera:

$$F = \frac{MS_{within}}{MS_{between}} = \frac{118.373}{167.233} = 0.708$$

4) Decisión sobre la hipótesis nula

Dado que de la información de muestra obtenemos que $F = 0.708 \leq F_c = 0.895$, se concluye que la hipótesis nula es rechazada.

5) Conclusión

Se concluye que la hipótesis nula H_0 es rechazada. Por lo tanto, no hay suficiente evidencia para afirmar que no todas las medias de población de las seis (6) muestras son iguales, en el nivel de significancia $\alpha = 0.5$.

Esto significa que los Sólidos totales disueltos (STD) obtenidos en las pruebas semanales realizados en la celda bioelectroquímica presentan variaciones importantes; es decir presentan cambios a tomar en cuenta en la estructura interna de la matriz del caldo bacteriológico durante el proceso de la biorremediación.

- **Segunda Prueba**

Se procedió a tomar los datos del pH de las pruebas realizadas en la celda bioelectroquímica en las semanas 1, 2, 3, 4, 8 y 9, ya que estas pruebas tuvieron resultados significantes durante el tiempo de la investigación.

Tabla 3.15. Análisis estadístico del pH con la Prueba Anova

	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 8	Semana 9
	5.19	4.66	4.52	4.67	5.38	5.12
	4.18	4.62	4.81	4.72	5.62	5.33
	5.21	4.32	4.70	4.75	5.69	5.40
	4.67	4.30	4.75	4.69	5.43	5.45
	4.71	4.29	4.78	4.77	5.44	5.48
Sum =	23.96	22.19	23.56	23.6	27.56	26.78
Average =	4.792	4.438	4.712	4.72	5.512	5.356
$\sum_i X_{ij}^2 =$	115.5456	98.6165	111.0674	111.3988	151.9834	143.5162
St. Dev. =	0.427	0.185	0.115	0.041	0.135	0.144
SS =	0.729	0.137	0.053	0.007	0.073	0.083
n =	5	5	5	5	5	5

Elaborado por: (Morán, 2022)

El tamaño total de la muestra es $N = 30$. Por tanto, los grados totales de libertad son:

$$df_{total} = 30 - 1 = 29$$

Además, los grados de libertad entre grupos son $df_{between} = 6 - 1 = 5$, y los grados de libertad dentro de los grupos son:

$$df_{within} = df_{total} - df_{between} = 29 - 5 = 24$$

Primero, calcular la suma total de valores y la gran media. Se obtiene lo siguiente:

$$\sum_{ij} X_{ij} = 23.96 + 22.19 + 23.56 + 23.6 + 27.56 + 26.78 = 147.65$$

Además, la suma de los valores al cuadrado es:

$$\begin{aligned} \sum_{ij} X_{ij}^2 &= 15.5456 + 98.6165 + 111.0674 + 111.3988 + 151.9834 + 143.5162 \\ &= 732.1279 \end{aligned}$$

Según los cálculos anteriores, la suma total de cuadrados se calcula de la siguiente manera:

$$SS_{total} = \sum_{ij} X_{ij}^2 - \frac{1}{N} \left(\sum_{ij} X_{ij} \right)^2 = 732.1279 - \frac{147.652^2}{30} = 5.444$$

La suma interna de cuadrados se calcula como se muestra en el cálculo a continuación:

$$\begin{aligned} SS_{within} &= \sum SS_{withingroups} = 0.729 + 0.137 + 0.053 + 0.007 + 0.073 + 0.083 \\ &= 1.082 \end{aligned}$$

La suma de cuadrados entre cuadrados se calcula directamente como se muestra en el cálculo a continuación:

$$SS_{between} = SS_{total} - SS_{within} = 5.444 - 1.082 = 4.362$$

Ahora que se calcula la suma de cuadrados, calcular la suma media de cuadrados:

$$MS_{between} = \frac{df_{between}}{SS_{between}} = \frac{4.362}{5} = 0.872$$

$$MS_{within} = \frac{df_{within}}{SS_{within}} = \frac{1.082}{24} = 0.045$$

Finalmente, habiendo calculado ya la suma media de cuadrados, el estadístico F se calcula de la siguiente manera:

$$F = \frac{MS_{within}}{MS_{between}} = \frac{0.872}{0.045} = 19.35$$

1) Hipótesis nulas y alternativas

Ho: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6$

Ha: No todos los medios son iguales

Las hipótesis anteriores se probarán utilizando una relación F para un ANOVA de medidas repetidas.

2) Región de rechazo

Según la información proporcionada, el nivel de significancia es $\alpha = 0.1$, y los grados de libertad son $df_1 = 5$ y $df_2 = 5$, por lo tanto, la región de rechazo para esta prueba F es $R = \{F: F > 2.103\}$.

3) Estadísticas de prueba

La estadística F se calcula de la siguiente manera:

$$F = \frac{MS_{within}}{MS_{between}} = \frac{0.872}{0.045} = 19.35$$

4) Decisión sobre la hipótesis nula

Dado que de la información de muestra obtenemos que $F = 19.35 > F_c = 2.103$, se concluye que la hipótesis nula es rechazada.

5) Conclusión

Se concluye que la hipótesis nula H_0 es rechazada. Por lo tanto, no hay suficiente evidencia para afirmar que no todas las medias de población de las seis (6) muestras son iguales, en el nivel de significancia $\alpha = 0.1$.

Esto significa que el pH obtenido en las pruebas semanales realizados en la celda bioelectroquímica presentan variaciones importantes; es decir presentan cambios a tomar en cuenta en la estructura interna de la matriz del caldo bacteriológico durante el proceso de la biorremediación.

Análisis cualitativo

El proceso del sistema de bioelectroremediación se desarrolló en condiciones aerobias. De los resultados obtenidos del funcionamiento del sistema bioelectroquímico se observan aspectos relevantes:

- ✓ **Semana 1:** Los resultados se reflejan mejor en la curva de los sólidos totales disueltos (STD); ya que se observa como la curva declina exponencialmente hasta reducirse a 1. Esto indica que los sólidos están siendo biodegradados por la intensidad de corriente generada a través de los electrodos de grafito. Además, en la escala del pH indica que el caldo bacteriológico es moderadamente ácido ya que varía desde 4 a 5. La temperatura es relativamente alta debido a que el sistema se introdujo en un recipiente a baño María.
- ✓ **Semana 2:** Similar que en la semana 1, se observa una significancia en la curva del STD ya que declina exponencialmente conforme pasan los días; es

decir, se aprecia que los sólidos se biodegradan conforme pasa el tiempo. El pH indica que se tiene un caldo bacteriológico que tiende a ser moderadamente ácido. La temperatura tiende a aumentar ya que se trabajó con el sistema a baño María.

- ✓ **Semana 3:** Las curvas permanecen similares a las semanas 1 y 2. La temperatura sigue aumentando ya que se sigue trabajando en condiciones de baño María. El voltaje aumentó y se mantiene constante por el cambio de las condiciones del medio ambiente, así como también los miliamperios. El pH todavía se mantiene en la escala de ligeramente ácido y la curva STD se reduce exponencialmente respecto al tiempo.
- ✓ **Semana 4:** Las condiciones de la temperatura cambiaron, ya no se trabaja con el sistema a baño María; es decir, el sistema trabaja a condiciones ambientales (temperatura ambiente o de laboratorio). La curva del STD presenta una reducción al inicio del proceso, es decir los reactivos que se añadieron pueden ya no generar algún efecto o quizás el caldo bacteriológico es capaz de biodegradar mucho más rápido los sólidos debido a las nuevas condiciones. El voltaje aumentó, pero los miliamperios tuvieron una reducción, de esta manera se observa que el cambio de condiciones ambientales si afectan significativamente los resultados del sistema bioelectroquímico.
- ✓ **Semana 5:** Las curvas resultantes tienden a estabilizarse, es así, como la temperatura, los miliamperios y el voltaje permanecen constantes durante el transcurso de los días. La curva de los STD ahora se reduce hasta cero, esto es debido a que el sistema está trabajando a condiciones donde los sólidos son fáciles de biodegradar. El pH se mantiene moderadamente ácido.
- ✓ **Semana 6:** Se observa que el pH aumentó; es ligeramente ácido. Hubo una discordancia de miliamperios ya que no se estabilizaron en un solo valor como en la semana 5. Los STD otra vez se reducen a cero, es decir el sistema tiende a “comerse” los sólidos mucho más rápido.

- ✓ **Semana 7:** El pH se estabiliza arriba de 5, manteniendo su escala de ligeramente ácido. La curva de los STD es menos inclinada que en el de las anteriores semanas; se observa que los sólidos son fácilmente degradados por el sistema. El voltaje presenta una constancia a través de los días, pero los miliamperios siguen sin estabilizarse.

- ✓ **Semana 8:** Los resultados son más estables, el pH tiende a estabilizarse en el rango arriba de los 5; es decir, moderadamente ácido. Los STD presentan una pequeña variación ya que no se degradan completamente en el sistema, siendo esta ocasión la única vez que el sistema no pudo degradar todos los sólidos presentes.

- ✓ **Semana 9:** Las curvas resultantes tienden a presentar una trayectoria rectilínea. Los miliamperios y el voltaje se mantienen en un valor constante permitiendo que el sistema trabaje en condiciones más específicas. El pH poco a poco va aumentando, pero se mantiene en el rango que en las semanas anteriores. La curva de los STD presenta una inclinación lineal (no exponencial como en las primeras semanas); esto indica que el sistema bioelectroquímico tiende a estabilizarse conforme pasa el tiempo.

3.3. Tabla de Resultados del informe de Laboratorio de Análisis Instrumental

Los resultados obtenidos de los espectros analizados en el Departamento de Química para cada muestra fueron:

3.3.1. Muestra Original

Las Tablas 3.16 y 3.17 presentan valores de longitudes de onda y el nombre respectivo del grupo funcional al cual pertenecen, los cuales se obtuvieron durante el proceso del análisis espectral de absorbancia y transmitancia.

Tabla 3.16. Resultados muestra original (Parte amarilla)

Muestra original: Parte amarilla						
Long. onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm-1)	Modo de vibración	Intensidad
3316.96	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3600-3100	Estiramiento	Fuerte
1637.27	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	1640-1615	Flexión	Media

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se realizó en las siguientes condiciones de trabajo:

- Temperatura: 18.8 °C
- HR (Humedad relativa) Ambiente: 52.8 %

Tabla 3.17. Resultados muestra original (Parte negra)

Muestra original: Parte negra						
Long. onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm-1)	Modo de vibración	Intensidad
3388.32	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3600-3100	Estiramiento	Fuerte
2919.7	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte
2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte
1606.41	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	1640-1615	Flexión	Media
1454.06	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1485-1445	Deformación	Media
1375	C-H	CH ₃	Alcano	1385-1365	Deformación	Media
746.32	C-C	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	750-720	Vibración esquelética	Media

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se realizó en las siguientes condiciones de trabajo:

- Temperatura: 18.9 °C
- HR Ambiente: 52.6 %

3.3.2. Muestra Resultado

Las Tablas 3.18 y 3.19 presentan valores de longitudes de onda y el nombre respectivo del grupo funcional al cual pertenecen, los cuales se obtuvieron durante el proceso del análisis espectral de absorbancia y transmitancia.

Tabla 3.18. Resultados muestra resultado (Parte blanca)

Muestra Resultado: Parte blanca						
Long. onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm-1)	Modo de vibración	Intensidad
3338.18	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3500-3100	Estiramiento	Media
2923.56	C-H	R-CH2-R	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte
1637.27	N-H	NH2	Amina	1640-1560	Torsión simétrica	Media
1457.92	C-H	R-CH2-R	Alcano	1485-1445	Deformación	Media
1031.73	N-H	R-NH2	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media
574.68	N-H	NH2	Amina	900-650	Torsión asimétrica	Media

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se realizó en las siguientes condiciones de trabajo:

- Temperatura: 19.1 °C
- HR Ambiente: 51.9 %

Tabla 3.19. Resultados muestra resultado (Parte interna)

Muestra Resultado: Parte interna						
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm-1)	Modo de vibración	Intensidad
3378.67	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3600-3100	Estiramiento	Fuerte
2921.63	C-H	R-CH2-R	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte
2852.2	C-H	R-CH2-R	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte
1745.26	C-H	R-CH2-R	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media
1461.78	C-H	R-CH2-R	Alcano	1485-1445	Deformación	Media

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se realizó en las siguientes condiciones de trabajo:

- Temperatura: 19.1 °C

- HR Ambiente: 52 %

3.3.3. Muestra en Proceso aerobio Bioelectroquímico

La Tabla 3.20 presenta valores de longitudes de onda y el nombre respectivo del grupo funcional al cual pertenecen, los cuales se obtuvieron durante el proceso del análisis espectral de absorbancia y transmitancia.

Tabla 3.20. Resultados muestra en proceso aerobio bioelectroquímico

Muestra en Proceso aerobio Bioelectroquímico						
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad
2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte
2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte
1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media
1461.78	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	1485-1445	Deformación	Media
1159.01	N-H	R-NH ₂	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media
721.247	C-C	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	742-734	Vibración esquelética	Media

Elaborado por: (Morán, 2022)

Se realizó en las siguientes condiciones de trabajo:

- Temperatura: 19.2 °C
- HR Ambiente: 51.8 %

Los informes originales constan en el Anexo IV.

3.4. Comparación de resultados

Se procedió a elegir las muestras más relevantes de la investigación, para el cual se realizó la comparación de resultados mediante el uso de datos del análisis espectral de absorbancia y transmitancia que se obtuvieron del Departamento de Química; esto

con el fin de verificar los cambios que se obtuvieron durante el proceso de la bioelectrodegradación en el sistema bioelectroquímico y en las muestras generadas a lo largo de la investigación. La Tabla 3.21 muestra la comparación de resultados obtenidos.

Tabla 3.21. Comparación de resultados obtenidos (Muestra original parte negra y muestra final)

MUESTRA INICIAL				MUESTRA FINAL											
Muestra original (Parte Negra)				Muestra Resultado (Parte Interna)				Muestra en Proceso Aerobio Bioelectroquímico				Muestra en Proceso Aerobio No Bioelectroquímico			
Long. onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre (GF)	Long. onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre (GF)	Long. onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre (GF)	Long. onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre (GF)
3388.32	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3378.67	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno								
2919.7	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2921.63	C-H	R-CH ₂ -R	Alcano	2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano
2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2852.2	C-H	R-CH ₂ -R	Alcano	2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano
				1745.26	C-H	R-CH ₂ -R	Alcano	1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano
1606.41	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno												
1454.06	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1461.78	C-H	R-CH ₂ -R	Alcano	1461.78	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	1459.85	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano
1375	C-H	CH ₃	Alcano												
								1159.01	N-H	R-NH ₂	Amina	1159.01	N-H	R-NH ₂	Amina
746.32	C-C	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano					721.247	C-C	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	721.247	C-C	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano

Elaborado por: (Morán, 2022)

LEYENDA	
	Se mantienen Grupos funcionales
	Desaparecen Grupos funcionales
	Aparecen Grupos funcionales

Análisis de la tabla 3.21.

Se observan los siguientes resultados:

- El análisis espectral indica que la muestra resultado tiene los mismos grupos funcionales que la muestra original en su estructura interna al presentar medidas elevadas de longitudes de onda. Se observa que en longitudes de onda elevadas estos grupos se mantienen, pero al disminuir la medida del espectro, varios grupos funcionales de la muestra original desaparecen en la muestra resultado; es decir, se evidencia los cambios generados por la biodegradación del fluido contaminado con crudo en este proceso llevado a cabo en el laboratorio de análisis instrumental del Departamento de Química.
- Los resultados que se obtuvieron de las muestras en proceso aerobio bioelectroquímico como no bioelectroquímico presentan idénticos grupos funcionales en su estructura interna, esto se evidencia una vez realizado el proceso de biorremediación bajo diferentes condiciones para cada muestra a lo largo de esta investigación. Este resultado indica que los cambios generados en el sistema bioelectroquímico presentan mucha similitud con la muestra que no se encontraba en el sistema bioelectroquímico; es decir, a pesar de emplear mecanismos que aceleren la biorremediación como reactivos y suministros eléctricos (amperaje y voltaje) no han sido de mucha relevancia para mejorar el proceso de biorremediación bajo estos parámetros al comparar con la muestra que no se encontraba funcionando en el sistema bioelectroquímico y que ha tenido los mismos resultados en estos análisis realizados.

CONCLUSIONES

- El sistema bioelectroquímico es más eficaz a medida que transcurre el tiempo ya que los resultados tienden a estabilizarse durante el proceso de biodegradación y esto se da mientras las bacterias actúan a través del suministro de corriente eléctrica.
- Los grupos funcionales del petróleo cambian su estructura interna a través del tiempo durante el proceso de biodegradación debido a las condiciones presentes ya sea en un medio natural o de laboratorio.
- La identificación de microorganismos reflejó que existen dos géneros de bacterias que predominan en el sistema bioelectroquímico y las que están generando la biodegradación del petróleo y son los *Bacillus* y los *Cocos*.
- Los resultados obtenidos del funcionamiento del sistema bioelectroquímico resaltan lo complejo que es la biodegradación del petróleo a través del tiempo y a diferentes condiciones que se le impongan, de tal manera que los datos presentan cambios importantes durante todo el proceso de biodegradación.
- Los espectros de absorbancia y transmitancia permiten observar la composición de las muestras a través de longitudes de ondas bajo ciertas características, de esta manera se conocen los grupos funcionales del hidrocarburo que actúan en el sistema bioelectroquímico.
- Los resultados de los espectros de las muestras en proceso aerobio bioelectroquímico y no bioelectroquímico son idénticos a pesar de los diferentes parámetros que se usaron, demostrando que el proceso de biorremediación actúa de similar manera en un proceso controlado bajo ciertos parámetros al igual en aquellos que no lo son.
- La conversión eléctrica aerobia requiere ser evaluada a detalle y a futuro.

RECOMENDACIONES

- Realizar el proceso de biodegradación en un ambiente anaerobio y con los mismos parámetros usados en la metodología para comparar los resultados obtenidos en esta investigación que fueron de tipo aerobio.
- Realizar en el laboratorio la técnica de la triple estría cuando la muestra evidencie levaduras y la técnica de los 3 puntos cuando la muestra contenga hongos para una mejor apreciación morfológica de microorganismos.
- Analizar las bacterias obtenidas del cultivo con un microscopio de barrido para mejorar el detalle de análisis y obtener un mejor resultado en el estudio ya que en esta investigación no se realizó una identificación molecular de la bacteria obtenida.
- Preparar las emulsiones con ayuda de otros reactivos para que el caldo bacteriológico degrade al petróleo en mayor porcentaje y evidenciar otro tipo de resultados durante el proceso de biodegradación.
- Aumentar los tiempos de la toma de datos del funcionamiento del sistema bioelectroquímico para obtener resultados más acordes a la realidad de la situación actual de la industria petrolera y de diferentes tipos de industrias involucradas en la contaminación de aguas y suelos.
- Realizar un estudio estadístico para optimizar los datos que se obtienen con el fin de mejorar la precisión de los resultados y el análisis de biodegradación a diferentes condiciones de ambiente y laboratorio.
- Implementar un sistema que permita caracterizar el petróleo que se va a usar en el sistema de manera que identifique los diferentes tipos de grupos funcionales del petróleo que actúan dentro del caldo bacteriológico para tener un análisis más específico en el estudio.

- Investigar más a detalle las diferentes aplicaciones y estudios que aparecieron en este proyecto de investigación para generar futuros proyectos que aporten a la academia y a la industria tanto a nivel tecnológico como humanístico.

BIBLIOGRAFÍA

Abascal, P. (2 de junio de 2016). *UDAPT*. Obtenido de <http://texacotoxico.net/estudios-sobre-impactos-petroleros-la-situation-mortal-en-el-oriente-ecuatoriano/#:~:text=Los%20efectos%20locales%20de%20las,en%20bosques%2C%20r%C3%ADos%20y%20esteros>.

Aguilera, N. (2003). Exposición a la contaminación por actividad petrolera y estado de salud Yamanunka (Sucumbíos, Ecuador). *Facultad de Ciencias Ambientales*, 70-75.

Andrango, M. (2017). Construcción de una pila de combustible microbiana (PCM) con bacterias autóctonas para el tratamiento de aguas residuales y producción de energía eléctrica. Quito.

Arroyo, E., & Quesada, M. (2005). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. *Geocisa*, 298-299.

Atsdr. (1999). Hidrocarburos Totales de petróleo (TPH). *Agency for toxic substances and disease registry*, 1.

Becerra, S., Paichard, E., & Sturma, A. (2013). Vivir con la contaminación petrolera en el Ecuador: Percepciones sociales del riesgo sanitario y capacidad de respuesta. *Revista Líder*, 2-3.

Bravo, E. (2007). Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. *Acción ecológica*, 30-37.

Bush, L. (septiembre de 2020). *Introducción a las Bacterias*. Obtenido de <https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-introducci%C3%B3n/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias>

Caeme. (23 de noviembre de 2020). Virus y Bacterias: qué son y en qué se diferencian. Obtenido de <https://www.caeme.org.ar/virus-y-bacterias-que-son-y-en-que-se-diferencian/>

Chow, S. (s.f.). *Petroquímica y Sociedad*. Obtenido de <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/39/html/petroqui.html>

Carrillo, L. (2013). Manual de Microbiología General. *Microbiología General 1B*, 13.

Daghio, M., Aulenta, F., Vaipoulou, E., Franzetti, A., Arends, J., Sherry, A., Suárez, A., Head, I., Bestetti, G., & Rabaey, K. (2016). Electrobioremediation of oil spills. *Water Research*, 5-10.

Dheaaa, A., Abdul, H., & Palanlandy, P. (2017). Treatment of petroleum wastewater by conventional and new technologies a review. *Global Nest Journal*, 7-10.

- Diferenciario.** (2011). Diferencia entre Absorbancia y Transmitancia. Obtenido de <https://diferenciario.com/absorbancia-y-transmitancia/>
- Dubois.** (2000). Clasificación de los crudos de petróleo. Ejemplos de distribución de productos de refinería en función del tipo de crudo. *Refino Petroquímico*, 1.
- Graham, B.** (s.f.). *Bacteria*. Obtenido de National Human Genome Research Institute: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Bacteria>
- Gravedad API.** (s.f.). Obtenido de Schlumberger Oilfield Glossary: https://glossary.oilfield.slb.com/es/terms/a/api_gravity
- Ho, V.** (27 de noviembre de 2019). Qué son los parásitos. Obtenido de The Conversation: <https://theconversation.com/que-son-los-parasitos-y-que-enfermedades-nos-causan-127341>
- IIGE.** (2020). Informe cuenca oriente. Levantamiento geológico de Geositios del Geoparque Napo-Sumaco. Quito.
- Marítimo, I.** (2015). Qué son los microorganismos: clasificación, características y tipos. *Valparaíso*, 1-3.
- Ministerio de Ambiente.** (2015). Quinto informe Nacional para el convenio sobre la Diversidad Biológica. Quito
- Nandy, A., Radović, J. R., Novotnik, B., & Sharma, M.** (2020). Investigation of crude oil degradation using a microbial fuel cell using metal oxide-based anode. *Bioresource Technology Reports*, 2-5.
- News, M.** (4 de abril de 2015). ¿Cómo llegó el petróleo a dominar el mundo? Obtenido de https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/04/150331_iwonder_historia_petroleo_fin_de_dv
- Pérez, E.** (2008). Indicadores microbiológicos como marcadores de la contaminación y recuperación de suelos contaminados con queroseno. *Revista ecosistemas*, 12.
- [Petróleo].** (2008). Obtenido de Química es: <https://www.quimica.es/enciclopedia/Petr%C3%B3leo.html>
- Portillo, G.** (s.f.). Morfología de los Hongos. Obtenido de <https://www.renovablesverdes.com/morfologia-de-los-hongos/>
- Poveda, R., Merizalde, P., & Torres, E.** (2013). El petróleo en el Ecuador la nueva era petrolera. *EP Petroecuador*, 13-16.
- Prieto, P.** (2016). Los diferentes tipos de bacterias. Obtenido de Médico Plus: <https://medicoplus.com/medicina-general/tipos-de-bacterias>
- Rivadeneira, M., & Baby, P.** (2014). Características geológicas generales de los principales campos petroleros de Petroproducción. *Petroproducción*, 239-240.

San Sebastián, M., Tanguila, A., & Santi, S. (2000). Informe Yanacuri: impacto de la actividad petrolera en la salud de poblaciones rurales de la Amazonía ecuatoriana. *Cicame*, 14-15.

Slant. (2006). Preparación de Medios de Cultivo. *Prácticas de Laboratorio Microbiológico*, 1-5.

Steciow, M. (1991). Hongos Función Ambiental. Obtenido de <https://www.mendoza.conicet.gov.ar/portal/enciclopedia/terminos/HongosFunc.htm>

Trujillo, A., & Ramírez, J. (2012). Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 38-41.

Velásquez, I., & Pereira, J. (2014). Emulsiones de agua en crudo. Aspectos generales. *Revista Ingeniería UC*, 46.

Velásquez, J. A. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 153-156.

Viñas, M. (2005). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. *Departamento de Microbiología*, 11-16.

Vizuite, R., & Pascual, A. (2020). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a base de bacterias utilizadas como bioproductos. *Lasallista de Investigación*, 179.

Vyas, J. (4 de abril de 2021). Tinción de Gram. Obtenido de https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19955.htm

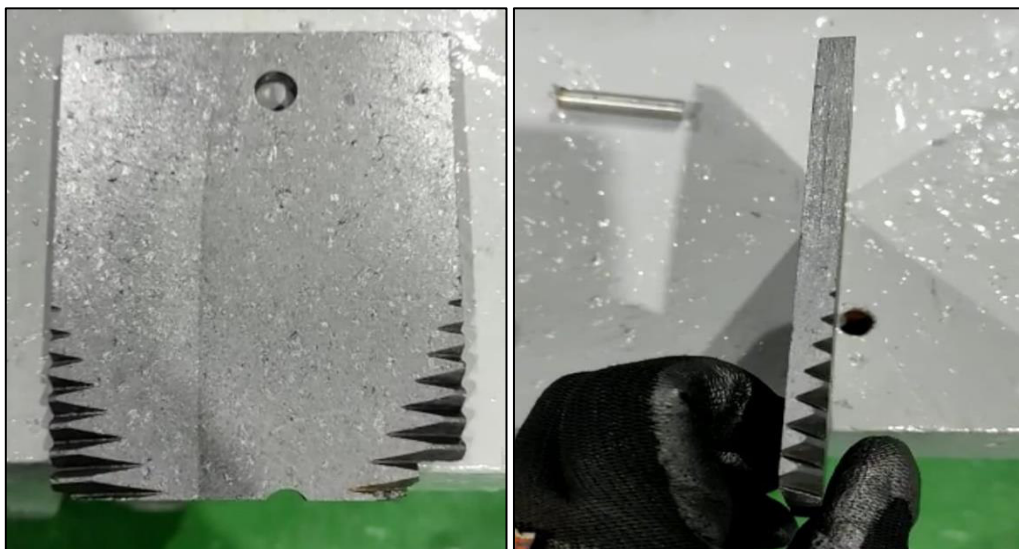
ANEXOS

ANEXO I

MATERIALES DEL SISTEMA BIOELECTROQUÍMICO



Generador de voltaje y amperaje Marca Baku BK-305D



Grafito



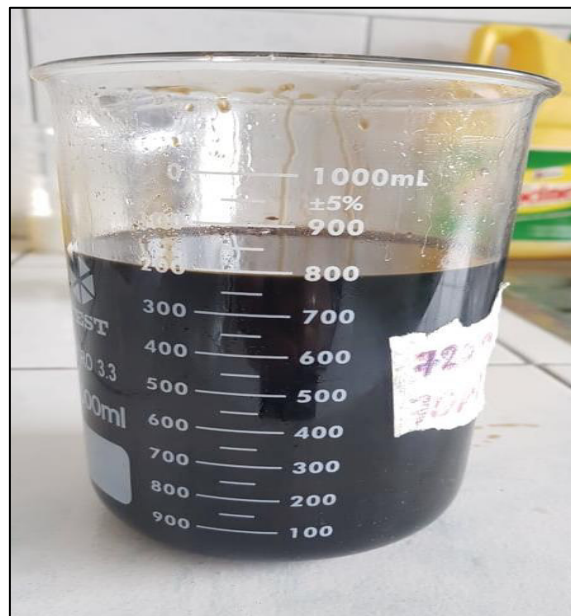
Sistema Bioelectroquímico

ANEXO II

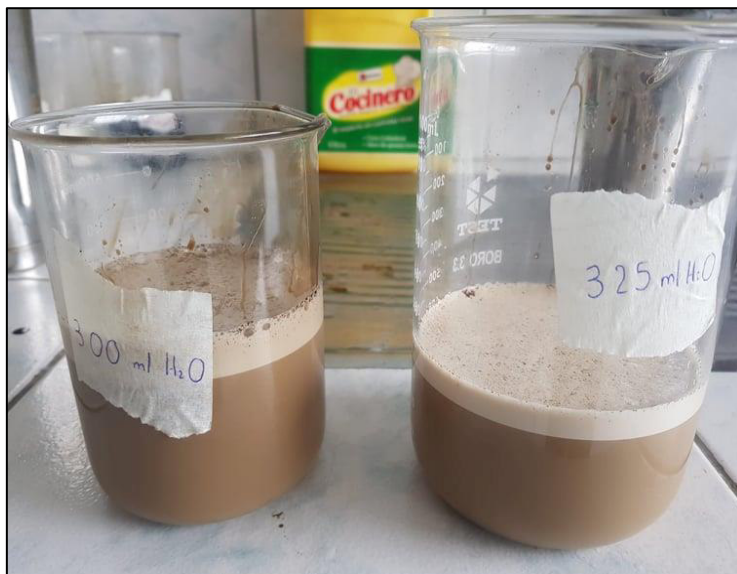
COMPONENTES DEL CALDO BACTERIOLÓGICO



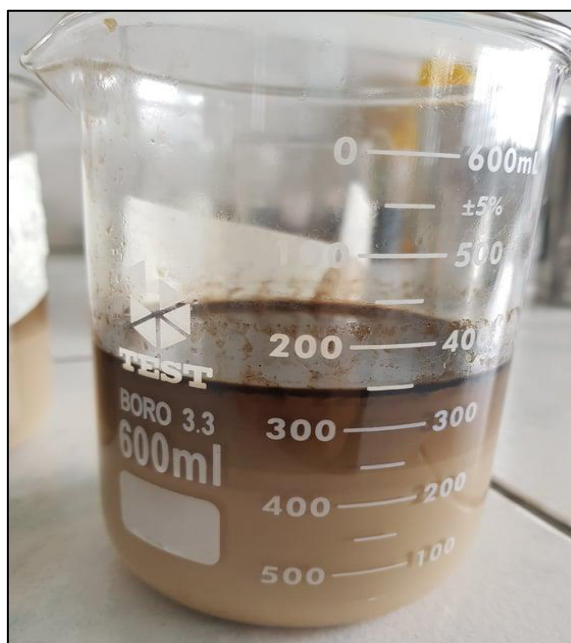
Aceite con Tween 20



Aceite con Tween 20 más petróleo



Mezcla surfactante (Aceite más Tween 20 y agua)



Mezcla surfactante (Aceite más Tween 20 más petróleo y agua)



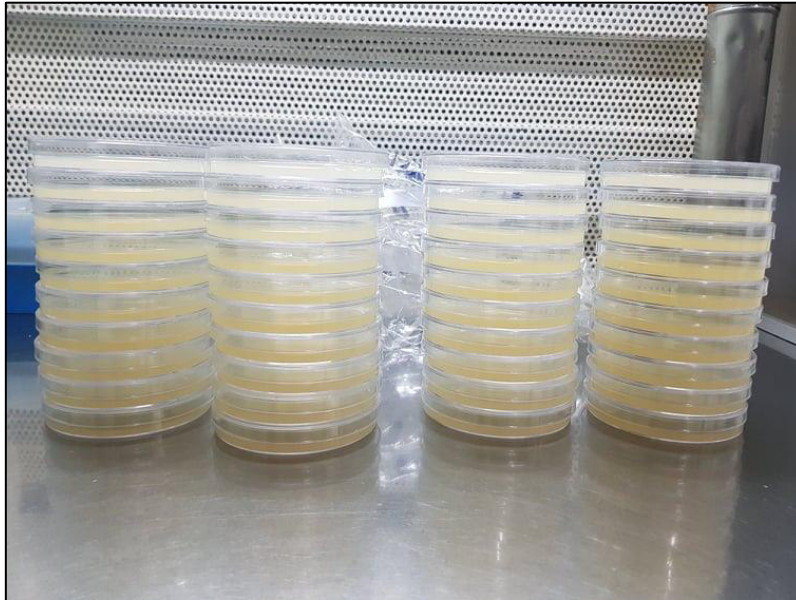
Bacterias



Caldo bacteriológico Resultante

ANEXO III

MATERIALES PARA EL MEDIO DE CULTIVO



Placas Petri con PDA



Cabina de Flujo Laminar



Microscopio Digital



Estufa



Cámara de Neubauer



Agitador de Tubos de ensayo



Muestras de siembras de bacterias en cajas Petri


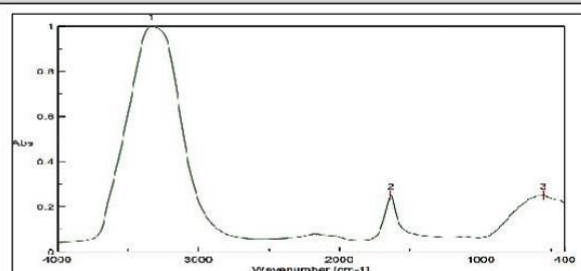
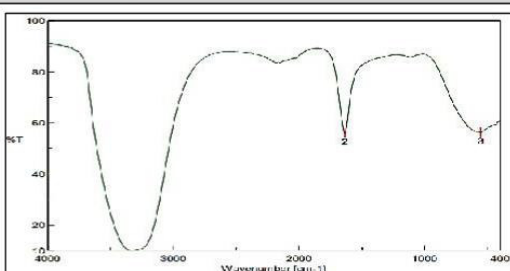

ANEXO IV INFORME DE RESULTADOS DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL

Informe de resultados de la muestra original (parte amarilla)

	INFORME DE RESULTADOS	Página:	1 de 12	
		FPT-7.8-07-05		

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022

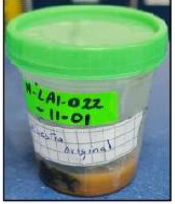
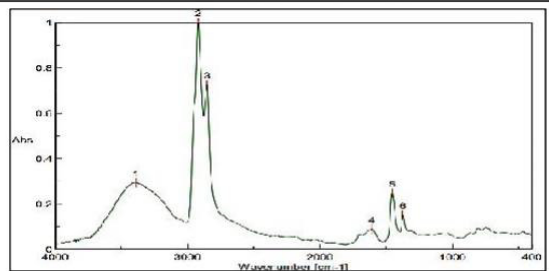
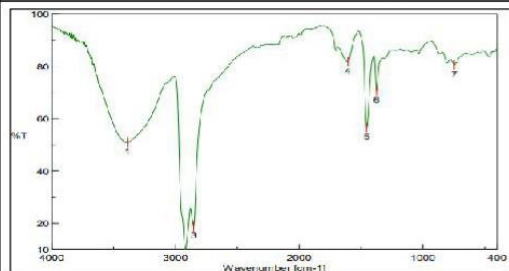

INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar		Persona de contacto:		Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334		E-mail:		pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARAMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-01		Fecha de muestreo:		* 04/06/2021		
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra Original		Norma de muestreo:		No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico		Fecha inicio del ensayo:		04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022		Fecha entrega informe:		15/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	18.8	°C	52.8	%	Norma de referencia: ASTM E 1252		
					Procedimiento interno: PE-7.2-04		
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
3316.96	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3600-3100	Estiramiento	Fuerte	
1637.27	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	1640-1615	Flexión	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS		<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 					
OBSERVACIONES		<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>Los espectros se encuentran en las páginas 1 y 2 del Anexo.</p> <p>El espectro corresponde a la parte amarilla de la muestra, a la cual el cliente ha llamado metabolito.</p>					
Elaborado por:		GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA Date: 2022.02.15 16:38:21 -05'00'</small>			Revisado por:		 <small>Firmado electrónicamente por:</small> ELIANA LIZETH PENA PONTON
Ing. Gabriela Pérez				Ing. Eliana Peña			
ANALISTA DE LABORATORIO				RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra original (parte negra)

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 2 de 12	
		FPT-7.8-07-05	

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022

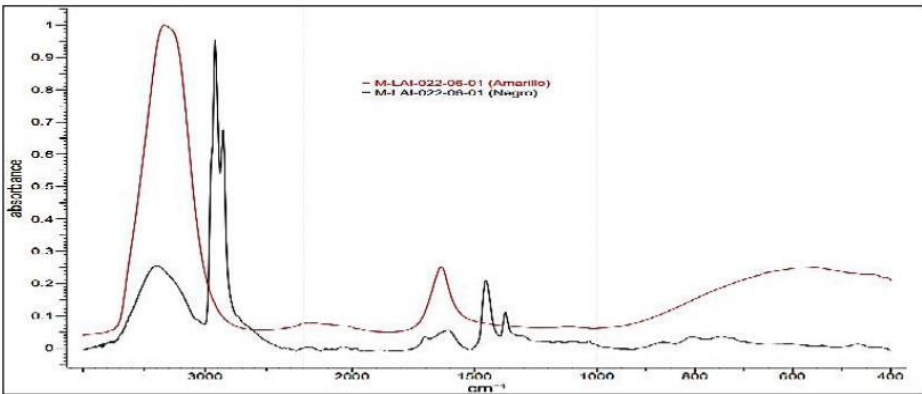
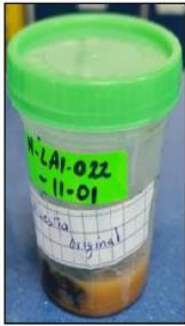

INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar			Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334			E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARÁMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-01			Fecha de muestreo:	* 04/06/2021		
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra Original			Norma de muestreo:	No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico			Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022			Fecha entrega informe:	15/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	18.9	°C	52.6	%	Norma de referencia:	ASTM E 1252	
					Procedimiento interno:	PE-7.2-04	
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm-1)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
3388.32	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3600-3100	Estiramiento	Fuerte	
2919.7	C-H	R(CH2)4-C	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
2852.2	C-H	R(CH2)4-C	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte	
1606.41	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	1640-1615	Flexión	Media	
1454.06	C-H	R(CH2)4-C	Alcano	1485-1445	Deformación	Media	
1375	C-H	CH3	Alcano	1385-1365	Deformación	Media	
746.32	C-C	R(CH2)4-C	Alcano	750-720	Vibración esquelética	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS	<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 						
OBSERVACIONES	<p>Los espectros se encuentran en las páginas 3 y 4 del Anexo.</p> <p>Los picos correspondientes a la longitud de onda de 3388.32 cm-1 y 1606.41 cm-1, corresponden a la presencia de agua en la muestra</p> <p>El espectro corresponde a la parte negra de la muestra.</p>						
Elaborado por:	GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA Date: 2022.02.15 16:38:41 -05'00'</small>			Revisado por:	 <small>Empleada electrónicamente por:</small> ELIANA LIZETH PENA PONTON		
Ing. Gabriela Pérez ANALISTA DE LABORATORIO				Ing. Eliana Peña RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra original (espectro infrarrojo)

	INFORME DE RESULTADOS	Página:	3 de 12	
		FPT-7.8-10-02		

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022


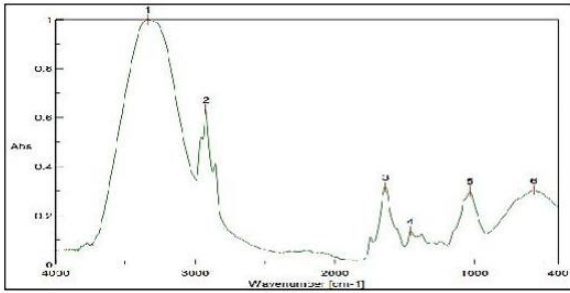
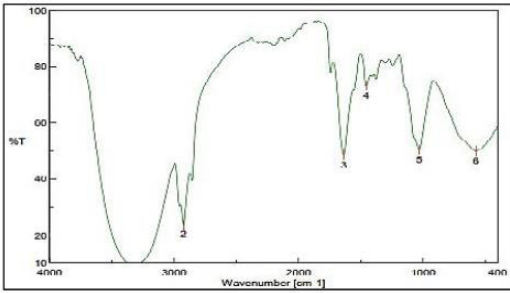

INFORMACIÓN CLIENTE					
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar		Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar	
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 /02 2976300 ext. 3334		E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec	
PARAMETROS DE LA MUESTRA					
Identificación:	M-LAI-022-11-01		Fecha de muestreo:	* 04/06/2021	
Muestra:	* Muestra Original		Plan de muestreo:	No especificado por el cliente	
Tipo de contenedor:	Plástico		Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022	
Fecha de recepción:	03/02/2022		Fecha entrega informe:	15/02/2022	
CONDICIONES DE TRABAJO					
Temperatura y %HR ambiente:	18.8	°C	52.8	%	Norma de referencia: ASTM E 1252
					Procedimiento interno: PE-7.2-04
RESULTADOS					
ESPECTRO INFRARROJO					MUESTRA
					
DECLARATORIAS	<p>Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización.</p>				
OBSERVACIONES	<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo. El espectro se encuentra en la página 5 del Anexo. Debido a que los picos de uno de los componentes de la muestra M-LAI-022-01 (amarillo) corresponde al agua no se ha realizado la resta de los espectros ya que se obtendrían valores negativos en esta zona y la interpretación de los resultados ocasionaría confusión con el espectro resultante.</p>				
Elaborado por:	GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA Date: 2022.02.15 16:38:52 -05'00'			Revisado por:	 Firmado digitalmente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON
Ing. Gabriela Pérez ANALISTA DE LABORATORIO			Ing. Eliana Peña RESPONSABLE TÉCNICA		

Informe de resultados de la muestra resultado (parte blanca)

	INFORME DE RESULTADOS	Página:	4 de 12	
		FPT-7.8-07-05		

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022


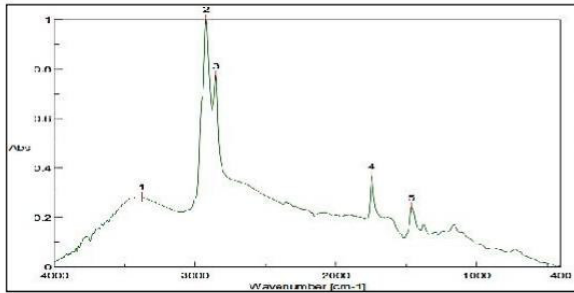
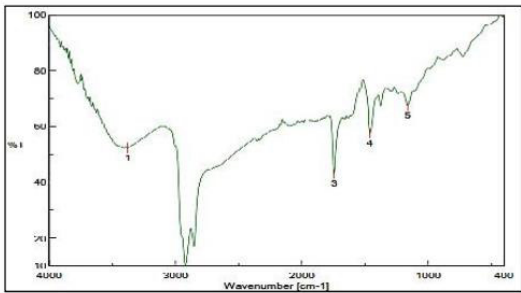

INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar			Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334			E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARAMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-02			Fecha de muestreo:	* 25/01/2022		
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra Resultado			Norma de muestreo:	No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico			Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022			Fecha entrega informe:	15/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	19.1	°C	51.9	%	Norma de referencia:	ASTM E 1252	
					Procedimiento interno:	PE-7.2-04	
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibracion	Intensidad	Muestra
3338.18	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3500-3100	Estiramiento	Media	
2923.56	C-H	R-CH2-R	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
1637.27	N-H	NH2	Amina	1640-1560	Torsión simétrica	Media	
1457.92	C-H	R-CH2-R	Alcano	1485-1445	Deformación	Media	
1031.73	N-H	R-NH2	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media	
574.68	N-H	NH2	Amina	900-650	Torsión asimétrica	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS	<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 						
OBSERVACIONES	<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo. Los espectros se encuentran en las páginas 6 y 7 del Anexo. No se observa el pico en el rango de (2863-2843) cm-1 correspondiente a los alcanos. El espectro corresponde a la parte blanca de la muestra.</p>						
Elaborado por:	GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:39:12 -05'00'			Revisado por:	 Firmado electrónicamente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON		
Ing. Gabriela Pérez				Ing. Eliana Peña			
ANALISTA DE LABORATORIO				RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra resultado (parte interna)

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 5 de 12	
		FPT-7.8-07-05	

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022

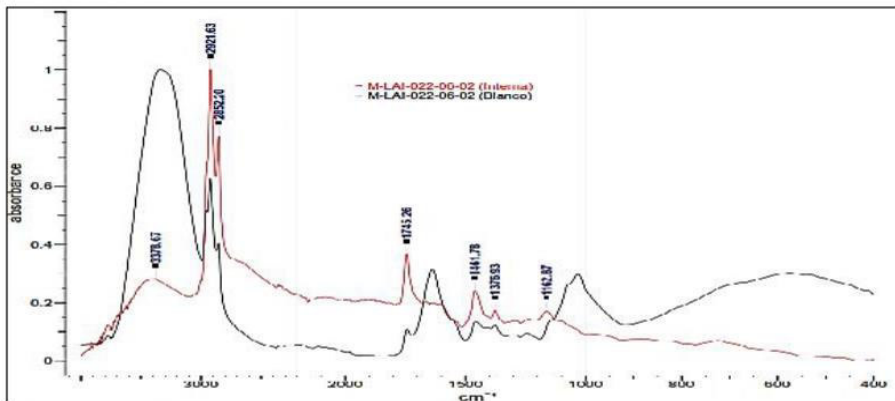


INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar		Persona de contacto:		Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334		E-mail:		pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARÁMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-02		Fecha de muestreo:		* 25/01/2022		
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra Resultado		Norma de muestreo:		No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico		Fecha inicio del ensayo:		04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022		Fecha entrega informe:		15/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	19.1	°C	52.0	%	Norma de referencia: ASTM E 1252		
					Procedimiento interno: PE-7.2-04		
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
3378.67	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3600-3100	Estiramiento	Fuerte	
2921.63	C-H	R-CH2-R	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
2852.2	C-H	R-CH2-R	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte	
1745.26	C-H	R-CH2-R	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media	
1461.78	C-H	R-CH2-R	Alcano	1485-1445	Deformación	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS		<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 					
OBSERVACIONES		<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>Los espectros se encuentran en las páginas 8 y 9 del Anexo.</p> <p>Los picos correspondientes a la longitud de onda de 3388.32 cm⁻¹ y 1606.41 cm⁻¹, corresponden a la presencia de agua en la muestra.</p> <p>El espectro corresponde a la parte interna de la muestra.</p>					
Elaborado por:		GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:39:31 -05'00'</small>		Revisado por:		 Firmado electrónicamente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON	
Ing. Gabriela Pérez				Ing. Eliana Peña			
ANALISTA DE LABORATORIO				RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra resultado (espectro infrarrojo)

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 6 de 12 FPT-7.8-10-02	

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022


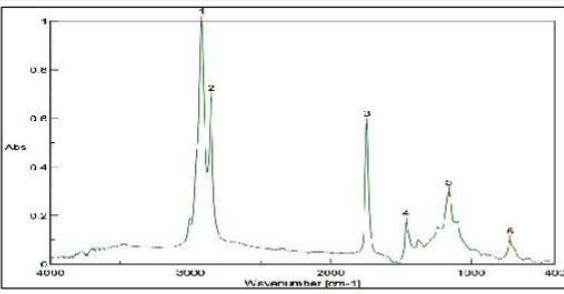
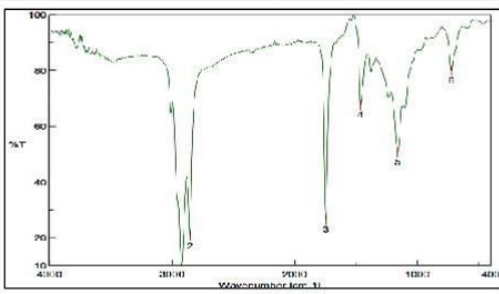

INFORMACIÓN CLIENTE					
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar	Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 /02 2976300 ext. 3334	E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARAMETROS DE LA MUESTRA					
Identificación:	M-LAI-022-11-02	Fecha de muestreo:	* 25/01/2022		
Muestra:	* Muestra Resultado	Plan de muestreo:	No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico	Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022	Fecha entrega informe:	15/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO					
Temperatura y %HR ambiente:	19.1 °C	52.0 %	Norma de referencia:		ASTM E 1252
			Procedimiento interno:		PE-7.2-04
RESULTADOS					
ESPECTRO INFRARROJO					MUESTRA
					
DECLARATORIAS	<p>Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización.</p>				
OBSERVACIONES	<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo. El espectro se encuentra en la página 10 del Anexo. No se ha realizado la resta de los espectros ya que se podía ocasionar confusión con el espectro resultante, por este motivo, se ha realizado la superposición de los espectros</p>				
Elaborado por:	GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:39:49 -05'00'</small>		Revisado por:	 <small>Firmado electrónicamente por:</small> ELIANA LIZETH PENA PONTON	
Ing. Gabriela Pérez			Ing. Eliana Peña		
ANALISTA DE LABORATORIO			RESPONSABLE TÉCNICA		

Informe de resultados de la muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 7 de 12	
		FPT-7.8-07-05	

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022


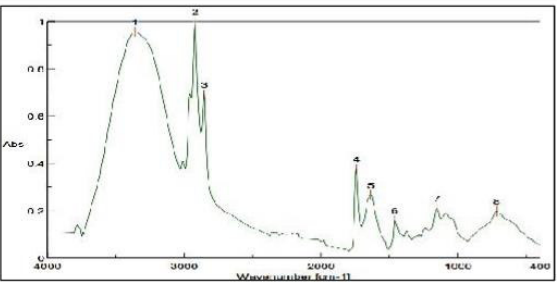
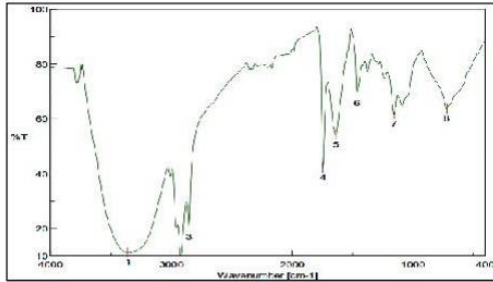

INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar			Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334			E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARÁMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-03			Fecha de muestreo:	* 29/12/2021		
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra en proceso aerobio Bioelectroquímico			Norma de muestreo:	No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico			Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022			Fecha entrega informe:	14/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	19.2	°C	51.8	%	Norma de referencia:	ASTM E 1252	
					Procedimiento interno:	PE-7.2-04	
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte	
1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media	
1461.78	C-H	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	1485-1445	Deformación	Media	
1159.01	N-H	R-NH ₂	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media	
721.247	C-C	R(CH ₂) ₄ -OR	Alcano	742-734	Vibración esquelética	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS	<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 						
OBSERVACIONES	<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>Los espectros se encuentran en las páginas 11 y 12 del Anexo.</p> <p>El pico de 1159.01 cm⁻¹ corresponde a una amina; no obstante, no se puede observar los otros picos de las aminas por lo que se puede considerar que es una impureza o que la muestra no es un componente puro sino una mezcla.</p>						
Elaborado por:	GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:40:03 -05'00'</small>			Revisado por:	 Firmado electrónicamente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON		
Ing. Gabriela Pérez				Ing. Eliana Peña			
ANALISTA DE LABORATORIO				RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra en proceso aerobio no Bioelectroquímico (A) (parte sólida)

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 8 de 12 FPT-7.8-07-05	
---	------------------------------	---	---

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022


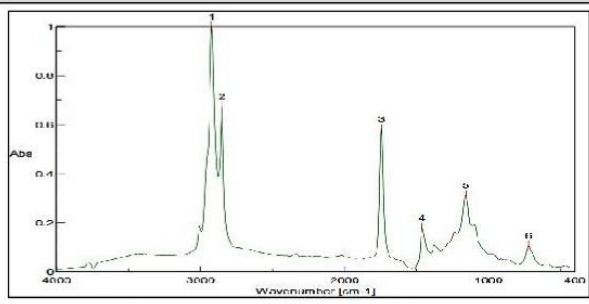
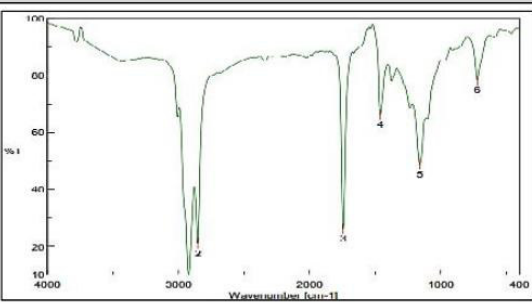

INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar			Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334			E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARÁMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-04			Fecha de muestreo:	* 21/12/2021		
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra en proceso aerobio NO Bioelectroquímico A			Norma de muestreo:	No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico			Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022			Fecha entrega informe:	14/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	19.3	°C	51.4	%	Norma de referencia:	ASTM E 1252	
					Procedimiento interno:	PE-7.2-04	
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
3359.39	O-H	H-O-H	Puente de hidrógeno	3500-3100	Estiramiento	Media	
2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
2854.13	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte	
1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media	
1637.27	N-H	NH ₂	Amina	1640-1560	Torsión simétrica	Media	
1463.71	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1485-1445	Deformación	Media	
1155.15	N-H	R-NH ₂	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media	
719.318	C-C	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	750-720	Vibración esquelética	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS		<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 					
OBSERVACIONES		<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>Los espectros se encuentran en las páginas 13 y 14 del Anexo.</p> <p>El espectro corresponde a la parte sólida de la muestra.</p>					
Elaborado por:				Revisado por:			
GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:40:21 -0500</small>				 Firmado electrónicamente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON			
Ing. Gabriela Pérez ANALISTA DE LABORATORIO				Ing. Eliana Peña RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra en proceso aerobio no Bioelectroquímico (A) (parte inferior)

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 9 de 12 FPT-7.8-07-05	
---	------------------------------	---	---

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022

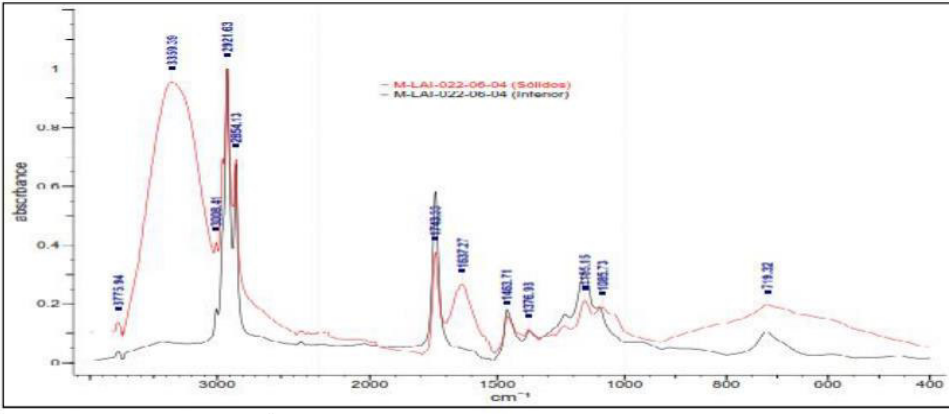


INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar		Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar			
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334		E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec			
PARÁMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-04		Fecha de muestreo:	* 21/12/2021			
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra en proceso aerobio NO Bioelectroquímico A		Norma de muestreo:	No especificado por el cliente			
Tipo de contenedor:	Plástico		Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022			
Fecha de recepción:	03/02/2022		Fecha entrega informe:	15/02/2022			
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	19.2	°C	51.7	%	Norma de referencia:	ASTM E 1252	
					Procedimiento interno:	PE-7.2-04	
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte	
1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media	
1459.85	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1485-1445	Deformación	Media	
1159.01	N-H	R-NH ₂	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media	
721.247	C-C	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	750-720	Vibración esquelética	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS	<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 						
OBSERVACIONES	<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>Los espectros se encuentran en las páginas 15 y 16 del Anexo.</p> <p>El espectro corresponde a la parte inferior de la muestra.</p>						
Elaborado por:	GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCCHA Date: 2022.02.15 16:40:39 -05'00'</small>			Revisado por:	 Firmado electrónicamente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON		
Ing. Gabriela Pérez ANALISTA DE LABORATORIO				Ing. Eliana Peña RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra en proceso aerobio no Bioelectroquímico (A) (espectro infrarrojo)

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 10 de 12	
		FPT-7.8-10-02	

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022


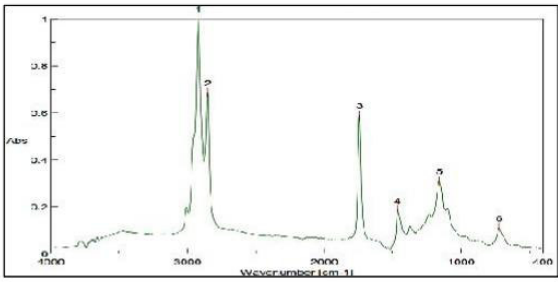
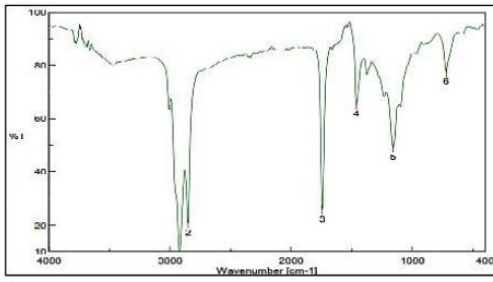

INFORMACIÓN CLIENTE				
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar	Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar	
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 /02 2976300 ext. 3334	E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec	
PARAMETROS DE LA MUESTRA				
Identificación:	M-LAI-022-11-04	Fecha de muestreo:	* 21/12/2021	
Muestra:	muestra en proceso aerobio NO Bioelectroquímico A	Plan de muestreo:	No especificado por el cliente	
Tipo de contenedor:	Plástico	Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022	
Fecha de recepción:	03/02/2022	Fecha entrega informe:	15/02/2022	
CONDICIONES DE TRABAJO				
Temperatura y %HR ambiente:	19.2	°C	51.7	%
			Norma de referencia:	ASTM E 1252
		Procedimiento interno:		PE-7.2-04
RESULTADOS				
ESPECTRO INFRARROJO				MUESTRA
				
DECLARATORIAS	<p>Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI.</p> <p>Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados.</p> <p>El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución.</p> <p>El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron.</p> <p>Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización.</p>			
OBSERVACIONES	<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>El espectro se encuentra en la página 17 del Anexo.</p> <p>No se ha realizado la resta de los espectros ya que el espectro resultante puede ocasionar confusión, por este motivo, se ha realizado la superposición de los espectros.</p>			
Elaborado por:	GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:41:00 -05'00'</small>			Revisado por:
Ing. Gabriela Pérez ANALISTA DE LABORATORIO				<small>Firmado electrónicamente por:</small> ELIANA LIZETH PENA PONTON
Ing. Eliana Peña RESPONSABLE TÉCNICA				

Informe de resultados de la muestra en proceso aerobio no Bioelectroquímico (B)

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 11 de 12	
	FPT-7.8-07-05		

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022

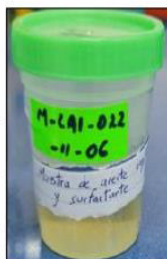
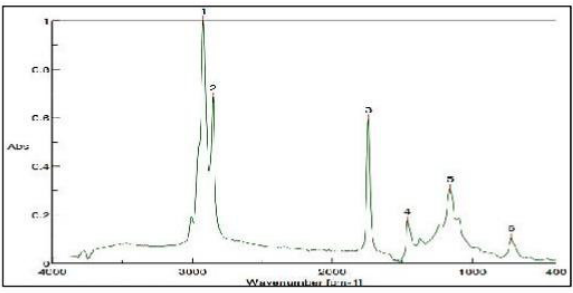
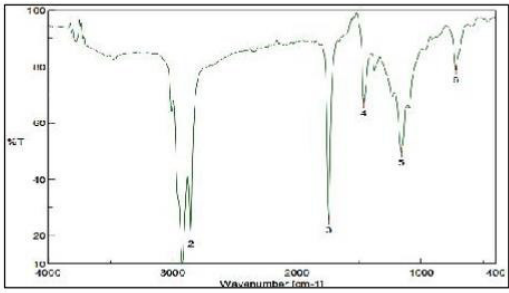

INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar		Persona de contacto:		Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334		E-mail:		pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARÁMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-05			Fecha de muestreo:		* 21/12/2021	
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra en proceso aerobio NO Bioelectroquímico B			Norma de muestreo:		No especificado por el cliente	
Tipo de contenedor:	Plástico			Fecha inicio del ensayo:		04/02/2022	
Fecha de recepción:	03/02/2022			Fecha entrega informe:		15/02/2022	
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	19.3	°C	51.5	%	Norma de referencia:		ASTM E 1252
					Procedimiento interno:		PE-7.2-04
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte	
1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media	
1461.78	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1485-1445	Defomación	Media	
1159.01	N-H	R-NH ₂	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media	
721.247	C-C	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	750-720	Vibración esquelética	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS		<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 					
OBSERVACIONES		<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>Los espectros se encuentran en las páginas 18 y 19 del Anexo</p> <p>El pico de 1159.01 cm⁻¹ corresponde a una amina; no obstante, no se puede observar los otros picos de las aminas por lo que se puede considerar que es una impureza o que la muestra no es un componente puro sino una mezcla.</p>					
Elaborado por: GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA <small>Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:42:06 -05'00'</small>				Revisado por:  Firmado electrónicamente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON			
Ing. Gabriela Pérez				Ing. Eliana Peña			
ANALISTA DE LABORATORIO				RESPONSABLE TÉCNICA			

Informe de resultados de la muestra de aceite vegetal y surfactante

	INFORME DE RESULTADOS	Página: 12 de 12	
		FPT-7.8-07-05	

INFORME No. I-LAI-022-11

Orden de Trabajo No. DQ-OTI-0003-2022

INFORMACIÓN CLIENTE							
Cliente / Empresa:	Ing. Pablo Benalcázar			Persona de contacto:	Ing. Pablo Benalcázar		
Dirección / Telf.:	Ladrón de Guevara E11-253 / 02 2976300 ext. 3334			E-mail:	pablo.benalcazar@epn.edu.ec		
PARÁMETROS DE LA MUESTRA							
Identificación del LAI:	M-LAI-022-11-06			Fecha de muestreo:	* 17/12/2021		
Código de muestra dada por el cliente:	* Muestra de aceite vegetal y surfactante			Norma de muestreo:	No especificado por el cliente		
Tipo de contenedor:	Plástico			Fecha inicio del ensayo:	04/02/2022		
Fecha de recepción:	03/02/2022			Fecha entrega informe:	15/02/2022		
CONDICIONES DE TRABAJO							
Temperatura y %HR ambiente:	19.3	°C	51.4	%	Norma de referencia:	ASTM E 1252	
					Procedimiento interno:	PE-7.2-04	
RESULTADOS							
Long onda (cm ⁻¹)	Enlace	Grupo funcional (GF)	Nombre GF	Rango (cm ⁻¹)	Modo de vibración	Intensidad	Muestra
2921.63	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2936-2916	Estiramiento asimétrico	Fuerte	
2852.2	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	2863-2843	Estiramiento simétrico	Fuerte	
1743.33	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1800-1750	Deformación fuera del plano	Media	
1461.78	C-H	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	1485-1445	Defomación	Media	
1159.01	N-H	R-NH ₂	Amina	1230-1030	Estiramiento	Media	
721.247	C-C	R(CH ₂) ₄ -C	Alcano	750-720	Vibración esquelética	Media	
ESPECTRO EN ABSORBANCIA				ESPECTRO EN TRANSMITANCIA			
							
DECLARATORIAS	<p>* Dato proporcionado por el cliente.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los ensayos fueron realizados dentro de las instalaciones del laboratorio LAI. - Los resultados reportados corresponden únicamente a los ítems ensayados. - El laboratorio no se responsabiliza por la toma ni almacenamiento de la muestra antes de llegar a las instalaciones de la Institución. - El muestreo es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a las muestras como se recibieron. - Queda prohibido la reproducción parcial o total del presente informe sin previa autorización. 						
OBSERVACIONES	<p>No existió ninguna desviación durante el ensayo.</p> <p>Los espectros se encuentran en las páginas 20 y 21 del Anexo.</p> <p>El pico de 1159.01 cm⁻¹ corresponde a una amina; no obstante, no se puede observar los otros picos de las aminas por lo que se puede considerar que es una impureza o que la muestra no es un componente puro sino una mezcla.</p>						
Elaborado por: GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA	Digitally signed by GABRIELA VANESSA PEREZ GUIRACOCHA Date: 2022.02.15 16:42:20 -05'00'			Revisado por:	 Firmado electrónicamente por: ELIANA LIZETH PENA PONTON		
Ing. Gabriela Pérez ANALISTA DE LABORATORIO				Ing. Eliana Peña RESPONSABLE TÉCNICA			