



A. PROPUESTA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN INTERNO SIN FINANCIAMIENTO

1. TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Básica	X	Aplicada	
--------	---	----------	--

2. UNIDAD EJECUTORA (*Departamento, Instituto o Estructura de Investigación*):

1. Departamento de Petróleos

3. LINEA(S) DE INVESTIGACIÓN:

1. Producción de Hidrocarburos

4. TÍTULO DEL PROYECTO (*mínimo 10 palabras*):

Bioelectrorremediación de aguas contaminadas con petróleo

5. RESUMEN (*máximo 200 palabras*)

Mediante la interacción de una celda electroquímica y en presencia de cultivos microbiológicos, se acondicionará la celda bioelectroquímica que evaluará la bioelectrodegradación de hidrocarburos emulsionados y presentes en aguas de procesos industriales del petróleo.

Inicialmente se caracterizará el efluente industrial, el tipo de bacterias y los nutrientes a dosificarse en el sistema de tratamiento.

Los nutrientes de las diversas familias de bacterias, provocan diversos rendimientos de transformación de hidrocarburos pesados a ligeros, así como también el tipo de electrodos, distancia entre ellos y la densidad de corriente suministrada.

Este diseño típico de reacción bioelectroquímica constará de un ánodo y un cátodo separados por una matriz conductora de iones, mientras que los microorganismos, como parte de su actividad metabólica, interactuarán con los electrodos por contacto directo intercambiando electrones directamente o mediante un mecanismo indirecto en el que un compuesto químico actuará como lanzadera de electrones.

6. PALABRAS CLAVE (4-6)

Microorganismos, Bacterias, Electrodos, Celda Bioelectroquímica, Biorremediación, Donador de Electrones, Aceptor de Electrones

7. OBJETIVOS

7.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar las condiciones de degradabilidad de las moléculas de hidrocarburos en efluentes industriales.

7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Caracterizar las familias de bacterias afines al proceso de biorremediación en condiciones eléctricas



- b. Identificar la demanda de corriente continua requerida para maximizar el rendimiento bacteriológico
- c. Diseñar un proceso de bioelectrorremediación para efluentes industriales del petróleo

8. HIPÓTESIS (opcional)

- a. Los microorganismos autóctonos del Campo Pungarayacu pueden ser estimulados eléctricamente para la biorremediación de hidrocarburos
- b. Los ánodos de grafito pueden servir como mecanismos de cultivo de colonias de hidrocarburos maximizando su transferencia eléctrica

9. DETALLE DE LOS RESULTADOS ESPERADOS (con relación a los objetivos)

- a. Degradabilidad de hidrocarburos en medio acuoso y bacteriológico
- b. Definición de bondades de los electrodos en el cultivo y desarrollo bacteriológico
- c. Diseño de una celda bioelectroquímica para un proceso a nivel de laboratorio

10. IMPACTO DE LA INVESTIGACIÓN (científico, social, económico u otros (máximo una carilla))

La alta demanda energética en el mundo moderno ha determinado el uso progresivo del petróleo y sus derivados como su principal fuente. Muchos de sus componentes son empleados como materias primas básicas en las industrias químicas y petroquímicas.

Las actividades hidrocarburíferas, al igual que las demás actividades industriales, generan residuos líquidos como aguas de formación y aguas residuales contaminadas con hidrocarburos, que demandan procesos fiables para su disposición final, pues de no hacerlo generan un riesgo potencial de contaminación y liberación de compuestos recalcitrantes al ambiente (Nandy, Radović, Novotnik, & Sharma, 2020).

Debido a los numerosos derrames petroleros que han ocurrido en el país, las empresas involucradas se han dedicado a buscar soluciones económicas y ecológicas para el respectivo tratamiento de aguas contaminadas a causa del crudo derramado, en donde aparecen diferentes tecnologías en el mercado como la biorremediación, la cual dependiendo de las circunstancias que se presenten, tiene un proceso muy eficiente en los sitios afectados por los derrames petroleros (Vizúete & Pascual, 2020).

Los hidrocarburos forman emulsiones al interactuar con el agua, este sistema termodinámicamente inestable tiene suspendidas las microgotas líquidas no miscibles en el agua, aumentando el volumen del contaminante en factor de 3 a 4 veces. Estas emulsiones son extremadamente viscosas y persisten en la superficie del agua, ocasionando un retardo de los demás procesos que harían que se disipe el hidrocarburo, este aumento de viscosidad se da debido al aumento de la fase interna de la emulsión (Velásquez & Pereira, 2014).

Las emulsiones O/W se produce generalmente por la presencia de resinas y asfaltenos presentes en el petróleo, que desempeñan el papel de emulsionantes naturales. Estos agentes emulsionantes tienen una atracción mutua 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 es gruesa y puede ser fácilmente visible en un microscopio óptico (Velásquez & Pereira, 2014).

En la naturaleza, los hidrocarburos son eliminados del suelo por procesos de biodegradación, volatilización, percolación y drenaje superficial. Por esto, en los últimos años se ha prestado mucha atención a los métodos biológicos, tanto para el tratamiento de residuos industriales



como en la recuperación de sitios contaminados. Estos métodos se conocen como procesos de biorremediación y tienen como objetivo el aprovechamiento y optimización de las capacidades biodegradadoras naturales (Trujillo, 2012).

A la fecha, los diversos procesos de biorremediación demostraron que el suelo posee la capacidad de biodegradar los hidrocarburos existentes en el mismo, así como los destilados gasoil, kerosén y aceite lubricante, mientras que las fracciones aromáticas, polares y el destilado demandan un mayor tiempo de tratamiento. Entre las familias de bacterias empleadas para los procesos de biorremediación se identifican la *Rhodococcus erythropolis*, *Achromobacter xylooxidans* y *Brevundimonas diminuta*; todas ellas de gran selectividad de tratamiento de los hidrocarburos alifáticos.

La biodegradación depende de las características del hábitat, del contaminante y de los microorganismos. Debido a la complejidad de la composición del petróleo, la biodegradación por parte de las bacterias dependerá de las proporciones que tenga de cada una de sus fracciones (Acuña, Pucci, Morales, & Pucci, 2010).

La acción de los microorganismos en presencia de corriente eléctrica responde al proceso de la bioelectrodegradación. Los estudios referentes a la degradación de materia orgánica consisten en la identificación de los organismos aceptores y donadores de electrones y, según sea su alimentación (que te parece esto: o nutrientes en el medio de cultivo) se puede observar mayor o menor rendimiento de conversión.

En los procesos Bioelectroquímicos, la reducción de los cationes va acompañada de una cadena de transporte de electrones en los microorganismos.

11. ESTADO DEL ARTE, E INVESTIGACIONES PREVIAS DEL EQUIPO (*máximo tres carillas*)

Existen infinidad de investigaciones en las que se ha identificado y aislado microbios (no sé si mejor es: microorganismos) que pueden metabolizar completamente la materia orgánica en dióxido de carbono con nitrato o sulfato como único aceptor de electrones, al igual que consorcios microbianos que pueden convertir completamente la materia orgánica en dióxido de carbono y metano. Estudios previos en ambientes anaerobios demuestran que los sedimentos del río Potomac en EEUU son oxidados completamente a dióxido de carbono, con la reducción de Fe (III) o Mn (IV), o nitrato como únicos aceptores de electrones y en presencia de acetato como aceptor de electrones (Lovley, 1988).

Los procesos en los que hay la participación de microorganismos para la bioelectrocatalisis de reacciones anódicas y/o catódicas en la electroquímica se conocen como Tecnologías Electroquímicas Microbianas (MET) y los dispositivos electroquímicos que se utilizan para explorar tales reacciones se conocen generalmente como Bioelectroquímicas (BES).

Un BES utiliza microorganismos que facilitan la conversión de energía química en energía eléctrica, mediante la oxidación de compuestos orgánicos en el ánodo, impulsada por microbios y la reducción de oxígeno en el cátodo. Este sistema recibe el nombre de Pila de Combustible Microbiana (MFC). La reacción de reducción de oxígeno en este caso puede ser abiótico o catalizado microbianamente.

La Electrosíntesis Microbiana (MES) es un proceso que utiliza la electricidad como fuente de energía para impulsar la producción de productos químicos y combustibles que utilizan microorganismos y CO₂ u orgánicos como fuentes de carbono. El desarrollo de esta tecnología altamente interdisciplinaria en la interfaz entre biotecnología y electroquímica requiere conocimiento y experiencia en una variedad de áreas científicas y técnicas.

Las aplicaciones prácticas de las tecnologías microelectroquímicas aun cuando han demorado su aparición en el mercado industrial, ya cuentan a la fecha con demostraciones a gran escala que están operativas para



la producción de metano (Cambrian Innovation Inc., 2013), para producir energía en ubicaciones remotas (Parry, 2013), para el tratamiento de aguas residuales energéticamente eficiente (www.emefcy.com) y para LEDs (diodos emisores de luz) con plant-MFCs (www.plant-e.com).

También se han demostrado los MFC para cargar dispositivos electrónicos, como los teléfonos móviles (Ieropoulos et al., 2013). En 2013, un MEC piloto demostró la viabilidad de esta tecnología para el tratamiento *in situ* y conversión de orina en amoníaco e hidrógeno (Rodríguez Arredondo et al., 2015). Otras aplicaciones potenciales que se han previstos para los MET incluyen la biorremediación, la desalinización energéticamente eficiente, la bioproducción y los biosensores (Patil et al., 2012).

Los microorganismos regulan sus vías de transferencia de electrones en una manera que permite a un donante de electrones transferirlos a un aceptor seleccionado de electrones disponible con el mayor potencial disponible y, en la medida en que sean capaces, de maximizar su ganancia de energía.

Cuando hay escasez de aceptores de electrones solubles presentes en el ambiente bioelectroquímico, los microorganismos orientan su actividad hacia la fermentación; puesto que estos dependen del sustrato y ambiente disponible, pueden hacer uso de sólidos no solubles en calidad de aceptores de electrones.

Alrededor de los electrodos electroquímicamente activos, la materia orgánica se volvía más humificada, aromática y polidispersa, y tenía un mayor peso molecular promedio, junto con su degradación parcial y generación de electricidad en comparación con el sedimento original. En general, la humificación fue evidente cuando se estimula el proceso con corriente eléctrica que cuando no hay corriente. Estos nuevos hallazgos, asociados con la generación de electricidad catalizada por microbios, pueden presentar un potencial para la remediación y/o gestión eficiente del geambiente.

Las características de la materia orgánica sedimentada pueden modificarse debido a la presencia de microbios, mediante Procesos metabólicos basados en diferentes tipos de aceptores finales de electrones (condiciones aeróbicas, anóxicas y anaeróbicas obligatorias) (Hong, 2009).

La electrosíntesis microbiana tiene aplicaciones como la conversión microbiana de dióxido de carbono en combustibles de transporte y otros productos orgánicos, pero la optimización de este proceso es necesaria para su comercialización. Un aspecto determinante son los materiales que componen los electrodos y, de entre ellos, los cátodos; pues estos mejoran la transferencia de electrones electrodo-microbio que podrían mejorar las tasas de formación de productos. Se crea entonces una interacción electrodo-película bacteriana, la cual resulta eficaz en electrosíntesis.

Los resultados demuestran que un enfoque para aumentar las tasas de reducción de dióxido de carbono en la electrosíntesis microbiana, consiste en modificar las superficies del cátodo para mejorar las interacciones microbio-electrodo (Tian Zhang, 2013).

12. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROYECTO, INCLUIDO METODOLOGÍA (máximo tres carillas)

Los efluentes de la industria petrolera vienen cargados de macromoléculas que han logrado emulsionarse con el agua industrial, cuya concentración afecta la calidad de los efluentes a disponerse al entorno.

Por ello, en primera instancia se debe caracterizar los efluentes a tratarse, las colonias de microorganismos que trabajaran en ambientes anaerobios y aerobios, así como la facilidad y condiciones para su reproducción.



Una vez caracterizados los contaminantes, corresponde la identificación, aislamiento y reproducción de las bacterias anaerobias y aerobias de posible influencia en la degradación de las macromoléculas de petróleo.

En la reproducción mucho tienen que ver los sustratos y nutrientes necesarios para su proliferación, el cual se sujeta al modelo de crecimiento bioquímico propio de cada especie y dependiente de la concentración del sustrato activo.

En forma paralela se debe construir la celda electroquímica que de principio requiere electrodos de grafito y condiciones aerobias y anóxicas, separadas por una membrana semipermeable. La variable determinante en la construcción de la celda será la densidad de corriente que en promedio no supera 1 Amperio / m²; no obstante, este parámetro habrá de evaluarse operacionalmente.

El flujo de corriente al interior de la celda electrolítica se realizará por aplicación externa de corriente continua, la cual fluirá en la fase acuosa mediante la oxidación y reducción en el ánodo y cátodo; sin embargo, existirán también en cada uno de los electrodos, microorganismos aceptores y donadores de electrones; mecanismo a través del cual en conjunto con iones nitrato, sulfato y hierro se complementará el flujo de corriente, desarrollo bacteriano y su consecuente degradación de carga orgánica representada por los hidrocarburos emulsionados en su seno.

El proceso en si tiene una etapa de acondicionamiento de la flora bacteriana y aceptación del ambiente electroquímico, ante el cual se evidenciará la proliferación y crecimiento de bacterias, las que a su vez consumirán la carga contaminante (Sunil Patil, 2015).

EL desarrollo de la carga bacteriana seguirá secuencias de primero, segundo o tercer orden de reacción bioquímica, el cual será evaluado como parte del proceso.

La metodología que se aplicará durante la realización de la investigación se resume de la siguiente manera:

1. Selección de bacterias del Campo Pungarayacu.
2. Aislamiento, cultivo y propagación de microorganismos benéficos para la electrobiodegradación.
3. Diseño de la celda bioelectroquímica a escala de laboratorio.
4. Evaluación y ajuste de parámetros de trabajo a nivel de laboratorio: corriente requerida por área de electrodos y desarrollo bacteriano, pH, concentración de sustrato y concentración de contaminantes, DBO y DQO.
5. Ajuste de parámetros óptimos de trabajo y caracterización de efluentes generados.

Bibliografía (Normas APA)

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

Acuña, A., Pucci, G., Morales, M. J., & Pucci, O. (1 de Junio de 2010). *Biodegradación de petróleo y sus derivados por la comunidad bacteriana en un suelo de la patagonia Argentina*. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562010000100007

Arroyo, M., Quesada, R., & Manuel, J. (2016). Aplicación de Sistemas de Biorremediación de suelos y aguas contaminadas por Hidrocarburos. *GEOCISA*, 298.



- Becerra, S., Paichard, E., Sturna, A., & Maurice, L. (2013). Vivir con la contaminación petrolera en el Ecuador: Percepciones sociales del riesgo sanitario y capacidad de respuesta. *Revista Líder*, 3.
- Daghio et al., M. (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.
- Hong, S. K. (2009). Alteration of sediment organic matter in sediment microbial fuel cells. *Environmental Pollution*, 185-191.
- Lovley, D. P. (1988). Applied and Environmental Microbiology. *American Society for Microbiology*, 1472-1489.
- Mohanakrishna et al., G. (2017). Enhanced Treatment of Petroleum Refinery Wastewater by Short-term Applied Voltage in Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Bioresource Technology*, 3.
- 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.
- Sunil Patil, S. G. (2015). A logical Data representation framework for electricity driven 3 bioproduction process. *Biotechnology Advances Journal*.
- Tian Zhang, H. N. (2013). Improved Cathode Materials for microbial electrosynthesis. *Energy Environ Sci*.
- Trujillo, M. A. (2012). *Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia*. Colombia.
- Velásquez, I., & Pereira, J. (2014). Emulsiones de agua en crudo. Aspectos generales. *Revista Ingeniería UC*, 46.
- Vizúete, R., & Pascual, A. (2020). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a base de bacterias utilizadas como bioproductos. *Lasallista de Investigación*, 179.

13. INFRAESTRUCTURA Y EQUIPOS

- Indicar la infraestructura y equipos **disponibles** para la ejecución del proyecto, con la ubicación actual de los mismos

Infraestructura	Equipos	
Laboratorio ZZ	Nombre del Equipo	Ubicación del Equipo
Bioingeniería	Cámara laminar	Laboratorio de Bioingeniería Ingeniería Química
Fluidos de Perforación	Celda Bioelectroquímica	Laboratorio de Petrofísica y de Fluidos de Perforación



B. DATOS INFORMATIVOS

1. INFORMACIÓN DEL DIRECTOR, COLABORADOR (EPN o EXTERNO) Y COLABORADORES TÉCNICOS

Apellidos y nombres	No. de Cédula	HSS*	Departamento	Rol	Título de mayor nivel y mención.
Benalcázar Flores Pablo Daniel	1708032196	6	Petróleos	Miembro	Master en Exploración, Explotación y Producción de Petróleo
Johnny Robinson Zambrano Carranza	1707201826	5	Petróleos	Director	PhD

* HSS =Horas Semana Semestre: Es el número de horas que se dedica por semana a la investigación. Este número de horas se mantiene para todo el semestre

Nota:

El proyecto de investigación no involucra Colaboradores Técnicos Administrativo; el Proyecto de Investigación Interno (PII) es sin fondo. De requerirse un Colaborador Técnico Administrativo, se procederá como lo establece la Normativa correspondiente, que en lo pertinente dice: "*podrá ser asignado del personal administrativo de la unidad ejecutora correspondiente, a partir de una petición del Director*".

De ser aprobado el perfil del proyecto por parte del Vicerrectorado de Investigación, Innovación y Vinculación, se vincularán al menos dos estudiantes para que desarrollen sus proyectos de Titulación. Los estudiantes no son incluidos en este perfil del proyecto; serán incluidos una vez que se aprueben sus Planes de Trabajo de Titulación por la Comisión Permanente de Trabajo de Titulación.



C. DECLARACIÓN FINAL DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DEL PROYECTO

El equipo de investigadores, representado por el Director del Proyecto declara lo siguiente:

- Que el presente proyecto es una creación original de mi autoría y del equipo de investigadores, y por tanto asumimos la completa responsabilidad legal en caso de que un tercero alegue la titularidad de los derechos intelectuales del proyecto, exonerando a la EPN de cualquier acción legal que se derive por esta causa.
- Que el presente proyecto no ha sido presentado en ninguna convocatoria de otra institución pública o privada. El incumplimiento será causal para que el proyecto no sea tomado en consideración.
- Que si el proyecto genera algún producto o procedimiento susceptible de obtener derechos de propiedad intelectual, de los cuales se deriven beneficios, aceptamos que éstos serán compartidos entre los investigadores y la institución o las instituciones participantes en el proyecto, conforme a lo establecido en el COESC.
- Que el equipo de investigadores y/o instituciones participantes se comprometen a mantener la confidencialidad de la información si ésta podría ser susceptible de protección por patentes, y solicitar la valoración de propiedad intelectual respectiva previa a cualquier publicación o difusión.
- Que para el caso de derechos de autor otorgamos una licencia de uso exclusivo con fines académicos para la o las instituciones participantes en el proyecto.
- Que aceptamos conocer y cumplir con la normativa vigente para la gestión de proyectos.

Firma del Director del Proyecto
Nombre: Johnny R. Zambrano C.
C.I.: 1707201826



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y VINCULACIÓN
Proyecto de Investigación Interno sin Financiamiento
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES DEL PROYECTO



Título del Proyecto:

Bioelectrorremediación de aguas contaminadas con petróleo

AÑO 1																																																	
N°	Actividad	Mes 1				Mes 2				Mes 3				Mes 4				Mes 5				Mes 6				Mes 7				Mes 8				Mes 9				Mes 10				Mes 11				Mes 12			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
1	Caracterizar las familias de bacterias afines al proceso de biorremediación en condiciones eléctricas	█	█	█	█																																												
1,1	Selección de geobaterias del Campo Pungarayacu	█	█	█	█																																												
1,2	Aislamiento, cultivo y propagación de microorganismos benéficos para la electro biodegradación									█	█	█	█																																				
...	...																																																
2	Identificar la demanda de corriente continua requerida para maximizar el rendimiento bacteriológico													█	█	█	█	█	█	█	█	█	█	█	█																								
2,1	Diseño de la celda bioelectroquímica a escala de laboratorio													█	█	█	█																																
2,2	Evaluación y ajuste de parámetros de trabajo a nivel de laboratorio																	█	█	█	█	█	█	█	█																								
...	...																																																
3	Diseñar un proceso de bioelectrorremediación para efluentes industriales del Petróleo																									█	█	█	█	█	█	█	█	█	█	█	█												
3,1	Ajuste de parámetros óptimos de trabajo y caracterización de efluentes generados																									█	█	█	█	█	█	█	█																
3,2	Desarrollo de Reporte e informe de trabajo																													█	█	█	█	█	█	█	█												