



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**“ESTUDIO DE BIOSURFACTANTES PARA LA BIOREMEDIACIÓN  
DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS”**

Trabajo de titulación para optar el grado académico de:  
**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTOR: SARA ANDREA VACA SÁNCHEZ**

**TUTOR: ROBERT CAZAR PH. D.**

Riobamba - Ecuador

Abril 2016

Se autoriza a la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Sara Andrea Vaca Sánchez, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 5 de Abril del 2016.

Sara Andrea Vaca Sánchez

Cédula de identidad 180428284-4

**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“ESTUDIO DE BIOSURFACTANTES PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS”**, de responsabilidad de la señorita Sara Andrea Vaca Sánchez, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Robert Cazar

**DIRECTOR DEL TRABAJO  
DE TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Dra. Jenny Moreno

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Yo, **Sara Andrea Vaca Sánchez**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo.

---

SARA ANDREA VACA SANCHEZ

## DEDICATORIA

Mi carrera universitaria ha sido llena experiencias, las cuales me han ayudado a ser mejor, primero como persona y luego como profesional. Al llegar a este momento veo que existen aún escalones por subir, aquellos que antes no los podía mirar. Sin embargo durante este largo camino han existido seres que me han dado fortaleza a mi alma y a mi espíritu, para continuar a pesar de los obstáculos encontrados.

Por ello, quiero dedicar el primero de mis trabajos a mis padres, María Eugenia Sanchez y Julio Vaca Salazar. Gracias a ustedes dos tengo el orgullo de alcanzar esta meta, sus valores y amor me han guiado en cada paso. Gracias por despertar junto a mi aquellas madrugadas que amenazaban con resfriados continuamente. Gracias por ser mi aliento y alivio cuando de incertidumbre se trataba. Gracias por darme su confianza, por haber sido los primeros que creyeron en mí, por haber roto paradigmas para formar una mujer. Gracias por haber preferido brindarme un lápiz que un caramelo, por haberme regalado un libro y no un juguete virtual. Gracias por enseñarme que la verdad siempre prevalece y que las personas valen por lo que tienen dentro del corazón y no por lo que esta dentro de sus bolsillos. Gracias por haber tenido recursos económicos limitados, pero jamás limite de amor. Y sobre todo gracias por haberme dado la vida y siempre ser mi protección total, mi madre en cuerpo y mi padre en espíritu.

Con amor para ustedes,  
Sary

## AGRADECIMIENTO

El desarrollo de ciencia es árduo y lleno de retos en el camino al éxito. Durante este trabajo de investigación mis conocimientos se multiplicaron exponencialmente, sin embargo no hubiera sido posible sin el apoyo constante de varias personas y entidades. Por esta razón quiero agradecer:

A Dios y a mi padre por llenar mi espíritu de fortaleza y guiar mis decisiones en momentos difíciles, desde el cielo.

A mi familia, especialmente a mi madre y hermanos por ser un soporte emocional constante y ejemplos de tenacidad.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por darme el honor de ser parte de sus aulas, donde día a día mis maestros, supieron fundar semillas de inquietud y vastos conocimientos en mi, especialmente al Dr. Robert Cazar, Dra. Jenny Moreno y Dr. William Bravo, por su paciencia y criterio académico a la hora del desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Consorcio Ecuatoriano para el Desarrollo de Internet Avanzado CEDIA, por el financiamiento brindado a la investigación, mediante los proyectos CEPRA, en especial al proyecto CEPRA – VII ; “Computación de alto rendimiento aplicado al diseño de surfactantes y bio-surfactantes para mejorar la producción y el transporte de crudos en Ecuador: Fase I. Implementación y puesta en marcha del Laboratorio de Modelización Molecular y Simulación.”. Líder del proyecto: Miguel Ángel Méndez, Ph.D.

Al Grupo Química Computacional y Teórica QCT-USFQ, especialmente a su director F. Javier Torres Ph.D., ya que por medio de su gestión. se pudo llegar a difundir avances de este trabajo de graduación en eventos de alto nivel científico internacional como: 9th WCMS, Chile- 2014; NANOANDES, Venezuela 2014, QUITEL, Galápagos-2014; CHITEL ,Italia-2015.

A grandes amigos quienes con su granito de arena aportaron en diferentes maneras a que este trabajo culmine. Gracias por su apoyo y sobre todo por el cariño.

## CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	III
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTO	VII
CONTENIDO	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	XIII
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	XV
RESUMEN	XVI
ABSTRACT	XVII
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. Objetivo General	4
1.3.2. Objetivos Específicos	4
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	5
2.2. MARCO CONCEPTUAL	6
2.2.1. Suelo e Hidrocarburos	6
2.2.1.1. Suelo.	6
2.2.1.2. Hidrocarburos como contaminante	6
2.2.1.3. Degradación de Hidrocarburos en el Suelo	6
2.2.2. Biorremediación	6
2.2.2.1. Técnicas de Remediación de Suelo	7
2.2.2.1.1. Lavado de Suelo	7
2.2.2.1.2. Extracción por vapor	7
2.2.2.1.3. Landfarming	8
2.2.2.1.4. Enjuague de Suelo	9
2.2.2.1.5. Solidificación	9
2.2.2.1.6. Desorción Termal	10
2.2.2.1.7. Biopilas	10
2.2.2.1.8. Fitoremediación	10
2.2.2.1.9. Aireación	11
2.2.3. Surfactantes	11
2.2.3.1. Tipos de Surfactantes	12
2.2.3.1.1. Surfactantes Aniónicos	12
2.2.3.1.2. Surfactantes No-Iónicos	12
2.2.3.1.3. Surfactantes Catiónicos	13
2.2.3.1.4. Surfactantes Anfóteros	13
2.2.3.1.5. Biosurfactantes	13

2.2.3.2.	Impacto ambiental de los surfactantes	14
2.2.3.2.1.	Toxicidad Acuática.	14
2.2.3.2.2.	Biodegradabilidad	14
2.2.3.2.3.	Bioacumulación	15
III.	METODOLOGÍA	16
3.1.	HIPÓTESIS Y VARIABLES	16
3.1.1.	Hipótesis General	16
3.1.2.	Hipótesis Específicas	16
3.1.3.	Identificación de Variables	16
3.1.3.1.	Variable Independiente	16
3.1.3.2.	Variable dependiente	16
3.1.3.3.	Variables Intervinientes	16
3.2.	TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	17
3.2.1.	Unidad de Análisis	18
3.2.2.	Población de Estudio	18
3.2.3.	Tamaño de la muestra	18
3.2.4.	Selección de la muestra	18
3.2.5.	Técnicas de recolección de datos	19
3.2.6.	Análisis e interpretación de la información	19
3.3.	TÉCNICAS Y MATERIALES	20
3.3.1.	Recursos Computacionales	20
3.3.2.	Programas	21
3.3.3.	Técnicas	22
3.3.3.1.	Selección de Modelos	22
3.3.3.1.1.	Asfaltenos	22
3.3.3.1.2.	Surfactantes	23
3.3.3.2.	Construcción de Modelos Estructurales Iniciales	26
3.3.3.3.	Construcción de Sistemas	28
3.3.3.3.1.	Sistema Trifásico “Tolueno-Heptano-Asfateno”	28
3.3.3.3.2.	Sistema Total “Tolueno-Heptano-Asfalteno-Surfactante”	29
3.3.3.4.	Mecanismo molecular de refinamiento	30
3.3.3.4.1.	Minimización	30
3.3.3.4.2.	Equilibrio – NVT (Número de partículas, volumen y temperatura constante)	30
3.3.3.4.3.	Equilibrio – NPT (Número de partículas, presión y temperatura constante)	31
3.3.3.4.4.	Etapa de Producción-Dinámica Molecular	31
3.3.3.5.	Visualización	32
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	33
4.1.1.	Resultados de la Preparación de los Sistemas	33
4.1.1.1.	Minimización	33
4.1.1.2.	Equilibración – NVT (Número de partículas, volumen y temperatura constante)	36
4.1.1.3.	Equilibrio – NPT(Número de partículas, presión y temperatura constante)	37
4.1.1.4.	Etapa de Producción-Dinámica Molecular	39
4.1.2.	Análisis estadístico de Resultados	43
4.1.2.1.	Sistema Lauril5545	46

4.1.2.2.	Sistema Lauril7525	52
4.1.2.3.	Sistema Rhamnolipido5545	57
4.1.2.4.	Sistema Rhamnolipid7525	62
4.2.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	67
	CONCLUSIONES	72
	RECOMENDACIONES	73
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
	ANEXOS	79

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-3. Diseño Experimental.....	17
Tabla 2-3. Descripción General Moléculas .....	29
Tabla 3-3. Distribución Molecular en Sistemas Trifásicos .....	29
Tabla 4-3. Distribución de Moléculas por Sistemas Finales .....	29
Tabla 1-4. Resumen de Resultados-Preparación de Sistemas	45
Tabla 2-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Laurilsulfato N. 5 y cada molécula de asfaltenos	47
Tabla 3-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril5545 N. 12 y cada molécula de asfaltenos.	48
Tabla 4-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril5545 N. 15 y cada molécula de asfaltenos.	50
Tabla 5-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril7525 N. 3 y cada molécula de asfaltenos.	53
Tabla 6-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril7525 N. 10 y cada molécula de asfaltenos.	54
Tabla 7-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril7525 N. 17 y cada molécula de asfaltenos.	55
Tabla 8-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido5545 N.7 y cada molécula de asfaltenos.	58
Tabla 9-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido5545 N.13 y cada molécula de asfaltenos.	59
Tabla 10-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido5545 N.19 y cada molécula de asfaltenos.	60
Tabla 11-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido7525 N.2 y cada molécula de asfaltenos.	63
Tabla 12-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido7525 N.7 y cada molécula de asfaltenos.	64
Tabla 13-4. Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido7525 N.11 y cada molécula de asfaltenos.	65
Tabla 14-4. Lista de Cotejo de Sistemas sometidos a Dinamica Molecular	68
Tabla 15-4. Evaluación de Distancias de enlace químico de las moléculas asfalteno, rhamnolipido y laurilsulfato en los sistemas de estudio; estado inicial y final.	70

Tabla 16-4. Comparación de densidades en sistemas frente a la densidad ponderada	70
Tabla 17-4. Tabla Resumen distancias asfaltenos-surfactantes	71

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1-2. Esquema del proceso de Extracción por Vapor	8
Figura 2-2. Esquema Proceso Flushing-in situ	9
Figura 1-3. Representación molecular del fragmento de Asfalteno	23
Figura 2-3. Biosurfactante Rhamnolípido	24
Figura 3-3. Surfactante Laurilsulfato	24
Figura 4-3. Diagrama general de desarrollo del proyecto de investigación	25
Figura 5-3. Representación molecular del Rhamnolípido	26
Figura 6-3. Representación molecular del Lauril-Sulfato	27
Figura 7-3. Representación molecular del Agua-Solvente	27
Figura 8-3. Representación molecular del Heptano	27
Figura 9-3. Representación molecular del Tolueno	27
Figura 10-3. Sistema Periódico Total Laurilsulfato ST5545	32
Figura 1-4. Disminución de la Energía Potencial del	34
Figura 2-4. Disminución de la Energía Potencial	35
Figura 3-4. Disminución de la Energía Potencial	35
Figura 4-4. Disminución de la Energía Potencial	36
Figura 5-4. Estabilización de Temperatura en el sistema	37
Figura 6-4. Estabilización de Temperatura en el sistema	37
Figura 7-4. Presión de Equilibrio isobárico en el sistema	38
Figura 8-4. Densidad de Equilibrio isobárico en el	38
Figura 9-4. Presión de Equilibrio isobárico en el sistema	39
Figura 10-4. Densidad de Equilibrio isobárico en el	39
Figura 11-4. Temperatura de Etapa de Producción Lauril7525	40
Figura 12-4. Densidad de Etapa de Producción Lauril7525	41
Figura 13-4. Volumen en Etapa de Producción Lauril7525	41
Figura 14-4. RMSD en Etapa de Producción Lauril7525	41
Figura 15-4. Temperatura de Etapa de Producción	42
Figura 16-4. Densidad de Etapa de Producción	42
Figura 17-4. Volumen en Etapa de Producción Rhamnolípido7525	43
Figura 18-4. RMSD en Etapa de Producción Rhamnolípido7525	43

Figura 19-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.5 del sistema Lauril5545	46
Figura 20-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.12 del sistema Lauril5545	48
Figura 21-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.15 del sistema Lauril5545	49
Figura 22-4. Distancia Surfactante-asfalteno Sistema Lauril5545	51
Figura 23-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.3 del sistema Lauri7525	52
Figura 24-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.10 del sistema Lauri7525	53
Figura 25-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.17 del sistema Lauri7525	55
Figura 26-4. Distancia Surfactante-asfalteno Sistema Lauril7525	56
Figura 27-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.7 del sistema Rhamnolipido5545	57
Figura 28-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.13 del sistema Rhamnolipido5545	58
Figura 29-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.13 del sistema Rhamnolipido5545	60
Figura 30-4. Distancia Surfactante-asfalteno Sistema Rhamnolipid5545	61
Figura 31-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.2 del sistema Rhamnolipido7525	62
Figura 32-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.7 del sistema Rhamnolipido7525	63
Figura 33-4. Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.11 del sistema Rhamnolipido7525	65
Figura 34-4. Distancia Surfactante-asfalteno Sistema Rhamnolipido7525	66
Figura 35-4. Modelo de Caja-Interface	67
Figura 36-4. Medidas internas de la molécula original de asfalteno	69

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>Å</b>	Angstrom
<b>ATB</b>	Automated Topology Builder
<b>CEDIA</b>	Consortio Ecuatoriano para el Desarrollo de Internet Avanzado
<b>COV's</b>	Compuestos Orgánicos Volátiles
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>DM</b>	Dinámica Molecular
<b>GETNano</b>	Grupo Ecuatoriano para el Estudio Teórico y Experimental de Nanosistemas
<b>GROMACS</b>	GRoningen MAchine for Chemical Simulations
<b>HAP's</b>	Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Agua
<b>K</b>	Grados Kelvin
<b>Na</b>	Sodio
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>NPT</b>	Número de Moléculas, Presión y Temperatura Constante.
<b>NVT</b>	Número de Moléculas, Volumen y Temperatura Constante.
<b>Ps</b>	Picosegundos
<b>RMSD</b>	Del inglés Root Media Standard Desviation
<b>SIPAS</b>	Sistema de Indicadores de Pasivos Ambientales y Sociales
<b>ST</b>	Sistema Total
<b>T</b>	Temperatura
<b>TPH</b>	Hidrocarburos Totales de Petróleo
<b>VMD</b>	Visual Molecular Dynamics

## RESUMEN

En el Ecuador los hidrocarburos representan uno de los factores que producen mayor contaminación en el agua y en el suelo en la industria petrolera, la composición química de los hidrocarburos está principalmente representada por asfaltenos, compuestos con gran facilidad de agregación y resistentes a la movilidad. Numerosos estudios han indicado que el biosurfactante Rhamnolipido facilita la recuperación de hidrocarburos, debido a su estructura anfifílica. Ésta investigación apunta a facilitar el entendimiento a nivel molecular de este compuesto en procesos de remediación y movilidad tipo “flushing *in situ*”, frente a compuestos químicos convencionales de difícil biodegradación. La simulación de dinámica molecular atomística es un soporte indispensable en el desarrollo de la presente investigación, ya que permite la descripción de las interacciones entre los asfaltenos y los tensoactivos a nivel molecular. Los modelos de los compuestos químicos se han construido en el paquete Avogadro y las simulaciones se han realizado utilizando el software GROMACS, con un protocolo de simulación que incluye ensambles NVT, NPT y la simulación llamada de Producción con ensamble NVT. Dichas fases de prueba incluyen sistemas con moléculas de tolueno-heptano-asfaltenos-surfactantes.

Se han medido las distancias intermoleculares para definir interacciones y estabilidades energéticas a nivel molecular. Se utilizó un modelo químico de Lauril-sulfato, compuesto utilizado regularmente en la industria petrolera, como surfactante químico control para la comparación de comportamiento frente al Rhamnolipido.

Las interacciones encontradas entre el sistema integrado por Lauril-sulfato fueron ligeramente mayores a las encontradas en el sistema formulado con Rhamnolipido. La evaluación de la energía, presión, densidad y temperatura de los sistemas presentó estabilidad en todos los procesos durante la simulación.

Se concluye que las interacciones moleculares de los Rhamnolípidos son equivalentes, al desempeño del surfactante químico control. Por lo tanto un surfactante de la familia de los Rhamnolípidos es recomendable para el uso en remediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

### Palabras Claves:

<DINÁMICA-MOLECULAR> <SOFTWARE-GROMACS> <BIOREMEDIACIÓN>  
<ASFALTENOS> <BIOSURFACTANTES> <HIDROCARBUROS> <FLUSHING-IN-SITU> <RHAMNOLIPIDO> <LAURIL-SULFATO> <NANOSISTEMA>

## ABSTRACT

In Ecuador hydrocarbons present one of the factors that produce more pollution in water and soil in the oil industry. The chemical composition of the hydrocarbon is initially represented by asphaltene compounds easily resistant to aggregation and mobility.

Numerous studies have indicated that the biosurfactant Rhamnolipido facilitates the recovery of hydrocarbons, because of their amphiphilic structure. This research aims to facilitate the understanding at the molecular level of this compound in the process of remediation and type mobility "flushing in situ", compared to conventional chemicals difficult biodegradation. The atomistic molecular dynamics simulation is an indispensable support in the development of this research, as it allows the description of interactions between asphaltenes and surfactants at the molecular level.

Models of chemical compounds have been built in Avogadro and simulations were performed using the software GROMACS with a protocol simulation assemblies it includes NVT, NPT and simulation call NVT ensemble production. These phases include test systems with molecules of toluene-heptane asphaltenes-surfactants.

They were measured to define the intermolecular distances and energy stabilities interactions at the molecular level. A chemical model lauryl sulfate was used chemical used regularly in the oil industry, such as surfactant chemical control for comparison of performance against Phamnolipido.

The founded interactions between the composed system lauryl sulfate was slightly higher than found in the formulated Rhamnolípido system. Assessing the energy, pressure, density and temperature of the system was stable in all processes during simulation.

We conclude that although the molecular interactions are less rhamnolipids could get much performance surfactant chemical control. Therefore a surfactant family of rhamnolipids is recommended for use in remediating hydrocarbon contaminated soils.

KEYWORDS: <MOLECULAR DYNAMICS> <SOFTWARE-GROMACS>  
<BIOREMEDIATION> <ASPHALTENES> <SURFACTANTS> <OIL> <FLUSHING-SITE>  
<RHAMNOLIPIDO> <LAURYL SULFATE> <NANOSYSTEM>

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Identificación del problema

El petróleo y sus derivados son la principal fuente de energía en el mundo, según el Banco Mundial. En el Ecuador este valor representa un 86.3% del combustible utilizado, no obstante los impactos ambientales en la Amazonia del Ecuador producto de operaciones hidrocarburíferas representan el 93%. (Banco mundial, Informe indicadores Cambio Climático 2012).

Según los registros del Sistema de Indicadores de Pasivos Ambientales y Sociales (SIPAS), actualmente en las provincias de Sucumbíos y Orellana existen 1550 piscinas (862 en Sucumbíos y 688 en Orellana), 726 fosas (598 en Sucumbíos, 119 en Orellana y 9 sin dato de ubicación) y 871 derrames (423 en Sucumbíos y 448 en Orellana). Petroecuador en su Informe de gestión 2013-2014 plantea como desafío la remediación de 31.062 m<sup>3</sup>. (Petroamazonas, Informe De Gestión -2014).

Ferrera en su publicación de procesos de bioremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos, afirma que obtuvo resultados de remediación de 4 toneladas de suelo contaminado por el método de biopilas de un máximo del 94% de remoción de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP's) después de 180 días respecto a concentración inicial. (Ferrera, 2006, pp4-6)

Para la aplicación de técnicas tradicionales de bioremediación es necesario condiciones controladas *ex-situ*, por lo que, exige la implementación de infraestructura de grandes magnitudes, altos costos de transporte, uso de maquinaria pesada y difícil acceso a zonas contaminadas irregulares. Además estos procesos tienen limitantes como la concentración menor a 50000 ppm de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH), según la tabla de TexPet Remediation Action Plan Ecuador-2005.

De estos antecedentes se deduce la necesidad indispensable- de incurrir en nuevas técnicas de bioremediación. Esta investigación es coherente con el objetivo de garantizar el derecho al agua y seguridad alimentaria, ejes fundamentales del Plan Nacional del Buen Vivir propuesto por la Presidencia de la República del Ecuador. Se presenta una propuesta de bioremediación de suelos contaminados con crudo mediante el lavado de suelos *in situ*, realizando una recuperación del mismo por medio del biosurfactantes *Rhamnolipidos*, los cuales se lo obtiene a partir de *Pseudomona aeruginosa*. (Mulligan, C.N.2001, pp 375-378) (Van Dike, M.I. 1993, pp 1071-1075). Estos componentes han demostrado rapidez y efectividad en la

remediación de agua y suelos contaminados por hidrocarburos. Esta técnica sobresale como una opción que incidirá en resolver el problema de las piscinas con crudo alojadas en la amazonia ecuatoriana, siendo un tratamiento de bajo impacto ambiental, in situ y rápido.

El estudio de nanosistemas a nivel teórico, es un nuevo campo de la investigación que posee una gran relevancia para el desarrollo científico y a la vez permite explorar nuevos campos científico-técnicos. Esta investigación está enmarcada en el campo de la Química Computacional para nanosistemas, siendo ésta una metodología moderna ideal para el desarrollo de investigación científica. Gracias al soporte de Grupo Ecuatoriano para el Estudio Teórico y Experimental de Nanosistemas (GETNano) y Consorcio Ecuatoriano para el Desarrollo de Internet Avanzado (CEDIA), esta investigación ha tenido tanto soporte económico como científico.

La investigación se enfoca en el estudio de biosurfactantes para la bioremediación de suelos contaminados por crudo. Para que se pueda alcanzar este objetivo es necesario, identificar las estructuras de los componentes químicos representativos del petróleo para obtener un modelo realista para la simulación. Posteriormente es importante la selección de un biosurfactante de alta biodisponibilidad. Se continúa con la construcción de los modelos de bio-surfactante y petróleo. Para obtener condiciones comparables con la información base experimental es importante establecer los sistemas e interfaces a construir. Finalmente es indispensable, realizar el análisis de *big data* para cotejar la información obtenida frente a información experimental. El análisis de los resultados de simulación nos permite realizar recomendaciones sólidas para las estrategias de degradación de suelo contaminado con hidrocarburos con alto contenido de asfaltenos.

## **1.2. Justificación del proyecto**

La contaminación del suelo por crudo representa un problema ambiental de gran impacto a nivel mundial, por lo que es indispensable incurrir en nuevas técnicas de bioremediación. Esta investigación se perfila como una necesidad indispensable para mantener el derecho al agua y seguridad alimentaria siendo ejes fundamentales del Plan Nacional del Buen Vivir propuesto por la Presidencia de la República del Ecuador. Se propone la bioremediación de suelos contaminados con crudo mediante la recuperación con biosurfactantes a partir de microorganismos, los cuales han demostrado rapidez y efectividad en la descontaminación de agua contaminada con hidrocarburos. Esta técnica incidirá en resolver el problema de las piscinas con hidrocarburos alojadas en la amazonia ecuatoriana, siendo un tratamiento de bajo impacto ambiental, in situ y rápido. El software en uso es GRONingen MACHine for Chemical Simulations (GROMACS) para la simulación molecular y obtención de datos, posteriormente con el software Wolfram Mathematica se ejecuta el análisis de datos. Ambos son muy versátiles y fáciles de manejar con el entrenamiento apropiado, estas cualidades conjugadas con el conocimiento de sistemas de Bioremediación, dan como resultado que el desarrollo del proyecto no tenga mayores inconvenientes. Gracias a la disponibilidad de recursos por parte de GetNano, incluyendo un equipo multidisciplinario y colaboradores expertos en el tema, y además financiamiento por parte de CEDIA desarrollo de esta investigación tuvo gran impulso.

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo General***

Estudiar diferentes surfactantes utilizados para la bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

#### ***1.3.2. Objetivos Específicos***

- Identificar las estructuras de los componentes químicos representativos del petróleo para obtener un modelo realista para la simulación.
- Seleccionar un bio-surfactante con alta biodisponibilidad para realizar la simulación.
- Construir los modelos de los sistemas surfactante control, bio-surfactante y petróleo idóneos para la simulación molecular.
- Analizar los procesos tanto de equilibración como de producción durante la simulación de los sistemas, para determinar la confiabilidad de los resultados.
- Comparar resultados cuantitativos para establecer eficiencias de cada sistema.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes de la Investigación**

Uno de los problemas más graves en la actualidad es la contaminación ambiental ocasionada por el petróleo y productos petroquímicos especialmente cuando se produce por derrames accidentales. Durante el proceso de degradación, en general los compuestos alifáticos se volatilizan, mientras que los compuestos aromáticos persisten. (Riojas H., Torres L., 2010, pp122-124).

Para la eliminación de hidrocarburos existen diferentes métodos como extracción de hidrocarburos por vacío, el lavado del suelo, la incineración y la recuperación electrocinética. La mayoría de estas técnicas son costosas, lo cual obstaculiza su aplicación. Por esta razón, se plantea la posibilidad de buscar alternativas viables para la eliminación de los hidrocarburos presente en los suelos, que además sean ambientalmente amigables. A este respecto, la bioremediación es una técnica de tratamiento, que utiliza seres vivos como microorganismos o plantas para conseguir eliminar contaminantes mediante biodegradación utilizando sustratos orgánicos. (Riojas H., Torres L., 2010, pp122-126). (Salager, 2004, pp20-25).

Los surfactantes tienen la capacidad de incrementar la biodisponibilidad del hidrocarburo, actúan en la desorción y a la vez en la solubilización del contaminante, dando lugar a transferencia de masas y biodegradación, sin embargo, los surfactantes también pueden actuar como agentes tóxicos para la población indígena microbiana. (Riojas H., Torres L., 2010, pp125-128).

La simulación molecular ha sido una herramienta fundamental para el estudio de las agregaciones que se ocurren entre asfaltenos en soluciones de tolueno y heptano. Los asfaltenos son solubles en solventes aromáticos como el tolueno y son insolubles en alcanos como el heptano. Acorde a estudios desarrollados por Headen, se evidencia la formación de nano agregados de asfaltenos en períodos de 1 a 1.5 ns, en concentraciones de 10mg/l. (Headen, T, 2009, pp.1222).

Los Rhamnolipidos son biosurfactantes que han demostrado a nivel experimental su efectividad en la remoción de hidrocarburos, por el método de lavado de suelos. Esto se debe a su gran capacidad para reducir la tensión interfacial y superficial del sistema facilitando el transporte del contaminante. (Urum, K; Pekdemir, T. 2004, pp. 1139).

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Suelo e Hidrocarburos**

#### **2.2.1.1. Suelo.**

Es considerado como sistema abierto biogeoquímico de multicomponentes altamente variable con el tiempo, está sometido a flujos de masa y energía tanto en la atmosfera, biosfera e hidrosfera. (Schroeder, Randy H., Rodriguez, 1999, p 160-168).

#### **2.2.1.2. Hidrocarburos como contaminante**

Los contaminantes orgánicos constituyen un grupo formado por innumerables sustancias que en su gran mayoría son de origen antropogénico. Los hidrocarburos comprenden sustancias formadas por cadenas compuestas por átomos de carbono e hidrogeno y de sus derivados. Se puede considerar como principales contaminantes los HAP`s (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos), Benceno y COV`s (Compuestos Orgánicos Volátiles). El parámetro medible para contaminación por hidrocarburos son los TPH (Hidrocarburos Totales de Petróleo) (Schroeder, Randy H., Rodriguez, 1999, p 160-170).

#### **2.2.1.3. Degradación de Hidrocarburos en el Suelo**

El petróleo crudo contiene mutagénicos, carcinogénicos y componentes inhibidores del crecimiento, los cuales pueden causar efectos tóxicos en los organismos. La degradación de hidrocarburos depende de la presencia y tipo de microorganismos, composición de hidrocarburos, oxígeno disponible, agua, temperatura, pH y nutrientes inorgánicos. Los hidrocarburos son hidrofóbicos y se unen firmemente a partículas del suelo, con la adición de surfactantes se incrementa la superficie de contacto de los hidrocarburos y mejora la movilidad y solubilidad para una degradación efectiva por parte de microorganismos. Algunos métodos que usan biosurfactantes sugieren el tratamiento de suelos en Bioreactores, sin embargo, en los procesos in situ actúan como emulsificante del hidrocarburo y facilitan su solubilidad para posteriormente obtener movilidad. (Van Dike, M.I. 1993, pp 1071-1076)

### **2.2.2. Biorremediación**

Proceso desarrollado por organismos vivos, principalmente microorganismos primarios en el cual a través de transformaciones metabólicas de los organismos, el contaminante es degradado y transformado en formas inocuas o menos tóxicas, siendo ésta la principal

herramienta de mitigación de contaminación ambiental. Dichos procesos pueden ocurrir tanto en ambientes controlados como en la naturaleza. Los organismos utilizados pueden ser indígenas u organismos aislados de otros medios, los cuales son ubicados en el sitio donde se encuentra el contaminante y son estimulados para propiciar procesos de degradación. En la actualidad ha existido un incremento de investigaciones y desarrollo en este campo es abrumador. Se han desarrollado investigaciones especialmente en diversidad genética y metabólica de organismos, cualidades esenciales para la transformación de contaminantes, para una recolocación de componentes a ciclos biogeoquímicos de la naturaleza. (Garbisu, C., Amezcua, I. y Alkorta, I. 2002, pp 20-25.) (Lladó, S., 2010, pp21-24) (Vidali, M. 2001, pp. 1164).

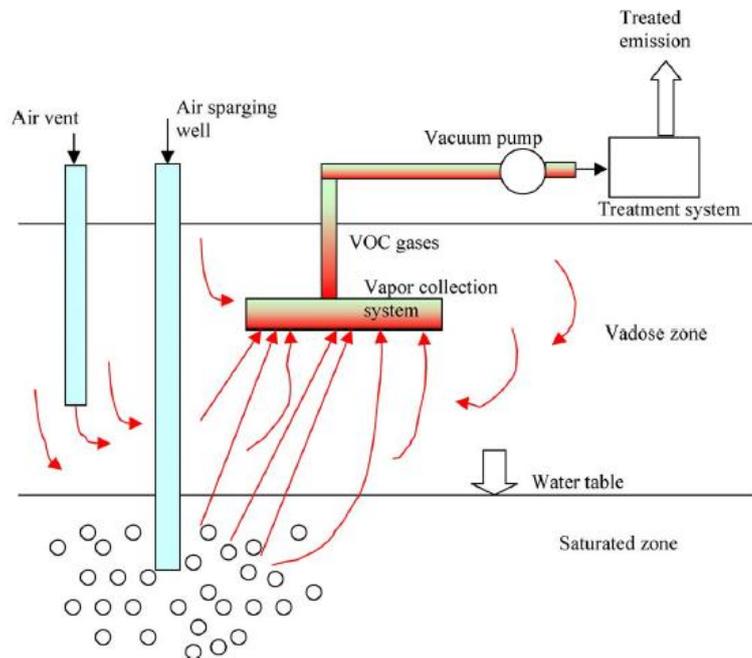
### **2.2.2.1. Técnicas de Remediación de Suelo**

#### **2.2.2.1.1. Lavado de Suelo**

Este proceso utiliza líquidos como agua y mezclas de agua con solventes, conjuntamente con un proceso mecánico para remover el suelo. Para utilizar un solvente se considera principalmente la habilidad de éste para solubilizarse con el contaminante específico a removerse del suelo, considerando a su vez los efectos en el ambiente y la salud. Los hidrocarburos tienden a concentrarse en las partículas más pequeñas del suelo, por lo que como parte del proceso de lavado de suelo, se realiza en primer lugar una separación por tamaño de partícula, lo cual reduce la cantidad de suelo contaminado. El lavado de suelo comúnmente se combina con otras técnicas como incineración o bioremediación, donde se da tratamiento y disposición final al suelo contaminado. Esta técnica es recomendada para remoción de metales pesados, HAP's, pesticidas, hidrocarburos y COV's (Compuestos Orgánicos Volátiles. (Khan, F., 2004, pp. 96)

#### **2.2.2.1.2. Extracción por vapor**

Es una técnica in-situ que consiste en la instalación de canales horizontales y verticales en el área del suelo contaminado. Se inyecta vapor en el suministro inicial para que este acarree los contaminantes volátiles a través del espacio contaminado hasta el canal de extracción. Los vapores de extracción son tratados posteriormente, generalmente por adsorción de carbono. A pesar, de que esta técnica es utilizada para la remoción de COV's, la corriente de aire que se inyecta dentro del suelo contaminado también estimula la biodegradación de otros contaminantes, especialmente los que son menos volátiles. Esta técnica también es usada en aguas subterráneas. En la Figura 2-1. Esquema del proceso de Extracción por Vapor, se puede observar el proceso de extracción por vapor. (Khan, F., 2004, pp. 97)



**Figura 1-2.** Esquema del proceso de Extracción por Vapor

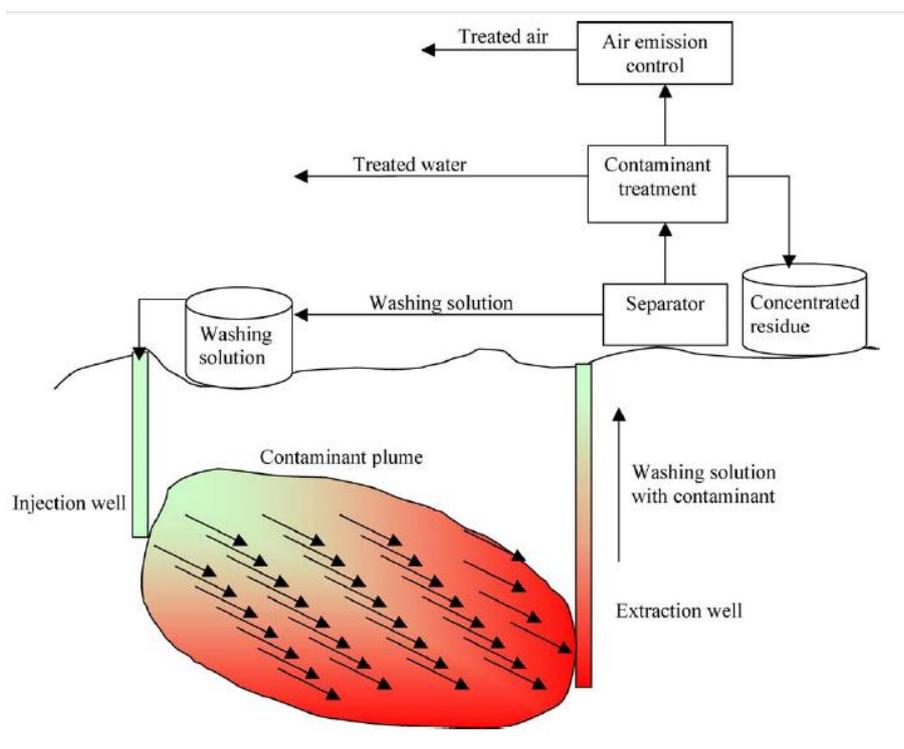
Fuente: Khan, F. *Journal of Environmental Management* 71 pp.97

### 2.2.2.1.3. Landfarming

Landfarming es una tecnología en la superficie del suelo, que reduce las concentraciones de los contaminantes presentes en el suelo por medio de procesos asociados a la bioremediación. Esta técnica consiste en disgregar el suelo en una superficie plana, creando una capa no mayor a 1.5m de altura, con una constante aireación, adición de nutrientes, minerales y agua. Se realiza una selección de bacterias idóneas para degradar el contaminante y se realiza movimiento de arado constante en la superficie de la capa, este proceso brindará el suficiente oxígeno al proceso de biodegradación. Su aplicación está limitada a concentraciones de TPH < 50.000 ppm, otro factor importante a considerar en este tipo de tratamiento es que se necesita una vasta extensión de superficie para realizar el tratamiento y que se debe realizar un pretratamiento para extraer los COV's y evitar contaminación en el ambiente. (Khan, F., 2004, pp. 98).

#### 2.2.2.1.4. *Enjuague de Suelo*

Es una nueva tecnología que enjuaga el suelo contaminado utilizando siempre una solución que ayuda al transporte del contaminante al área deseada para poder ser removida. El enjuague de suelo o flushing consiste en pasar un fluido de extracción a través de suelos contaminados utilizando un proceso de inyección o infiltración. El fluido de extracción es capturado y bombeado a la superficie mediante pozos simples de extracción. Este proceso también es usado para la recuperación mejorada de petróleo. Ya que el fluido de extracción recibe un tratamiento de separación de los solventes. La Figura 2-2. Esquema Proceso Flushing in-situ, muestra dicho proceso. Para el uso de esta técnica en compuestos hidrofóbicos es necesario el uso de surfactantes o solventes orgánicos. (Khan, F., 2004, pp. 99)



**Figura 2-2.** Esquema Proceso Flushing-in situ

Fuente: Khan, F. *Journal of Environmental Management* 71pp.99

#### 2.2.2.1.5. *Solidificación*

También llamada estabilización, generalmente se refiere a la reducción de la movilidad de los contaminantes en el ambiente tanto físico como químico, convirtiéndolos en compuestos menos solubles, inmóviles y a la vez menos tóxicos. Consiste en la

encapsulación de materiales contaminantes o residuos en un sólido inmóvil por medio de técnicas como la vitrificación. (Khan, F., 2004, pp. 100)

#### **2.2.2.1.6. Desorción Termal**

Es una técnica innovadora donde el suelo es excavado, separado y calentado para extraer el petróleo del suelo. El suelo es sometido a altas temperaturas entre 100-600°C, por lo que, los contaminantes volátiles con punto de ebullición inferiores a estos valores, se transforman en gases para recibir un tratamiento posterior.

Comúnmente esta técnica es confundida con incineración, la cual busca destruir el contaminante, sin embargo, la desorción térmica tiene como objetivo transformar los contaminantes en formas más simples o de fácil tratamiento. (Khan, F., 2004, pp. 100)

#### **2.2.2.1.7. Biopilas**

Este tratamiento conlleva a la construcción de biopilas en el suelo contaminado, por lo que se necesita aireación continua para simular un ambiente adecuado para la actividad aeróbica microbiana, lo cual se logra con la adición de minerales, nutrientes y sustratos. Además la temperatura y pH pueden ser controladas para estimular la biodegradación. Las áreas de tratamiento deben contener una capa impermeable de protección para evitar la infiltración de lixiviados, producto de la degradación microbiana, hacia el suelo no contaminado. Si existe COV's como contaminante en el suelo es necesario un pre tratamiento del suelo o un sistema integrado para la gestión adecuada de los gases. (Khan, F., 2004, pp. 101)

#### **2.2.2.1.8. Fitoremediación**

La Fitoremediación es una técnica que utiliza plantas para limpiar el suelo o agua contaminada. Esta técnica explota la capacidad de las plantas de capturar, acumular y/o degradar constituyentes que están presentes en el agua o en el suelo. Todas las plantas extraen los componentes necesarios incluyendo nutrientes, metales pesados y otros compuestos orgánicos. Adicionalmente, algunas tienen la capacidad de ser hiperacumuladoras, lo cual les da la capacidad de absorber compuestos y acumularlos, fijarlos y hasta degradarlos en compuestos más simples. Dentro de los mecanismos realizados por la planta tenemos: rizofiltración, fitoextracción, fitotransformación, fitoestimulación y fitoestabilización. Una de las ventajas del uso de esta técnica es que los

contaminantes pueden ser transformados en sus formas más simples como dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (H<sub>2</sub>O). (Khan, F., 2004, pp. 102)

#### **2.2.2.1.9. Aireación**

Esta tecnología evapora los compuestos volátiles contaminantes del suelo hacia el aire. El suelo contaminado es muy bien distribuido en el área de tratamiento y se lo debe mover para incrementar el rango de evaporación. Los vapores recolectados deben recibir un tratamiento posterior. La desventaja de este método es que no se lo puede realizar en zonas urbanas o en lugares donde los vapores puedan causar daños a la salud o incendios. Esta técnica se emplea en mayor proporción para tratamiento de aguas contaminadas, ya que la aireación estimula la biodegradación de los contaminantes y no solo la separación como ocurre en el suelo. (Khan, F., 2004, pp. 103)

En el Anexo 1 se puede encontrar la Tabla 2-1 Técnicas de Remediación de Suelos y Factores Determinantes, donde se puede comparar información detallada acorde a cada técnica, y de esta manera escoger la técnica que se ajuste a las necesidades de tratamiento.

#### **2.2.3. Surfactantes**

Surfactante es una abreviación para la denominación “Agente con superficie activa”, lo cual significa que es un componente activo en su superficie. Es decir, está caracterizado por su tendencia a absorber en superficies e interfaces. Interface se denomina al límite entre dos fases inmiscibles. (Holmberg, K. 2004, pp. 367-369)

Los surfactantes también se los puede describir como moléculas anfifílicas, ya que posee doble afinidad por lo que no se encuentra "cómoda" en el seno de un solo solvente, ya sea este polar o apolar (solvente orgánico), por esta razón dichas moléculas presentan una fuerte tendencia a migrar a las interfaces, con su grupo polar solvatado por un solvente polar y el grupo apolar orientado hacia el solvente orgánico o la superficie (aire). (Salager, 2002, pp.5)

Los surfactantes (Surfactant) tienen su nombre como contracción de las palabras inglesas "surface-active-substances", este término es equivalente a la vez a tensoactivo, el cual es usado en español para referir a una actividad o acción sobre la tensión superficial o interfacial. (Salager, 2002, pp.10)

Generalmente las moléculas anfífilas tienen la capacidad de autoasociación, especialmente cuando el compuesto polar está saturado, a partir de ello se forman las micelas. (Salager, 1993, pp.3)

### **2.2.3.1. Tipos de Surfactantes**

Aunque usualmente se clasifica a los surfactantes por su uso comercial, sin embargo, en esta investigación se los clasificará acorde a la estructura molecular, que constituye un sistema de clasificación más adecuado para los objetivos del presente proyecto. (Salager, 2002, pp.8)

La clasificación de surfactantes está realizada en base a la carga de la cabeza polar, por lo que tenemos aniónicos, catiónicos, no-iónicos y anfóteros. (Holmberg, K. 2004, pp. 367-370)

#### **2.2.3.1.1. Surfactantes Aniónicos**

Son aquellos que en solución acuosa se disocian en un anión anfífilo y un catión, el cual es generalmente un metal alcalino o un amonio cuaternario. Carboxilato, sulfato y fosfatos son los grupos polares que se encuentran en los surfactantes aniónicos. Este tipo de surfactantes es el de mayor producción a nivel mundial de los 10 millones de toneladas que se producen anualmente aproximadamente el 60% son surfactantes aniónicos. Los surfactantes aniónicos son usados en la mayoría de formulaciones para detergentes, como: alquilbenceno sulfonatos, jabones, lauril éster sulfato, entre otros. (Salager, 2002, pp.50-58) (Holmberg, K. 2004, pp. 367-369)

#### **2.2.3.1.2. Surfactantes No-Iónicos**

Son los surfactantes en segundo orden de importancia industrial después de los aniónicos. Poseen grupos polares no ionizados ya sea, unidades de poliéster o polihidroxil, debido a ello no forman iones en solución acuosa. Generalmente son compatibles con todos los tipos de surfactantes y no son sensibles al agua dura. Sus propiedades fisicoquímicas no son afectadas por electrolitos. (Salager, 2002, pp.50-58) (Holmberg, K. 2004, pp. 367-369)

#### **2.2.3.1.3. *Surfactantes Catiónicos***

La mayoría de surfactantes catiónicos poseen al nitrógeno como átomo con carga catiónica; sin embargo, también pueden presentar cualquier anión de tipo halogenado. Debido a que el costo de producción es mucho más alto estos surfactantes solamente se aplican en utilidades especiales donde la carga positiva del anfifílico produce ventajas como en enjuagues o emulsiones asfálticas o efectos bactericidas en sustratos biológicos o inertes que poseen carga negativa. Esta cualidad permite que sean agentes antiestáticos, hidrofobantes y a la vez inhibidores de corrosión. Al ser hidráulicamente estables los cationes presentan una mayor toxicidad acuática que los otros grupos de surfactantes. (Salager, 2002, pp.50-58) (Holmberg, K. 2004, pp. 367-370)

#### **2.2.3.1.4. *Surfactantes Anfóteros***

Contienen los dos grupos de carga positivo y negativo, sin embargo en casi todos los surfactantes de este tipo la carga positiva es un amonio, mientras que la carga negativa puede variar pero el carboxilo es el más común. Ejemplos de este tipo de surfactantes son los aminoácidos, betaínas y los fosfolípidos. El alto costo de producción limita su fabricación. Aunque los surfactantes de este tipo son los de menor tamaño son compatibles con todas las clases de surfactantes, y muestran muy baja irritación en piel y ojos, incluso pueden ser utilizados en shampoo y otros productos de uso personal. (Salager, 2002, pp.50-58) (Holmberg, K. 2004, pp. 367-369)

#### **2.2.3.1.5. *Biosurfactantes***

Son compuestos producidos ya sea en superficies celulares microbianas o excretadas extracelularmente, contienen porciones hidrofílicas e hidrofóbicas, que reducen la tensión superficial e interfacial y además pueden ser degradados por microorganismos. Los biosurfactantes exhiben propiedades emulsificantes y deben tener una de las siguientes estructuras: ácido micólico, glicolípidos, complejos de lipo- polisacáridos, lipoproteínas o lipopéptido, fosfolípidos. Son muy útiles en bioremediación de contaminantes orgánicos insolubles en el suelo y ambientes marinos (Van Dike, M.I. 1993, pp 1073-1076).

El Rhamnolipido producido por *Pseudomonas aeruginosa* ha sido uno de los biosurfactantes más estudiados y caracterizados para la remoción de contaminantes del suelo, se ha determinado que son potentes emulsificadores, con un valor CMC (Concentración Micelar

Crítica) bajo. Además se ha encontrado que mejoran la remoción de contaminantes hidrofóbicos de materiales sólidos por efectos de lavados en sistemas acuosos. Por sus características se considera que se debe usar en remediación de suelos contaminados con hidrocarburos ya sea in situ o en biorreactor. Con el uso directo de *Pseudomona aeruginosa* UG2 se encontró que se produce una alta actividad emulsificadora cuando se siembra en varios sustratos. Se estimada que los biosurfactantes en general recuperan más del 50% de hidrocarburos, aunque ello depende del tipo de hidrocarburo. (Van Dike, M.I. 1993, pp 1071-1078)

#### **2.2.3.2. Impacto ambiental de los surfactantes**

Los surfactantes son compuestos que no son utilizados únicamente en la industria, sino también, en cada uno de los hogares., sin embargo, a pesar de su gran utilidad también representan una amenaza para el medio ambiente. La capacidad de biodegradación conjuntamente con el grado de toxicidad acuática, determinarán el impacto ambiental. La OECD (Organización para la Cooperación Económica Y el Desarrollo) posee lineamientos y directrices para dicha evaluación. (Holmberg, K. 2004, pp. 367-369)

##### **2.2.3.2.1. Toxicidad Acuática.**

Este valor es medido en peces o algas. La toxicidad para peces está dada por LC<sub>50</sub> en peces y EC<sub>50</sub> en algas, donde se evalúa concentración letal y efectiva respectivamente, valores menores a 1mg/l después de 96 horas en peces y 48h en algas son considerados tóxicos. Los valores de surfactantes preferiblemente deben estar bajo 10mg/l en el ambiente. (Holmberg, K. 2003, pp. 205-235)

##### **2.2.3.2.2. Biodegradabilidad**

Los microorganismos son encargados de llevar a cabo el proceso de biodegradación en la naturaleza. Gracias a una serie de reacciones enzimáticas las moléculas de surfactantes pueden transformarse en dióxido de carbono, agua y óxidos de otros elementos. Los surfactantes tienen rangos de degradación entre 1- 2h en ácidos grasos, 1- 2 días en sulfatos lineales de alquilbencenos, y en varios meses en el caso de ramificaciones de sulfonatos de alquilbencenos. Si un producto no cambia por efectos naturales, entonces es estable y persistente en el ambiente. Para los análisis de Biodegradabilidad es vital el entendimiento de que estos procesos dependen principalmente de la concentración, pH y temperatura. En particular en lugares donde las variaciones de temperaturas con extremas, se debe considerar que la degradación en verano es alrededor de cinco veces mayor que en invierno. Según la OECD para que se considere que un surfactante no produce impacto

ambiental debe presentar total degradación del 60% de CO<sub>2</sub> en un máximo de 26 días.  
(Holmberg, K. 2003, pp. 205-235)

#### **2.2.3.2.3. Bioacumulación**

Los procesos de biodegradación siempre requieren algún tipo de ambiente acuático, esto hace que no se pueda desarrollar este fenómeno con compuestos orgánicos hidrofóbicos y así manifestarse como persistentes en la naturaleza. Para la evaluación de este efecto se realiza el análisis de factor de partición octanol-agua P. Se considera bioacumulable un surfactante si  $\log P_{oct/w} > 3$ . (Holmberg, K. 2004, pp.368)

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Hipótesis y variables**

##### ***3.1.1. Hipótesis General***

Los biosurfactantes promueven la bioremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

##### ***3.1.2. Hipótesis Específicas***

- La identificación de estructuras representativas del petróleo proporcionan un modelo suficientemente realista para la simulación.
- La selección de un bio-surfactante provee un recurso indispensable para el uso en bioremediación, el cual sea biodegradable y de fuentes renovables.
- La construcción de modelos idóneos de petróleo, surfactante control y bio-surfactante son herramientas indispensables para la simulación molecular.
- El análisis de procesos de equilibración y producción durante la simulación de los sistemas son determinantes para la confiabilidad de los resultados.
- La comparación de resultados cuantitativos provee información para la evaluación de la eficiencia del biosurfactante.

##### ***3.1.3. Identificación de Variables***

###### ***3.1.3.1. Variable Independiente***

- Biosurfactantes

###### ***3.1.3.2. Variable dependiente***

- Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

###### ***3.1.3.3. Variables Intervinientes***

- Temperatura
- Presión

### 3.2. Tipo y Diseño de la investigación

Esta investigación es del tipo experimental, partiendo del supuesto de que todo fenómeno está influido directa o indirectamente por muchas variables del entorno. Siendo así, en la investigación se manipulará la variable independiente (Biosurfactantes) y las variables intervinientes (Temperatura y Presión), para posteriormente observar su efecto en la variable dependiente (Bioremediación de Suelo contaminado con petróleo). A partir de los resultados se pretende conocer las consecuencias de dichas manipulaciones.

La investigación tiene un enfoque cuantitativo, por lo que los datos recogidos han sido analizados en relación a la explicación de fenómenos que se desarrollan dentro de los diferentes sistemas. Estas observaciones y análisis se han perfeccionado en condiciones controladas.

El diseño experimental corresponde a un Experimento Puro con esquema de medición posterior y un grupo control dentro de toda la población, por lo que no es necesario realizar grupos con aleatoriedad.

El esquema del diseño experimental es:

**Tabla 1-3.** Diseño Experimental

GC <sub>1</sub> *	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
GC <sub>2</sub> *	X <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>
GE <sub>1</sub> *	X <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>
GE <sub>2</sub> *	X <sub>2</sub>	O <sub>4</sub>

Elaborado Por: Sara Vaca

Siendo:

GC: Grupo control (Asfaltenos)

GE: Grupo experimental (Asfaltenos)

X<sub>1</sub>: Surfactante Químico

X<sub>2</sub>: Biosurfactante

O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> y O<sub>4</sub>: Mediciones de variable dependiente.

\* Los subíndices <sub>1</sub> y <sub>2</sub> indican las diferentes concentraciones de solvente de los asfaltenos que presenta cada grupo experimental. El subíndice <sub>1</sub> pertenece a la concentración 75% tolueno y 25% heptano. Mientras que para el subíndice <sub>2</sub> pertenece a la concentración de solvente de 55% de tolueno y 45% de heptano.

### **3.2.1. Unidad de Análisis**

La unidad de análisis es un sistema complejo de caja en simulación molecular, compuesto por cinco interfaces correspondientes a: tolueno, heptano, asfaltenos, surfactante/biosurfactante y agua. Esta caja representará a los asfaltenos y su dinámica respecto a los surfactantes/biosurfactantes, al ser un sistema de simulación se pretende controlar las variables intervinientes para que el mismo sea lo más realístico.

### **3.2.2. Población de Estudio**

Dentro de la población de estudio está definido el crudo pesado el cual se encuentra principalmente como contaminante en la Amazonía, puesto que la simulación se realizará basada en la estructura química y propiedades físico químicas de los asfaltenos componentes principales de los hidrocarburos pesados.

### **3.2.3. Tamaño de la muestra**

Al ser un investigación desarrollada a nivel de simulación de dinámica molecular en química computacional, no existe una muestra específica pero si los componentes que se utilizarán para ello. Es decir, la caja de dinámica molecular está compuesta por moléculas de tolueno, heptano, hidrocarburos (asfaltenos), surfactante (*Lauril-sulfato*) /biosurfactante (*Rhamnolipido*) y agua, las cuales representan las diferentes interfaces del sistema complejo para el estudio. La caja diseñada tiene un tamaño de 9,6 x 9,6 x 9,6 nm.

### **3.2.4. Selección de la muestra**

El tipo de muestreo utilizado es del tipo No Probabilístico- Por decisión de expertos (Herrera E. Luis 2004). Al utilizar una metodología donde se realiza dinámica molecular es indispensable la selección de la muestra por medio de la opinión técnica, sobre la representación que más se aproxima a las condiciones reales. Hay que considerar que estos modelos seleccionados dejan de lado, componentes traza, compuestos volátiles y la dinámica del medio ambiente; parámetros que son muy difíciles de poder abarcarlos en conjunto dentro de un solo modelo.

El petróleo ecuatoriano, es un crudo pesado que tiene un promedio de 24.3° API. Este crudo está compuesto principalmente por asfaltenos, componentes no volátiles y de difícil movilidad. Considerando esta información este estudio utiliza a los asfaltenos como componente único para representar a los hidrocarburos.

Como modelo para el surfactante químico control, se seleccionó al Lauril sulfato, puesto que es uno de los aditivos de mayor uso en la industria del petróleo, ya sea para lavado de suelos o mejoramiento de transporte de crudo pesado.

Para la representación del biosurfactante se prefirió el Rhamnolipido pues ha sido un biosurfactante extensamente estudiado para la recuperación mejorada de petróleo y la literatura lo sugiere como medio para bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. La síntesis de dicho compuesto es considerada inagotable, pues su síntesis proviene de *Pseudonoma aeruginosa*, la cual utiliza diversos sustratos y es fácilmente adaptable a medios con altas concentraciones de hidrocarburos. (Mulligan, C.N.2001, pp. 375-378), (Van Dike, M.I. 1993, pp 1072-1075).

### **3.2.5. Técnicas de recolección de datos**

La recolección de datos se realizó por medio de la técnica de Observación directa, para obtener los datos directamente del objeto de estudio.

Según la metodología, la recolección de datos se desarrolló de manera estructurada, puesto que se cumplió una planificación con especificaciones técnicas, a partir de ello se analizaron datos por medio de instrumentos tecnológicos del software Wolfram Mathematica y Geogebra.

Según el lugar, es una observación de laboratorio puesto que se han controlado condiciones como presión y temperatura las cuales afectan al sistema construido.

Para la recolección de datos se ha utilizado una Lista de Cotejo Anexo 4, donde se detallan los aspectos relevantes dentro de la investigación y se determina criterios como a) presencia, b) la frecuencia, c) magnitud tanto en el grupo control como el grupo experimental, d) las diferentes concentraciones de solvente entre otros. A partir de esta información se mide la validez de los datos observados frente a la hipótesis planteada.

### **3.2.6. Análisis e interpretación de la información**

Los datos inicialmente se han sometido a los siguientes procesos:

1. Revisión crítica de la información recogida. Eliminando la información defectuosa esto es, contradictoria, incompleta, no pertinente, etc.
2. Tabulación de datos según variables dependientes e independientes.
3. Estudio estadístico de datos en Wolfram Mathematica para presentación de resultados.

La presentación de datos, se han realizado de manera tabular y gráfica.

- Los datos numéricos han sido ordenados en filas y columnas, con especificaciones correspondientes, acorde al tipo y características de dichos datos, estas gráficas se presentan bajo estudios estadísticos mediante la herramienta Geogebra.
- Luego del procesamiento de datos se representan los resultados de manera gráfica para que se puedan visualizar y comparar de forma sencilla, por medio de mapas de calor realizados por Wolfram Mathematica.

### **3.3. Técnicas y Materiales**

#### **3.3.1. Recursos Computacionales**

El proyecto de investigación se realizó en el laboratorio del Grupo de Química Computacional y Teórica de la Universidad San Francisco de Quito, como parte del proyecto CEPRA VII, “Computación de alto rendimiento aplicado al diseño de surfactantes y bio-surfactantes para mejorar la producción y el transporte de crudos en Ecuador: Fase I. Implementación y puesta en marcha del Laboratorio de Modelización Molecular y Simulación. “Líder del proyecto: Miguel A. Méndez, PhD.

Para el desarrollo de los cálculos computacionales se utilizó el HPC-USFQ (High Performance Computer- Universidad San Francisco de Quito)

Especificaciones de los equipos: El sistema operativo instalado es ROCKS 5.1 sobre Centos 6.2.

Head Node:

- 2 Intel E5620 (Quad-Core)
- 2.4GHz
- 52GB RAM
- Compute Node: 8
- 2 Intel X5650 (Six-Core) 2.6GHz
- 96GB RAM
- Compute Node: 4
- 2 Intel E5-2650 (Eight-Core) 2.0GHz
- 96GB RAM

- Storage Unit: 6TB

El HPC-USFQ es un sistema compuesto por un conjunto de servidores multi-procesador destinado para proyectos de investigación sobre simulación. En el HPC están instalados los siguientes programas: Gaussian 09, CRYSTAL 09, VASP 5.3.3., LAMMPS, Gromacs y NAMD.

Para el análisis de resultados, pruebas y redacción se utilizó una laptop con las siguientes características:

- Procesador Intel Core i7
- Frecuencia 2.4GHz
- 8 GB RAM
- 1TB Hard Disk
- Sistema operativo 64 bits
- Tarjeta Gráfica NVIDIA GeForce GT 740M

### **3.3.2. Programas**

**AVOGADRO.-** Es un editor y visualizador molecular avanzado, está diseñado para construir, editar y visualizar moléculas utilizadas en química computacional, modelado molecular, bioinformática, ciencias de los materiales y áreas afines. Ofrece un procesamiento de imagen flexible y de alta calidad visual. (Avogadro, 2006, [http://avogadro.cc/wiki/Main\\_Page](http://avogadro.cc/wiki/Main_Page))

**GROMACS.-** Se desarrolló en el departamento de Química Biofísica de la Universidad de Groningen. Es un paquete versátil para realizar dinámica molecular, y un software libre diseñado para moléculas bioquímicas y polímeros. Además incluye un paquete denominado GROMACS TOOLS utilizado para análisis de trayectoria. (MABRAHAM, 2009, <http://www.gromacs.org/>)

**VMD.-** Es un programa computacional, diseñado para modelación, visualización, análisis de representación tridimensionales de los sistemas biológicos como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos. Esta herramienta lee archivos \*.gro y \*.trj, los cuales son claves para la

visualización de las interacciones moleculares dentro de los sistemas. (VMD, <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>)

**Wolfram Mathematica.** - Herramienta utilizada en el entorno de investigación, análisis, creación de interfaces. En este proyecto se lo utilizó para realizar las gráficas de mapas de calor para esquematizar las diferentes de distancias en los diferentes sistemas y acorde al tiempo de la modelación. (WOLFRAM, 1987, <http://www.wolfram.com>)

**Geogebra.**- Es un software libre matemático que posee herramientas para cálculos de geometría, algebra, estadística y que complementa dichos análisis con gráficas, fue desarrollado con la intención de ser un soporte en todo nivel educativo en las áreas de ciencias, tecnología, ingeniería e innovación. (Geogebra, 2002, <https://www.geogebra.org>)

### **3.3.3. Técnicas**

La presente investigación es desarrollada por métodos computacionales. Esta metodología fue seleccionada principalmente para generar datos realísticos en menor tiempo y bajo costo frente a resultados experimentales.

Esta sección será dividida en orden de desarrollo del proyecto de investigación según el Diagrama en la Figura 4-3.

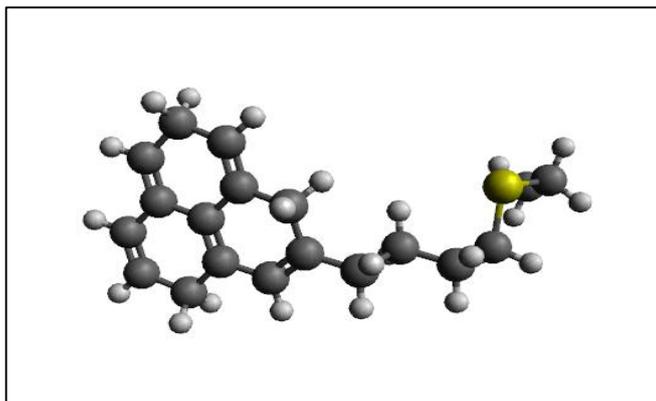
#### **3.3.3.1. Selección de Modelos**

##### **3.3.3.1.1. Asfaltenos**

Después de una exhaustiva revisión bibliográfica, se pudo identificar modelos óptimos para el desarrollo de la investigación. Dentro de los parámetros a analizar es importante el análisis de la agregación de asfaltenos. A partir de ensayos experimentales (Tukhvatullina, A. Z., 2013 pp.2-8) se identificó la concentración a la cual se puede evaluar la agregación.

Para la evaluación de la agregación se utilizó dos ensayos como referencia. El primero con un 75% de tolueno y un 25% de heptano y el segundo con un 55% de tolueno y un 45% de heptano, ambos con una concentración de 5g/L de asfaltenos (Tukhvatullina, A. Z., 2013 pp.3). Los modelos presentados para dichas moléculas eran sumamente grandes (con referencia al número de átomos a ser modelado) lo que implicaba un tiempo de cálculo mayor y posibles problemas al momento de estudiar las interacciones intermoleculares, dado que el modelo archipiélago presentado por los autores (Tukhvatullina, A. Z., 2013 pp.5) ,presenta tres colas las cuales se observó que interactuaban entre sí desde la realización de la minimización del sistema. Para solucionar los problemas asociados con estos modelos se

identificó un fragmento de asfalteno más pequeño pero representativo para el sistema complejo. La Figura 1-3. Fragmento Asfalteno, muestra el fragmento seleccionado y el modelo desarrollado en Avogadro.

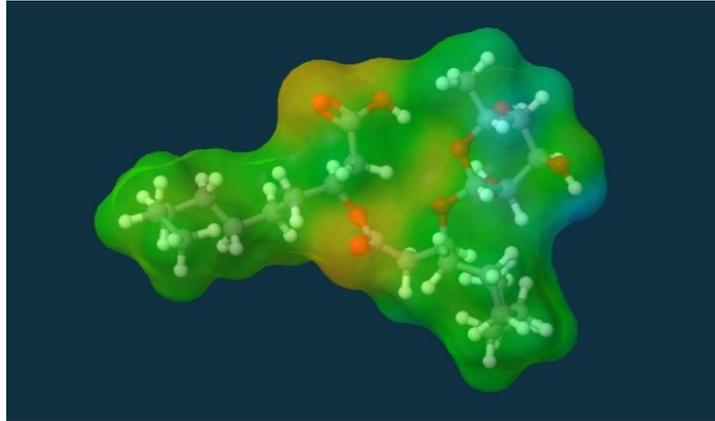


**Figura 1-3.** Representación molecular del fragmento de Asfalteno

Elaborado Por: Sara Vaca

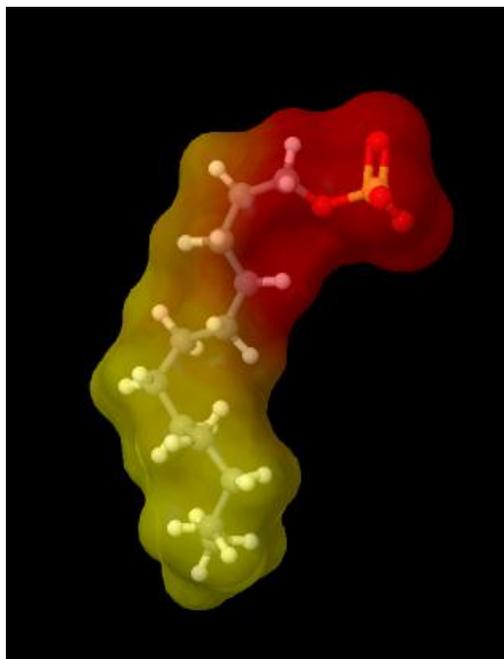
### **3.3.3.1.2. *Surfactantes***

Se identificó el modelo como biosurfactante a Rhamnolipido sencillo de un piso ya que posee mayor solubilidad (Van Dike, M.I. 1993, pp. 1075 ); además, se conoce que el biosurfactante Rhamnolipido es biodegradable bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas, por lo que no representaría un problema en caso de que la micela se adhiera al poro del suelo (Kłosowska-Chomiczewska, I.E., 2011, pp.1-8 ), (Makkar, R. S, 2003, pp 2285-2290). Adicionalmente estudios han determinado que el Rhamnolipido mejora la bioremediación del suelo, aunque en estudios experimentales se sugiere un nivel de toxicidad, dado que al aumentar la concentración de Rhamnolipido, decae la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* (lechuga). Asimismo estos estudios mostraron que el Rhamnolipido es adecuado para la biodegradación de crudo (Cabrera-Valladares, N. 2006, pp. 190). La Figura 2-3, muestra la molécula del biosurfactante Rhamnolipido rodeado de sus fuerzas electrostáticas y la Figura 3-3, muestra la molécula del Lauril sulfato.



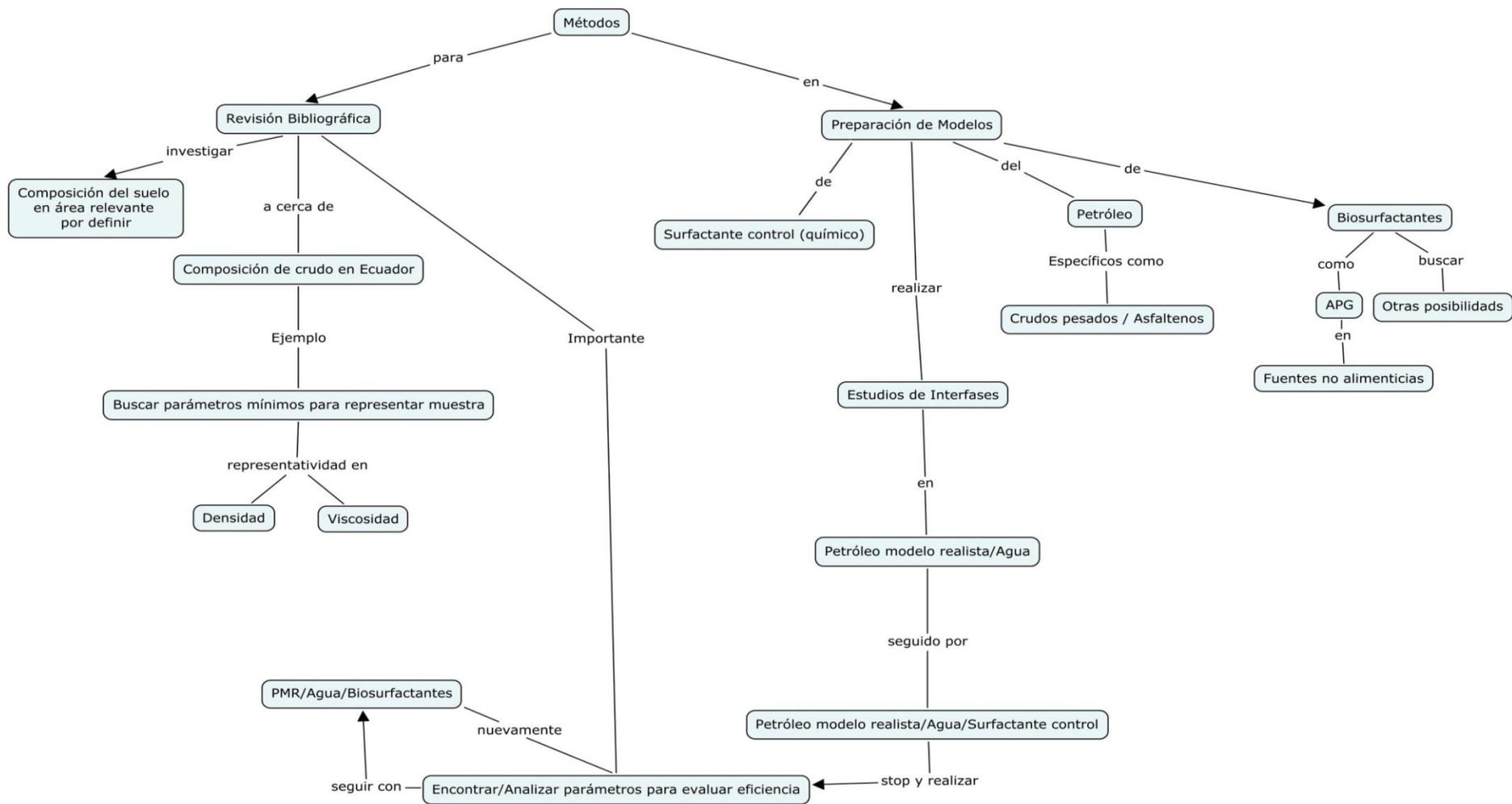
**Figura 2-3.** Biosurfactante Rhamnolipido

Elaborado por: Sara Vaca



**Figura 3-3.** Surfactante Laurilsulfato

Elaborado por: Sara Vaca

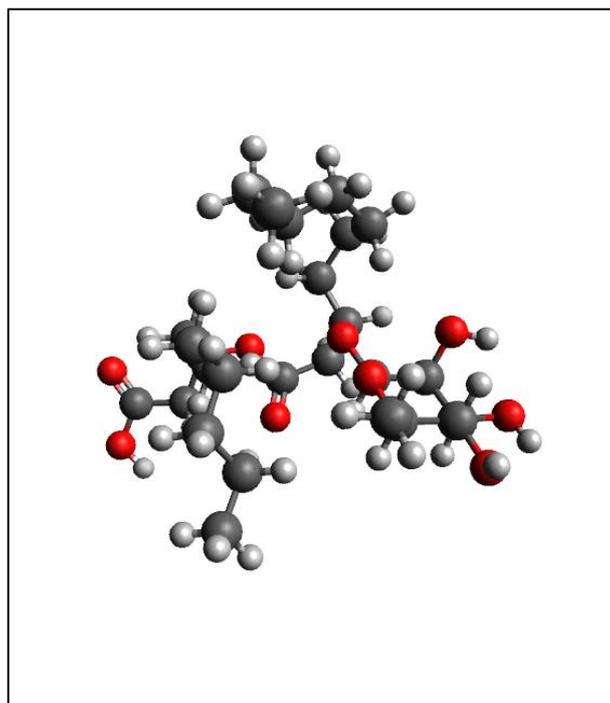


**Figura 4-3.** Diagrama general de desarrollo del proyecto de investigación

Elaborado por: Sara Vaca

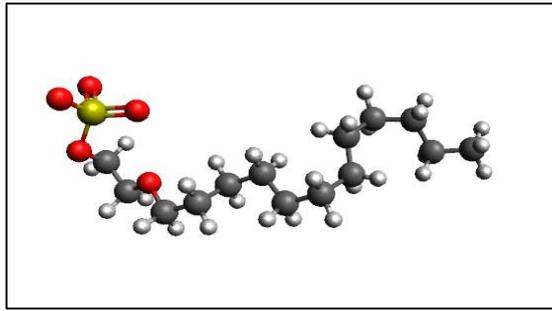
### 3.3.3.2. *Construcción de Modelos Estructurales Iniciales*

Los modelos moleculares de tolueno, heptano, asfaltenos, Rhamnolípido y Lauril-sulfato, fueron construidos mediante el software Avogadro, donde además se realizó la optimización preliminar de cada una de las estructuras. Posteriormente para obtener los archivos de topología y optimización energética y geométrica, se enviaron los modelos moleculares a la plataforma y repositorio “Automated Topology Builder” perteneciente a University of Queensland, Australia (<http://compbio.biosci.uq.edu.au/atb/>). Los resultados utilizados para el presente proyecto son tomados a partir del modelo United Atom y el campo de fuerza utilizado es Gromos53a6. Este campo de fuerza fue seleccionado debido a que ha sido validado tanto en proteínas como en compuestos biológicos como el ADN (Oostenbrink, C., 2005, pp 275-278), lo cual muestra que puede funcionar con moléculas complejas y de esta forma obtener la topología de moléculas no proteicas. A continuación se presentan las Figuras de los compuestos utilizados para la simulación:



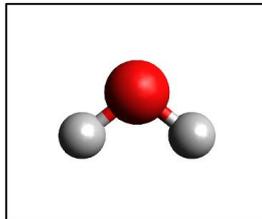
**Figura 5-3.** Representación molecular del Rhamnolípido.

**Elaborado Por:** Sara Vaca



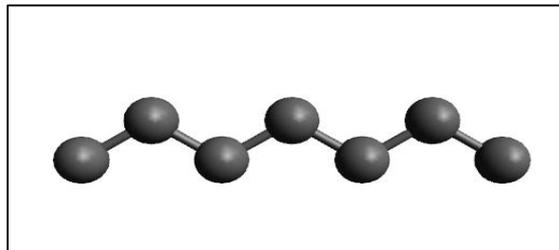
**Figura 6-3.** Representación molecular del Lauril-Sulfato

Elaborado Por: Sara Vaca



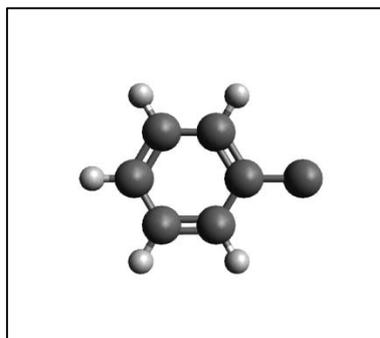
**Figura 7-3.** Representación molecular del Agua-Solvente

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 8-3.** Representación molecular del Heptano

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 9-3.** Representación molecular del Tolueno

Elaborado Por: Sara Vaca

### 3.3.3.3. *Construcción de Sistemas*

La construcción de los sistemas ha sido desarrollada en el HPC-USFQ, directamente en Red y ejecutando los algoritmos desde el Programa GROMACS, la versión utilizada es GROMACS 4.6.4. En el Anexo 3. Protocolo General de Construcción de Cajas, se reporta más detalle sobre su construcción.

#### 3.3.3.3.1. *Sistema Trifásico “Tolueno-Heptano-Asfateno”*

Para construir un sistema trifásico, se inicia ensamblando un sistema bifásico de solventes heptano/tolueno, utilizando una caja contenida con 10 moléculas de asfaltenos. Los datos utilizados para el cálculo de las concentraciones y número de moléculas se encuentran detallados en la **Tabla 2-3**. Descripción General de Moléculas.

#### **Volumen de caja:**

La determinación del volumen de la caja se realizó en base a la concentración de asfaltenos para que esta información sea comparable con la información experimental. El detalle de los cálculos se encuentra en el Anexo 2. Cálculos Generales para la Construcción de Sistemas.

A partir de esta información las cajas fueron construidas con las siguientes dimensiones:

***Dimensiones de caja*** = 9.6 nm x 9.6 nm x 9.6 nm

Se construyeron dos sistemas ST7525: Sistema Trifásico Heptano75% y Tolueno25% y el ST5545: Sistema Trifásico Heptano55% y Tolueno 45%, los cuales en base a cálculos de concentración se determinó el número de moléculas presentes en los mismos respectivamente. En la **Tabla 3-3**. Distribución Molecular en Sistemas Trifásicos, se detalla dicha información acorde a cada sistema.

**Tabla 2-3.** Descripción General Moléculas

Moléculas	Fórmula	Peso Molecular	Densidad Experimental/ Concentración
Tolueno	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	92.14 g/L	866.90 g/L
Heptano	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	100.21 g/L	684 g/L
Fragmento de Asfalteno	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> S	284 g/L	<1000g/L
Rhamnolipid (Biosurfactante)	C <sub>26</sub> H <sub>48</sub> O <sub>9</sub>	504 g/L	1002 g/L
Lauril-Sulfato	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> S	266 g/L	1010 g/L
Agua	H <sub>2</sub> O	18 g/L	999.97 g/L

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 3-3.** Distribución Molecular en Sistemas Trifásicos

Número de moléculas	ST7525	ST5545
Tolueno	2743	2269
Heptano	1260	2011
Asfalteno	10	10
Agua	4847	4303

Elaborado Por: Sara Vaca

### 3.3.3.3.2. Sistema Total “Tolueno-Heptano-Asfalteno-Surfactante”

Para construir el sistema total, inicialmente se construyó una caja de surfactantes, de Lauril-sulfato y de Rhamnolípido, teniendo en cuenta el número de moléculas generadas a partir de varias simulaciones que nos indicaron el punto de saturación de los surfactantes frente a una película de 40.5 nm<sup>3</sup>(0.5nmx9nmx9nm) de agua. A continuación en la **Tabla 4-3.** Distribución de Moléculas por Sistemas Finales, se encuentra detallado el número de moléculas presentes.

**Tabla 4-3.** Distribución de Moléculas por Sistemas Finales

Número de moléculas	ST7525 Rhamnolipido	ST5545 Rhamnolipido	ST7525 Lauril-Sulfato	ST5545 Lauril-Sulfato
Tolueno(WGSK)	981	1779	1009	1855
Heptano (G013)	2066	1498	2118	1578
Asfalteno (KK5B)	10	10	10	10
Agua (SOL)	4697	4181	4731	4903
Surfactante	30	28	30	30
Iones	0	0	30	30

Elaborado Por: Sara Vaca

Los Sistemas que contienen Lauril-Sulfato no se podía enviar a cálculo directamente, pues tenía cargas negativas por lo que adicionalmente poseen 30 iones de Sodio (Na), para neutralizar la carga del sistema. Todos los Sistemas fueron visualizados con VMD.

#### **3.3.3.4. Mecanismo molecular de refinamiento**

El refinamiento de los sistemas ha sido desarrollado en el HPC-USFQ, directamente en Red y ejecutando desde el Programa GROMACS, la versión 4.6.4. Para que el ensamble de moléculas de cada sistema tenga veracidad en los datos y no existan datos incoherentes, se preparó al Sistema con Minimización Energética. Posteriormente se ejecutó simulación de dinámica molecular atomística con el ensamble, NVT (N. Número de partículas, V. volumen y T. temperatura constante), una simulación NPT. Finalmente se desarrolló la simulación denominada de producción que es la fase que realmente genera los datos útiles para sacar conclusiones comparables con los sistemas reales.

##### **3.3.3.4.1. Minimización**

Antes de comenzar la dinámica, se tuvo que garantizar que el sistema no tiene impedimentos estéricos ni una geometría inadecuada de alguno de los grupos de átomos en las moléculas del sistema. La estructura se relajó mediante un proceso llamado minimización de la energía (EM).

Este proceso se desarrolló durante 5000 pasos suficiente número para relajar al sistema. Los archivos de fuente necesarios para estos cálculos computacionales son: \*.gro (descripción molecular por cada átomo del sistema íntegro), \*.top (topología o posición por cada átomo del sistema íntegro), \*.tpr (archivo binario que contiene la información respectiva tanto de descripción como de topología) y md.mdp (archivo que contiene las instrucciones sobre el tipo de simulación y condiciones específicas para esta simulación).

##### **3.3.3.4.2. Equilibrio – NVT (Número de partículas, volumen y temperatura constante)**

La minimización energética aseguró que se tiene un sistema inicial razonable, en base a la orientación de la geometría y el solvente. La equilibración –NVT también se conoce como ensamble "isotermo-isocórico" o ensamble "canónico". Dicho proceso se ejecutó puesto que para iniciar la dinámica real, es necesario que todos los compuestos del sistema interactúen entre sí, minimizando las fuerzas de repulsión y maximizando interacciones intermoleculares que bajen la energía total del sistema. Observaremos como resultado que el solvente cambia su disposición original con respecto a los varios componentes del sistema tolueno-heptano-asfaltenos-surfactantes. Para ello cada sistema fue llevado hasta la temperatura de 200°C, y fue ejecutado por 1'000.000 de pasos correspondiente a 2 ns de tiempo de simulación. La temperatura utilizada evita un sobrecalentamiento del sistema

por la variedad de componentes presentes. El tiempo es equivalente a un mayor muestreo del espacio de configuraciones del sistema.

Los archivos de fuente utilizados son \*.gro, archivo obtenido a partir de la minimización, \*.top, \*.tpr y nvt.mdp (archivo de referencia para la ejecución de los procesos).

#### **3.3.3.4.3. Equilibrio – NPT (Número de partículas, presión y temperatura constante)**

El paso anterior, equilibrio NVT, estabilizó la temperatura del sistema. Antes de la recolección de datos, también se fijó la presión (y por lo tanto también la densidad) del sistema. El equilibrio de presión fue llevado a cabo bajo un conjunto NPT, donde el número de partículas, la presión y la temperatura fueron constantes. Este proceso también es llamado "isotermo-isobárico" y se asemeja más estrechamente a las condiciones experimentales. Para este proceso cada sistema fue llevado hasta la temperatura de 300°C, la misma que se utilizó para simular condiciones experimentales, y fue desarrollado a un plazo de 1'000.000 de pasos correspondiente a 2 ns.

Los archivos de fuente utilizados son \*.gro, archivo obtenido a partir del equilibrio NVT, \*.top, \*.tpr, \*.cpt (estabilidad térmica del sistema, archivo fuente del NVT) y npt.mdp (archivo de referencia para la ejecución de los procesos).

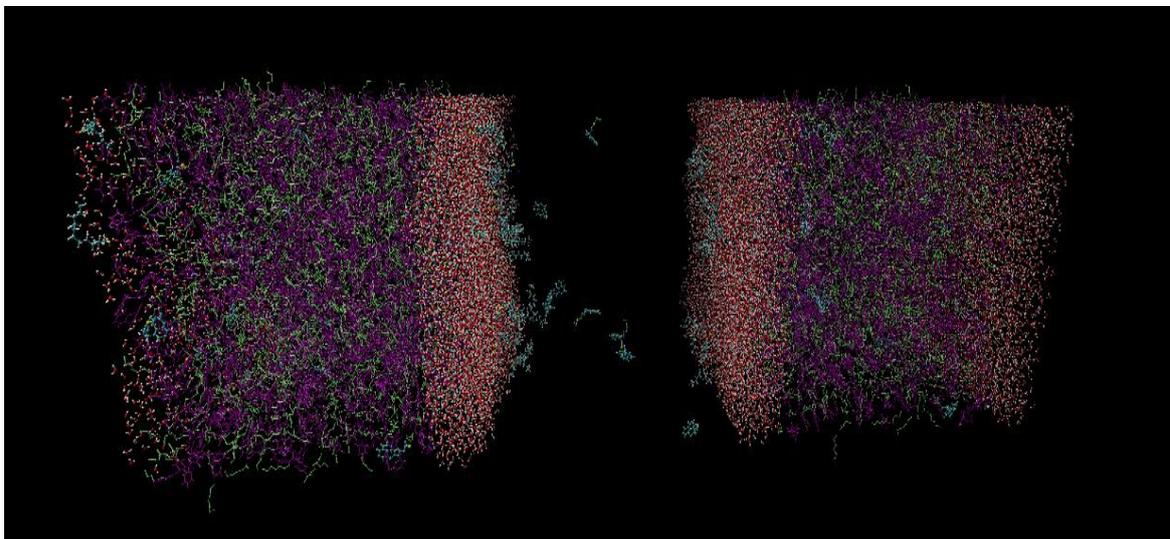
#### **3.3.3.4.4. Etapa de Producción-Dinámica Molecular**

Al terminar las dos fases de equilibrio, el sistema se presentó bien equilibrado en la temperatura y la presión. Después de ello se pudo liberar las restricciones de posición y ejecutar la producción MD para la recolección de datos. Para este proceso cada sistema fue llevado hasta la temperatura de 300°C, la misma que se utilizó para simular condiciones experimentales, y fue desarrollado a un plazo de 10'000.000 de pasos correspondiente a 20 ns.

Los archivos de fuente utilizados son \*.gro, archivo obtenido a partir del equilibrio NPT, \*.top (topología o posición por cada átomo del sistema integro), \*.tpr (archivo binario que contiene la información respectiva tanto de descripción como de topología) \*.cpt (estabilidad térmica del sistema, archivo fuente del NPT) y md.mdp (archivo de referencia para la ejecución de los procesos).

### 3.3.3.5. *Visualización*

Durante todos los procesos y sistemas las cajas fueron visualizadas con VMD. La Figura 10-3, muestra el ensamble del sistema periódico total Laurilsulfato ST5545.



**Figura 10-3.** Sistema Periódico Total Laurilsulfato ST5545

Elaborado Por: Sara Vaca

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Análisis de resultados

Este ítem estará dividido en tres secciones para un mejor entendimiento de los resultados a ser presentados en este proyecto. La primera sección corresponde a los resultados de la preparación de los diferentes sistemas, con sus respectivas concentraciones, para dar un soporte al desarrollo apropiado de la dinámica molecular de cada sistema, además se incluyen gráficas desarrolladas en Wolfram Mathematica, donde se muestra la conducta de cada sistema en energía, temperatura, densidad, volumen y presión.

La segunda sección corresponde a una evaluación estadística realizada en Geogebra donde se muestra las distancias encontradas entre asfaltenos y surfactantes en estudio. Ésta evaluación a más de mostrar gráficamente las tendencias de los asfaltenos frente a cada sistema, además entrega información estadísticamente importante como desviación estándar, mediana, media y cuartiles, estos resultados son mostrados conjuntamente en mapas de calor construidos en Wolfram Mathematica, para facilitar la apreciación de diferencias de distancias entre asfaltenos y surfactantes. Además con la ayuda de las herramientas de Excel se realizó el análisis de la moda por su relevancia en los resultados de esta investigación.

Finalmente se aplica una Lista de Cotejo, desarrollada en base bibliográfica y validada por criterio de expertos del Grupo de Química Computacional y Teórica de la Universidad San Francisco de Quito, donde se juzgan ciertos criterios que deben ser cumplidos durante todo el proceso de la investigación, para garantizar que la información tenga validez científica. Como un soporte a esta subsección también se incluye una comparación de distancias entre los enlaces moleculares más representativos de los asfaltenos, para indagar presencia de cambios significativos en las conformaciones moleculares.

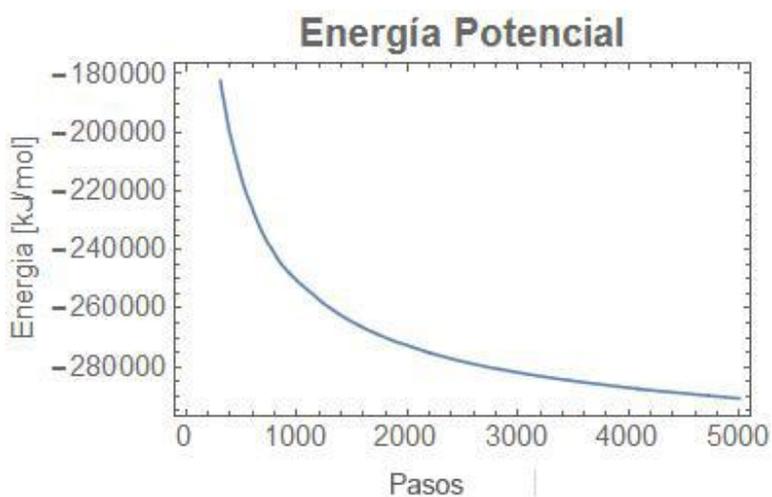
#### *4.1.1. Resultados de la Preparación de los Sistemas*

##### *4.1.1.1. Minimización*

En esta etapa los sistemas fueron relajados, ajustados y estabilizados para evitar deformaciones estructurales de las cajas a causa de vacíos. Los sistemas fueron sometidos a un algoritmo propio del software GROMACS para la minimización.

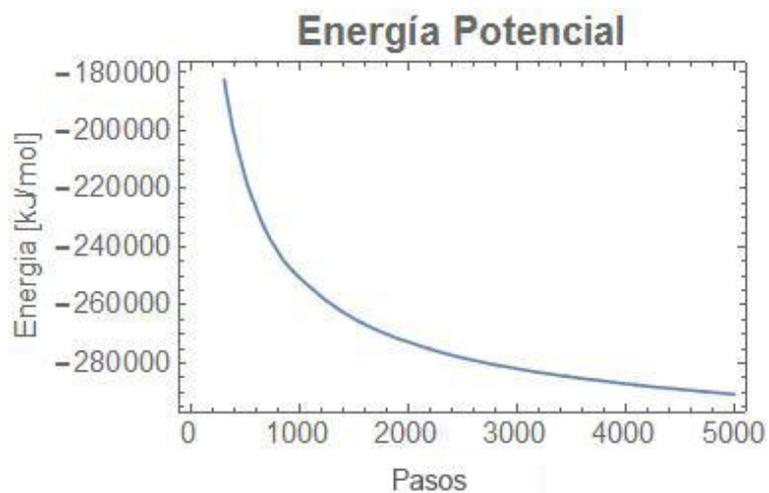
Debido a que las moléculas fueron ubicadas en posición aleatoria todos los sistemas fueron sometidos a una etapa de minimización preliminar, donde se relajaron las mismas.

Para que los modelos de caja finales tengan validez fue indispensable que durante esta etapa los sistemas se relajen por esta razón a continuación se presentan las Figuras 1-4 y 2-4, las cuales muestra que, durante la minimización de los sistemas ST7525 y ST5545 la energía potencial disminuyó hasta alcanzar valores mínimos de energía de  $-290783.621 \text{ kJ/mol}$  y de  $-290699.656 \text{ kJ/mol}$ , respectivamente. A continuación se muestra la Figura 3-4, donde se presenta la disminución energética del Sistema Lauril7525, llegando a un valor de  $-369129.000 \text{ kJ/mol}$ , y finalmente se presenta la Figura 4-4 donde se muestra la minimización energética del sistema Rhamnolipid7525, alcanzando un valor de  $-347091.343 \text{ kJ/mol}$ . Estos valores nos indican estabilidad en los sistemas, por lo que se puede proseguir con la termalización.



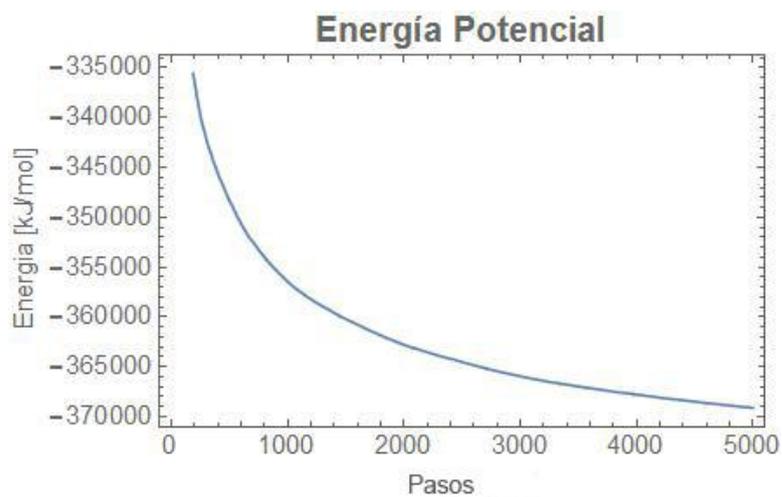
**Figura 1-4.** Disminución de la Energía Potencial del Sistema Preliminar ST7525

**Elaborado Por:** Sara Vaca



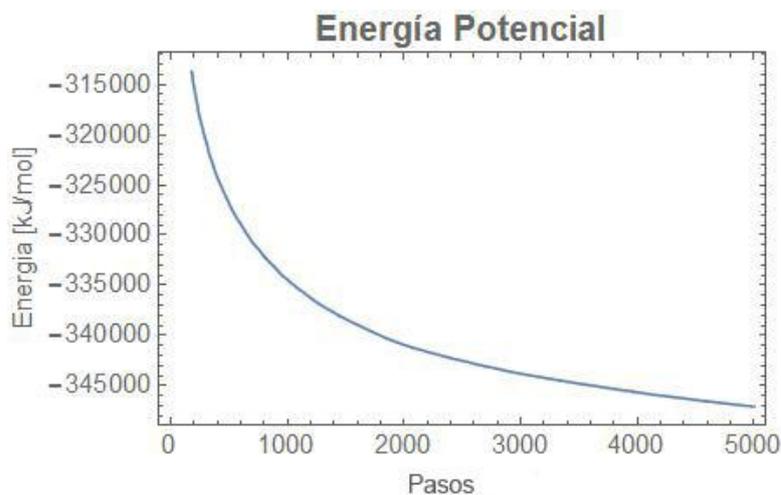
**Figura 2-4.** Disminución de la Energía Potencial del Sistema Preliminar ST5545

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 3-4.** Disminución de la Energía Potencial del Sistema Lauril7525

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 4-4.** Disminución de la Energía Potencial del Sistema Rhamnolipid7525

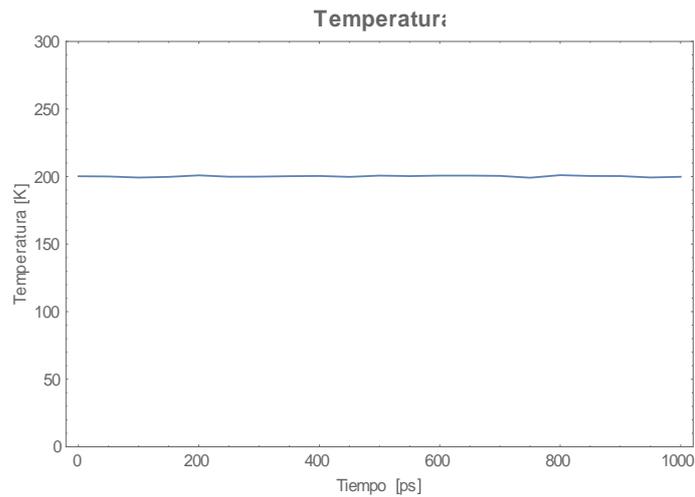
Elaborado Por: Sara Vaca

#### 4.1.1.2. *Equilibración – NVT (Número de partículas, volumen y temperatura constante)*

Después de que la caja ya ha sido minimizada y presenta estabilidad energética, se procede a calentar el sistema con el ensamble NVT, el cual controla la temperatura. Los resultados expuestos corresponden al incremento y estabilidad de la temperatura, durante el ensamble NVT.

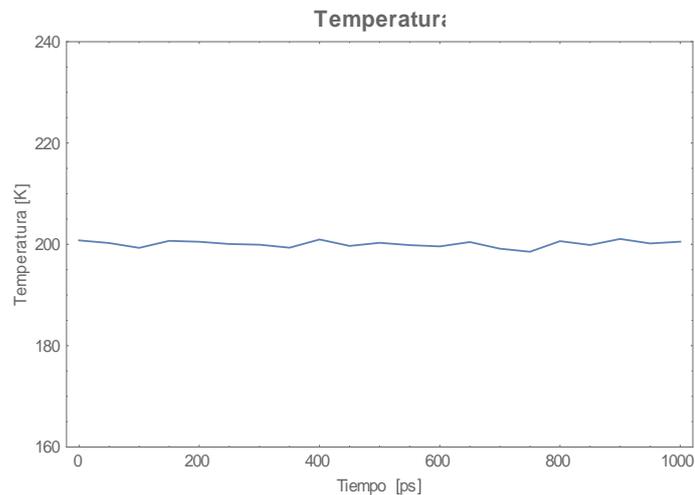
A partir de esta sección se presentarán en mayor detalle los resultados únicamente de los sistemas completos de Lauril7525 y Rhamnolipid7525.

Durante la termalización en el sistema Lauril7525, la temperatura alcanzó un valor promedio de 199.91 K, con una desviación estándar de 0.688, estos resultados se muestran en la Figura 5-4. En el sistema Rhamnolipid7525 la temperatura alcanzada promedio fue de 200.08 K con una desviación estándar de 0.650, la Figura 6-4, esquematiza dicha información. Los resultados muestran estabilidad en la temperatura por lo que se puede proseguir con el ensamble isotérmico-isobárico.



**Figura 5-4.** Estabilización de Temperatura en el sistema Lauril7525

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 6-4.** Estabilización de Temperatura en el sistema Rhamnolipid7525

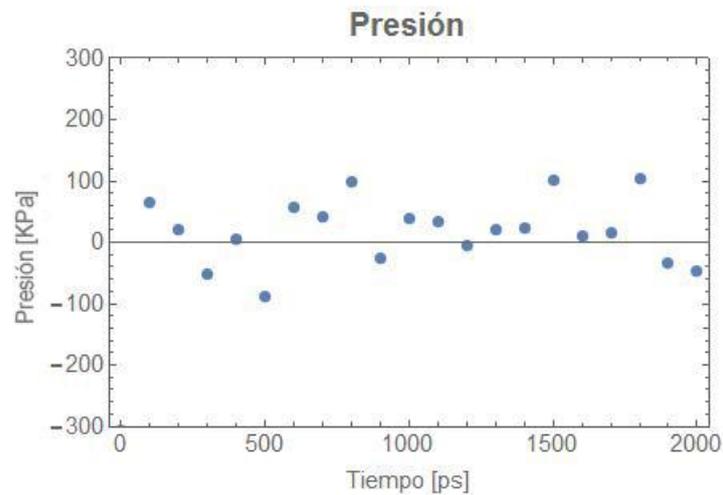
Elaborado Por: Sara Vaca

#### 4.1.1.3. *Equilibrio – NPT(Número de partículas, presión y temperatura constante)*

El ensamble NPT (isotérmico-isobárico) es utilizado para mantener la presión y temperatura constante mientras se ajusta el volumen del sistema. Ya que el tamaño de la caja en cada sistema es sumamente importante se consideró la evaluación de la densidad para determinar si el sistema no sufre alteraciones durante este proceso.

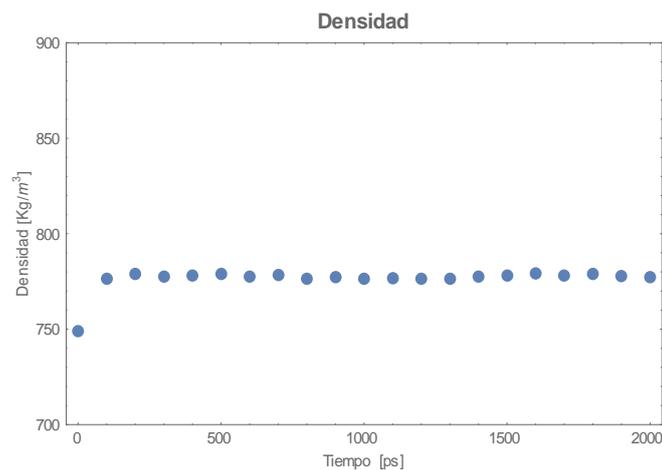
En el sistema Lauril7525, la presión promedio es 87.32 Bar con una desviación estándar de 3.798, adicionalmente la densidad promedio del sistema es de  $777.61 \text{ kg/m}^3$  y su desviación estándar es de 0.9249. La Figura 7-4 y la Figura 8-4, muestra la variación de la presión y densidad, respectivamente del sistema Lauril7525.

En el sistema Rhamnolipid7525, la presión promedio es de 82.2501 KPa con una desviación estándar de 0.671, la densidad promedio del sistema es de 781.28 kg/m<sup>3</sup> y su desviación estándar es de 1.0177. La Figura 9-4 y la Figura 10-4, muestra la variación de la presión y densidad, respectivamente del sistema Rhamnolipid7525.



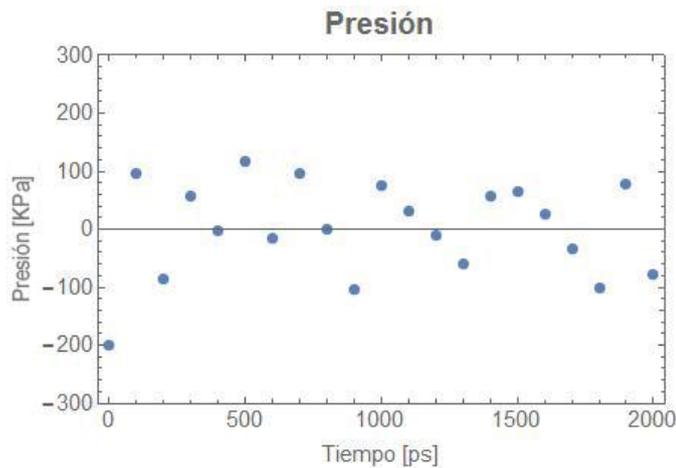
**Figura 7-4.** Presión de Equilibrio isobárico en el sistema Lauril7525

Elaborado Por: Sara Vaca



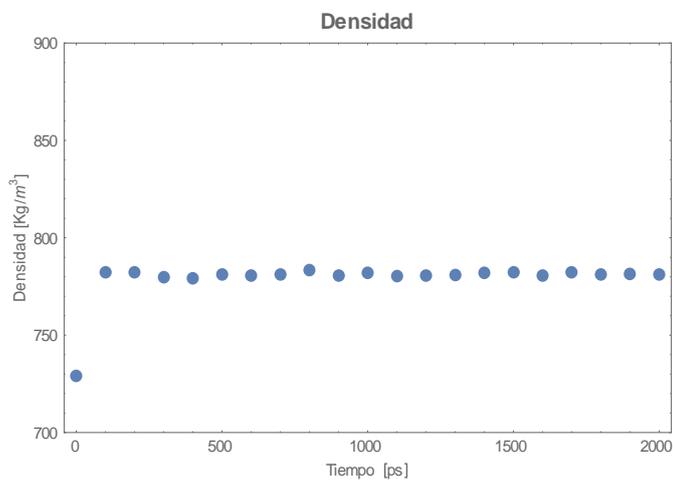
**Figura 8-4.** Densidad de Equilibrio isobárico en el sistema Lauril7525

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 9-4.** Presión de Equilibrio isobárico en el sistema Rhamnolipid7525

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 10-4.** Densidad de Equilibrio isobárico en el sistema Rhamnolipid7525

Elaborado Por: Sara Vaca

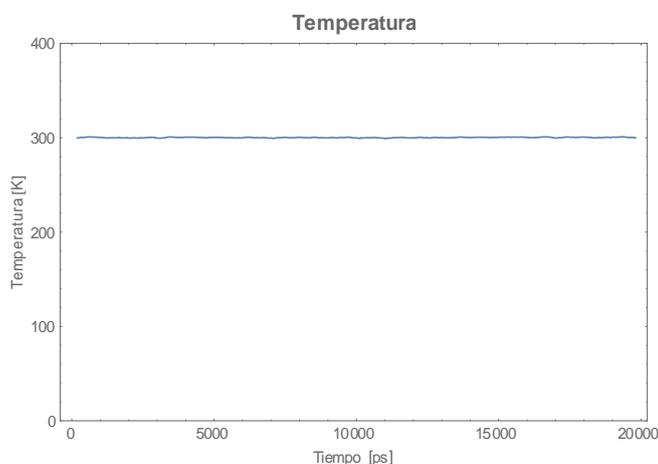
#### 4.1.1.4. Etapa de Producción-Dinámica Molecular

Después de que la caja presentó equilibrio en las fases de termalización e isobárico, donde se pudo liberar las restricciones de posición y se ejecutó la producción de Dinámica Molecular con una temperatura de 300K.

Debido a que esta última sección nos proporciona los resultados de esta investigación, se hizo la evaluación de diferentes variantes (temperatura, densidad, volumen y RMSD) para asegurar que los sistemas presenten un comportamiento adecuado.

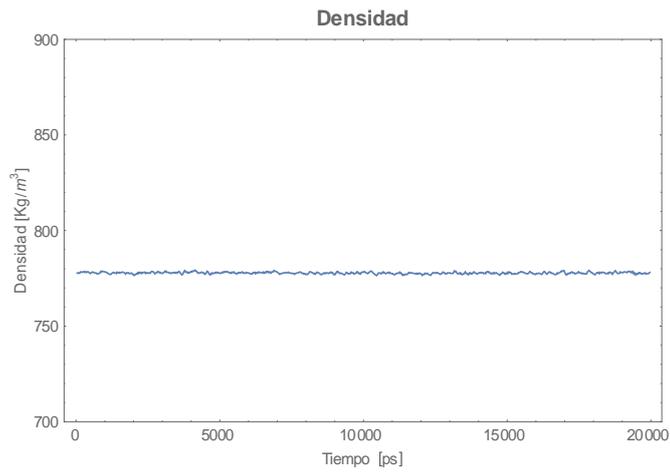
El Sistema Lauril7525 presentó una temperatura promedio de 300.18 K con una desviación estándar de 1.446, la Figura 11-4 muestra las variaciones respecto al tiempo de simulación. La densidad es de  $777.80 \text{ kg/m}^3$ , con una desviación estándar de 0.9668,

siendo la diferencia de 0.1% frente a la densidad promedio de la etapa Isobárica  $777.61 \text{ kg/m}^3$ , esto muestra una estabilidad en la composición de las cajas, en la Figura 12-4, se muestra la variación de la densidad respecto al tiempo de simulación. A pesar de que la densidad nos muestra estabilidad en el sistema es importante saber si el volumen de la caja no fue alterado durante la simulación, pues dentro de la caja pueden existir vacíos que provoquen interacciones fuera de la realidad. El valor promedio del volumen de la caja del Sistema Lauril7525 es de  $858.08 \text{ nm}^3$ , con una desviación estándar de 1.0665. La Figura 13-4, muestra la variación de volumen del sistema Lauril7525. Adicionalmente se evaluó el RMSD (Root Media Standard Desviation), el cual nos indica la desviación cuadrática media del sistema durante la simulación, esta característica es muy importante, pues al existir rotación brusca del sistema indica que la presión, temperatura, densidad o volumen exhiben errores. La Figura 14-4 exhibe el RMSD del sistema Lauril7525, donde se visualiza estabilidad durante toda la trayectoria, con un valor promedio de  $6.54 \text{ \AA}$ , lo cual indica que no existe una variación significativa de la posición de las moléculas de surfactante Laurilsulfato respecto a los asfaltenos.



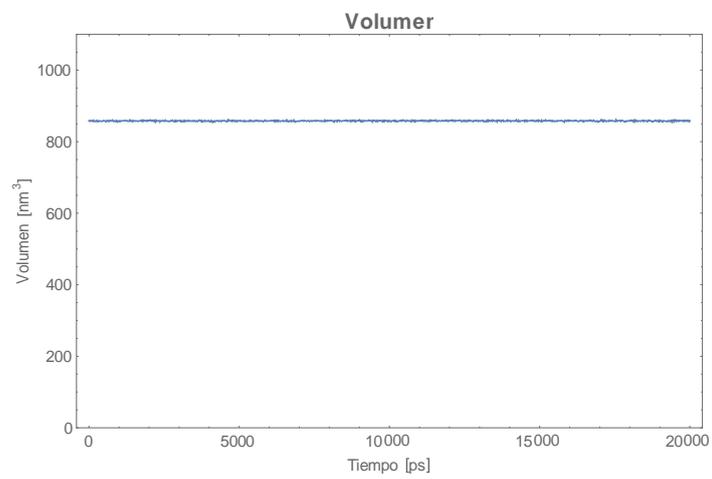
**Figura 11-4.** Temperatura de Etapa de Producción Lauril7525

**Elaborado Por:** Sara Vaca



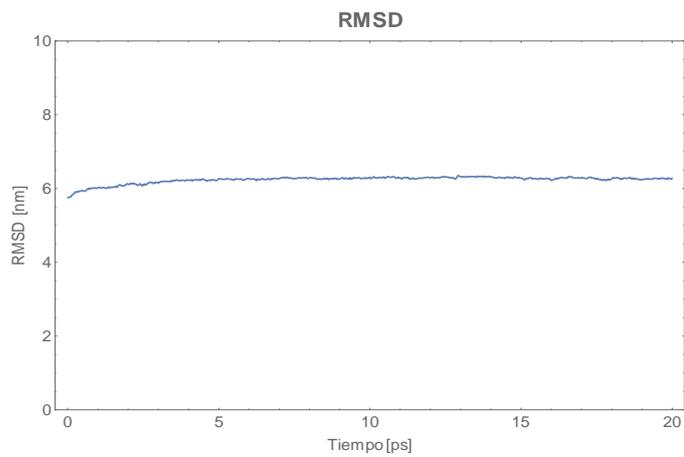
**Figura 12-4.** Densidad de Etapa de Producción Lauril7525

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 13-4.** Volumen en Etapa de Producción Lauril7525

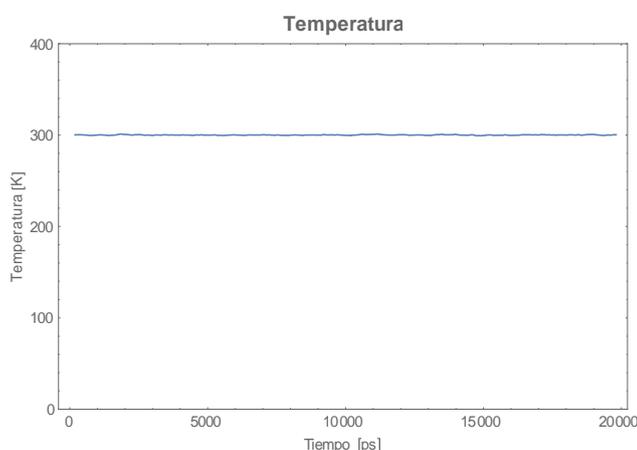
Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 14-4.** RMSD en Etapa de Producción Lauril7525

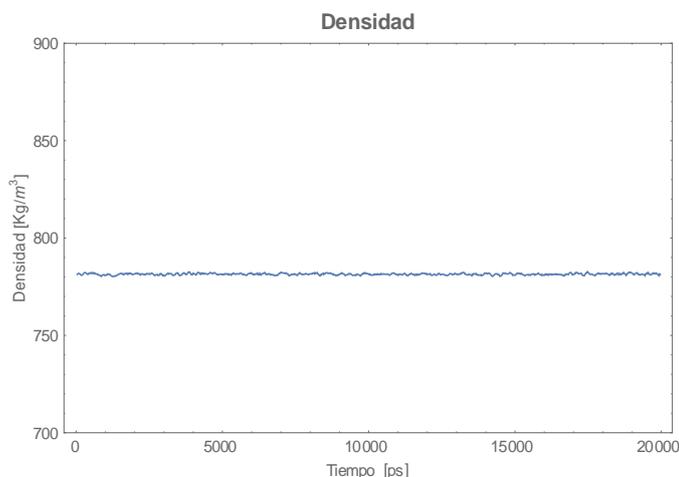
Elaborado Por: Sara Vaca

El Sistema Rhamnolipid7525 presentó una temperatura promedio de 300.10 K con una desviación estándar de 1.4452, la Figura 15-4 muestra las variaciones respecto al tiempo de simulación. La densidad es de  $781.43 \text{ kg/m}^3$ , con una desviación estándar de 0.8948, siendo la diferencia de 0.01% frente a la densidad promedio de la etapa Isobárica de  $781.28 \text{ kg/m}^3$ , esto muestra una estabilidad en la composición de las cajas, en la Figura 16-4, se muestra la variación de la densidad respecto al tiempo de simulación. El valor promedio del volumen de la caja del sistema es de  $850.03 \text{ nm}^3$ , con una desviación estándar de 0.9732. La Figura 17-4, muestra la variación de volumen del sistema Lauril7525. La Figura 18-4 exhibe el RMSD del sistema Rhamnolipid7525, donde se visualiza estabilidad durante toda la trayectoria, lo cual indica que no existe una variación significativa del Sistema.



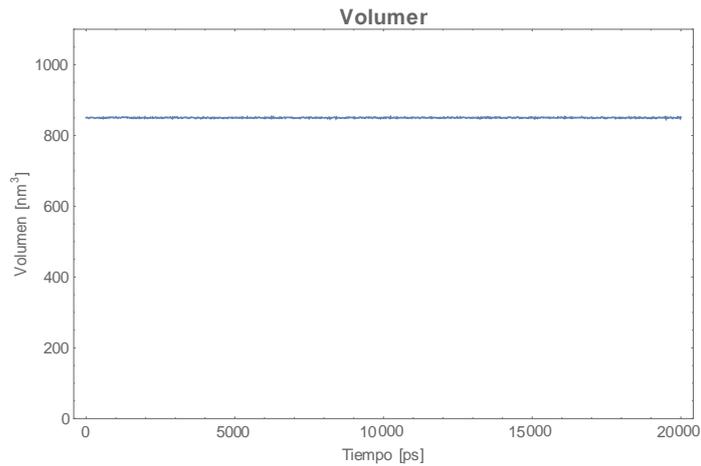
**Figura 15-4.** Temperatura de Etapa de Producción Rhamnolipid7525

Elaborado Por: Sara Vaca



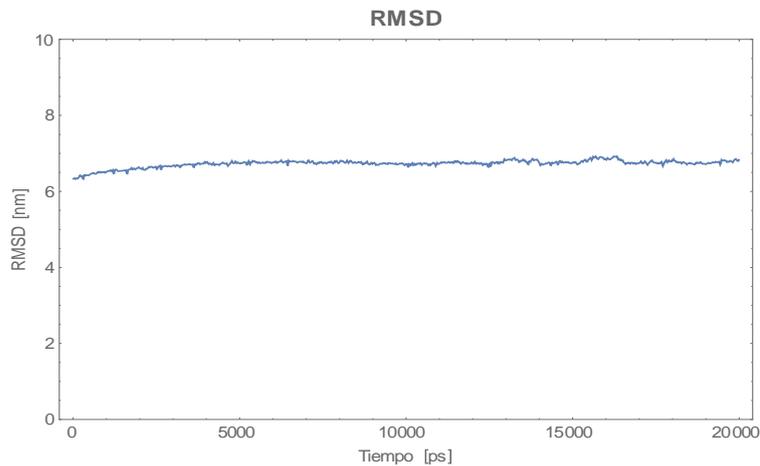
**Figura 16-4.** Densidad de Etapa de Producción Rhamnolipid7525

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 17-4.** Volumen en Etapa de Producción Rhamnolipid7525

**Elaborado Por:** Sara Vaca



**Figura 18-4.** RMSD en Etapa de Producción Rhamnolipid7525

**Elaborado Por:** Sara Vaca

Todos los sistemas presentaron estabilidad en la evaluación final de la etapa de producción, a continuación se presenta la Tabla 1-4. Resumen de Resultados-Preparación de Sistemas.

#### **4.1.2. Análisis estadístico de Resultados**

En la presente sección se refleja la evaluación de las distancias entre asfaltenos y surfactantes, obtenidas por medio de herramientas de manejo de big data como Wolfram Mathematica y Geogebra.

Dentro de esta sección se detallará la información de una muestra de los resultados de distancias, correspondientes a los sistemas Lauril7525, Lauril5545, Rhamnolipid7525 y Rhamnolipid5545, donde se evalúa las distancias de interacción de los diferentes

surfactantes interactuando con asfaltenos, la muestra presentada fue seleccionada al azar en los diferentes sistemas. La información detalla información estadísticamente importante como desviación estándar, mediana, media y cuartiles, estos resultados son mostrados conjuntamente en mapas de calor contruidos en Wolfram Mathematica, para facilitar la apreciación de diferencias de distancias entre asfaltenos y surfactantes.

El área de contacto está determinada por el tamaño de las moléculas y por el tipo de interacción química. La molécula que representa al Laurilsulfato mide 1.4nm y el tamaño de la molécula del fragmento de asfaleno es de 1.1 nm. Estos valores fueron obtenidos del paquete Avogadro con la herramienta medir, a pesar de ser valores confiables las medidas fueron tomadas de extremos distales debido a la geometría de la molécula por lo que en si se midió la superficie espacial que ocupa la molécula. Las interacciones que pueden tener dos moléculas son por fuerzas de: Van der Waals, interacciones hidrofóbicas, interacciones dipolo-dipolo, interacciones iónicas y puentes de hidrogeno, estas interacciones generalmente ocurren a distancias menores a 0,6 nm en promedio. (Atkins,P, 2011,458) (Chang,R, 2005, 492-498). Ya que las moléculas de asfaltenos tendrán tendencia a unirse a las secciones distales de los surfactantes se amplió el área de contacto, pues la herramienta de GROMACS, que mide las distancias mide desde los centros de masa de la molécula. Por estas razones se consideró que la zona de contacto para determinar interacción molecular es  $< 0.6\text{nm}$ , y valores superiores a este no existe interacción alguna entre moléculas.

**Tabla 1-4.** Resumen de Resultados-Preparación de Sistemas

Sistema	Tipo de Ensamble														
	Minimización	Equilibración NVT		Equilibración NPT				Etapa de Producción-Dinámica Molecular							
	Presión	Temperatura		Presión		Densidad		Temperatura		Densidad		Volumen		RMSD	
Mínimo (KJ/mol) $\sigma$	Media (K)	$\sigma$ (K)	Media (KPa)	$\sigma$ (KPa)	Media (Kg/m <sup>3</sup> )	$\sigma$ (Kg/m <sup>3</sup> )	Media (K)	$\sigma$ (K)	Media (Kg/m <sup>3</sup> )	$\sigma$ (Kg/m <sup>3</sup> )	Media (nm <sup>3</sup> )	$\sigma$ (nm <sup>3</sup> )	Media (Å)	$\sigma$ (Å)	
<b>ST7525</b>	-290783.621	198.102	0.745	89.598	10.859	767.429	1.586	300.090	1.384	767.700	0.864	888.788	1.000	6.622	0.485
<b>ST5545</b>	-290699.656	199.711	0.732	85.350	10.680	792.126	1.305	300.142	1.365	796.166	0.936	868.947	1.021	6.597	0.502
<b>Lauril7525</b>	-369129.001	199.910	0.688	87.320	13.798	777.610	0.924	300.180	1.446	777.800	0.966	858.080	1.066	6.540	0.073
<b>Lauril5545</b>	-377557.531	200.120	0.602	85.780	13.528	806.377	0.852	300.278	1.299	808.608	1.009	880.719	1.099	6.792	0.120
<b>Rhamnolipid 7525</b>	-347091.343	200.080	0.650	82.250	10.671	781.280	1.017	300.100	1.445	781.430	0.894	850.030	0.973	6.720	0.098
<b>Rhamnolipid 5545</b>	-323509.968	200.185	0.525	80.120	10.715	805.641	1.102	300.117	1.370	808.023	1.007	835.022	1.040	6.801	0.085

Elaborado Por: Sara Vaca

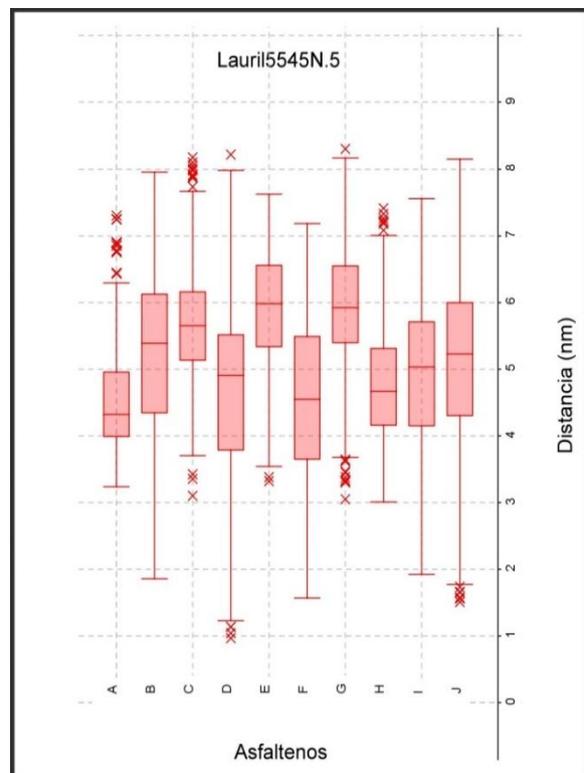
#### 4.1.2.1. Sistema Lauril5545

Debido a la gran cantidad de datos a evaluar se seleccionó 3 moléculas al azar con la ayuda de la herramienta Excel, de esta selección se determinó que las moléculas de surfactante en estudio son la número 5, 12 y 15.

##### Sistema Lauril5545-Número5

La Tabla 2-4, obtenida por medio de Geogebra, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de lauril sulfato número 5, respecto a cada uno de los asfaltenos. La Figura 19-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.969nm correspondiente al asfalto D, lo cual indica que no existe interacción química con la molécula de surfactante, recordemos que el tamaño de la caja es de 9,6 x 9,6 x 9,6 nm, la distancia máxima encontrada fue de 8.301 nm, correspondiente al asfalto G, lo que nos sugiere que ambas moléculas estuvieron en lados opuestos de la caja. Gráficamente se observa que en su mayoría, la distancia de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 4 a 6 nm lejos del centro de masa del surfactante número 5. La media de distancia del desplazamiento de los asfaltenos respecto al surfactante esta entre 4,6 a 5,2 nm, lo que corresponde aproximadamente a la mitad del tamaño de la longitud del tamaño de la caja que se utilizó para la simulación.



**Figura 19-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.5 del sistema Lauril5545

Elaborado Por: Sara Vaca

El primer cuartil indica que el 70% de las moléculas de surfactantes se encontraron a una distancia menor a 4.5nm lo cual indica un desplazamiento de la mitad del tamaño de la caja. En el tercer cuartil las distancias el valor de 6.5nm, indicando que no existe contacto alguno con la molécula de surfactante.

En todos los casos la desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.7 y 1.3, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.

**Tabla 2-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Laurilsulfato N. 5 y cada molécula de asfaltenos

	N	Media	$\sigma$	s	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	4.647	1.027	1.032	3.235	3.993	4.908	4.959	7.305
Asf.B	1001	5.205	1.267	1.268	1.861	4.349	5.386	6.125	7.954
Asf.C	1001	5.668	0.793	0.793	3.099	5.136	5.648	6.159	8.175
Asf.D	1001	4.656	1.311	1.312	0.969	3.787	4.322	5.512	8.214
Asf.E	1001	5.886	0.833	0.833	3.324	5.334	5.983	6.560	7.620
Asf.F	1001	4.569	1.241	1.242	1.567	3.650	4.553	5.489	7.185
Asf.G	1001	5.959	0.910	0.910	3.049	5.393	5.924	6.547	8.301
Asf.H	1001	4.766	0.816	0.817	3.007	4.159	4.665	5.310	7.413
Asf.I	1001	4.958	1.081	1.082	1.928	4.156	5.035	5.713	7.553
Asf.J	1001	5.107	1.291	1.292	1.507	4.305	5.227	5.994	8.151

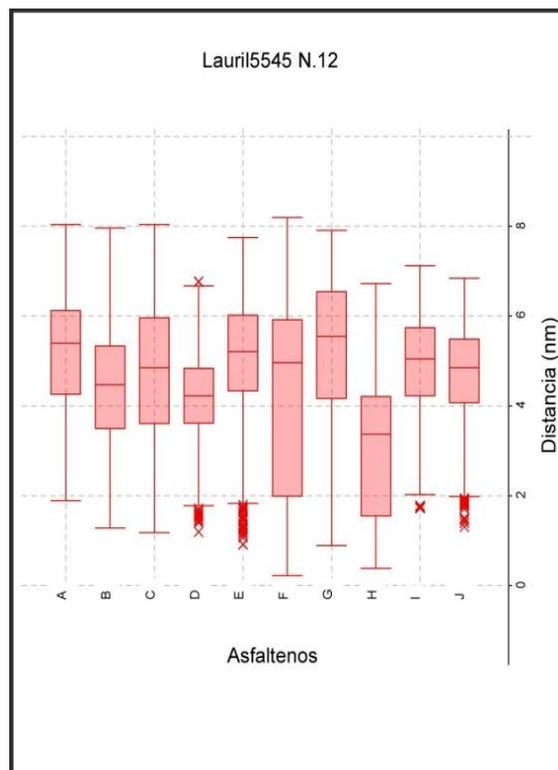
Elaborado Por: Sara Vaca

### Lauril5545-Número12

La Tabla 3-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de lauril sulfato número 12, respecto a cada uno de los asfaltenos. La Figura 20-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.220nm correspondiente al asfalteno F, lo cual indica un acercamiento a la molécula de surfactante y por ende rinteracción química, ya que el valor es menor a 6nm. La distancia máxima encontrada fue de 8.195 nm, en el mismo. Gráficamente el asfalteno F tiene un comportamiento particular frente a los otros respecto al surfactante 12. Se observa que en durante toda la trayectoria tuvo movimientos variados y se posicionó tanto cerca como lejos de la molécula de surfactante, a pesar de ser un comportamiento confuso, muestra que el tercer cuartil está mayoritariamente inclinado hacia la interacción molecular con el surfactante, es decir presenta una distancia menor a 4.6nm, siendo este valor aproximadamente la mitad de la caja. A nivel general el 20 % de las moléculas de asfaltenos llegan a la zona de interacción de la molécula de surfactante n. 12.

En la Tabla 3-4, se muestra que los asfaltenos se encuentran a una distancia promedio de 2 a 6nm, lo cual ubica a todas las moléculas a una distancia de aproximadamente la mitad de la caja (9,6 x 9,6 x 9,6 nm), durante la trayectoria. El primer cuartil tiene distancias mayores a 1.5nm, lo cual indica que no existe interacción con esta molécula de surfactante en la mayoría de la trayectoria. En todos los casos la desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.9 y 1.6, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula. Únicamente el valor de la desviación estándar de la muestra y población del asfalteno F es de 2.082, lo cual demuestra la gran diversidad de datos e interacciones.



**Figura 20-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.12 del sistema Lauril5545

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 3-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril5545 N. 12 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	$\sigma$	S	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	5.188	1.263	1.263	1.887	4.262	5.392	6.125	8.039
Asf.B	1001	4.455	1.313	1.314	1.277	3.494	4.470	5.337	7.961
Asf.C	1001	4.717	1.531	1.532	1.178	3.606	4.851	5.962	8.030
Asf.D	1001	4.184	0.995	0.996	1.196	3.613	4.223	4.838	6.765
Asf.E	1001	5.036	1.309	1.309	0.912	4.333	5.203	6.021	7.748
Asf.F	1001	4.319	2.081	2.082	0.220	1.992	4.961	5.918	8.195
Asf.G	1001	5.211	1.637	1.637	0.885	4.165	5.549	6.454	7.910
Asf.H	1001	3.183	1.521	1.522	0.378	1.546	3.370	4.210	6.726
Asf.I	1001	4.941	0.979	0.979	1.718	4.222	5.046	5.737	7.123
Asf.J	1001	4.664	1.098	1.098	1.309	4.071	4.850	5.490	6.838

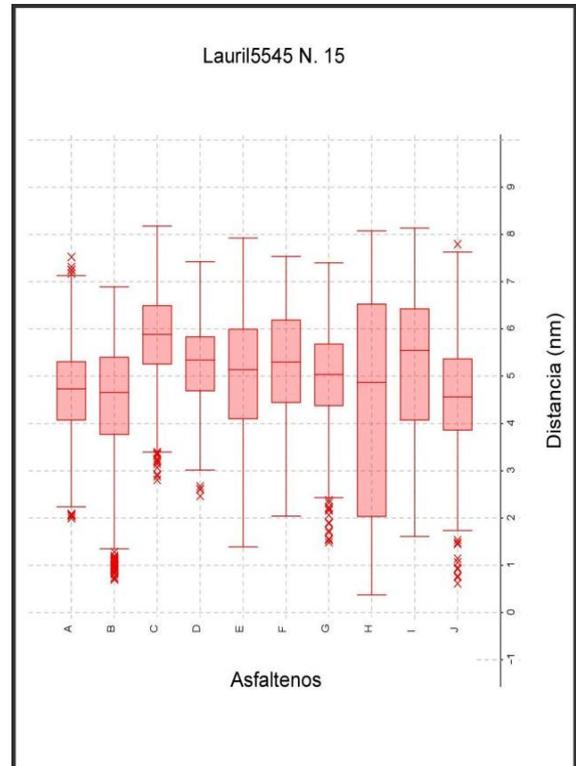
Elaborado Por: Sara Vaca

Lauril5545-Número15

La Tabla 4-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de lauril sulfato número 15, respecto a cada uno de los asfaltenos. La Figura 21-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.803nm correspondiente al asfalteno F, lo cual indica que no existe un acercamiento a la zona de interacción química de la molécula de laurilsulfato n. 15. La distancia máxima encontrada fue de 7.951nm, en el mismo. El comportamiento general de los asfaltenos frente al surfactante número 15 es uniforme, manteniéndose a una distancia promedio de entre 3nm y 6nm.

En la Tabla 4-4, se muestra que este surfactante no presenta interacciones químicas con las moléculas de asfaltenos, ya que solo el 10% de los asfaltenos entra a una zona de distancia menor a 1nm. En todos los casos la desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.7 y 1.3, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula. Este particular se puede explicar, ya que las moléculas de surfactantes tienden a mantenerse en solución con el agua.



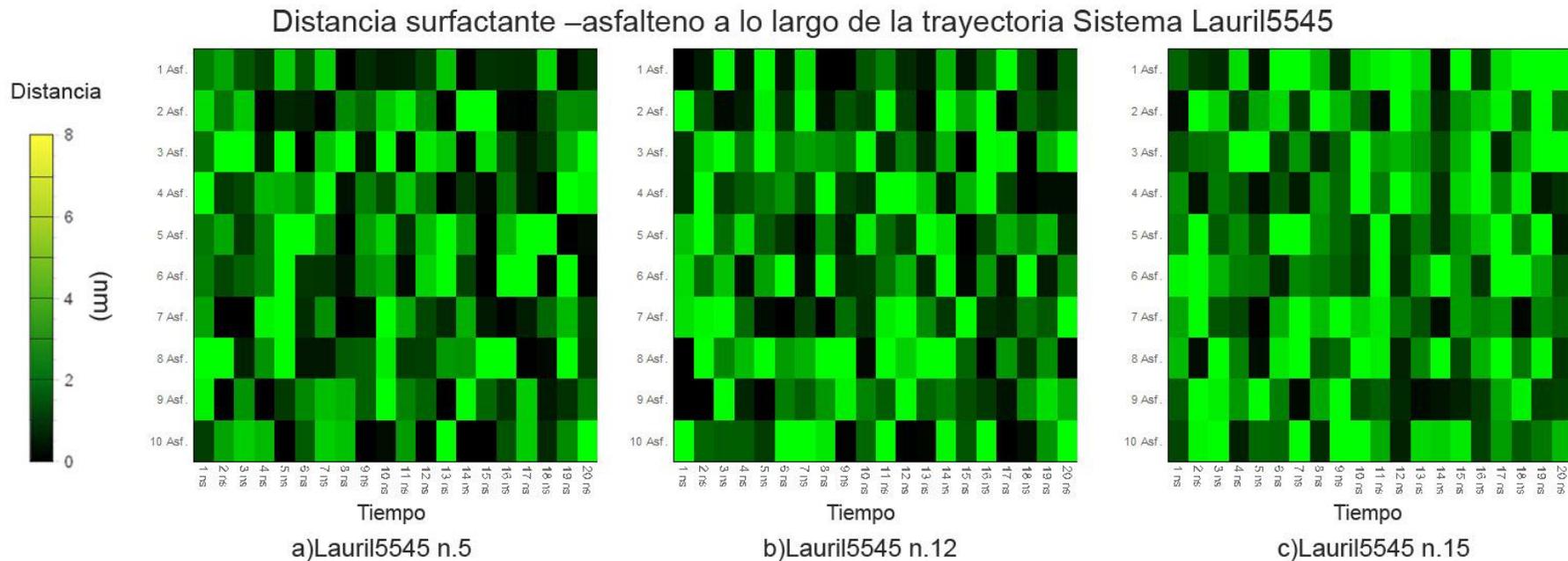
**Figura 21-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.15 del sistema Lauril5545

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 4-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril5545 N. 15 y cada molécula de asfaltenos.

	N	Media	Ó	S	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	4.402	0.801	0.805	2.744	3.711	4.435	5.071	5.878
Asf.B	1001	4.734	1.218	1.219	2.060	3.722	4.812	5.707	7.361
Asf.C	1001	5.429	1.100	1.100	2.555	4.596	5.474	6.309	7.871
Asf.D	1001	4.334	1.331	1.332	0.906	3.445	4.215	5.241	7.597
Asf.E	1001	5.496	0.709	0.709	3.130	5.081	5.581	5.933	7.620
Asf.F	1001	4.777	1.369	1.369	0.803	3.974	4.839	5.715	7.951
Asf.G	1001	5.928	0.881	0.881	3.515	5.312	5.932	6.594	7.955
Asf.H	1001	4.548	1.162	1.163	1.746	3.846	4.551	5.255	7.858
Asf.I	1001	5.134	1.051	1.051	2.461	4.369	5.076	5.886	8.021
Asf.J	1001	4.915	1.108	1.109	1.491	4.213	5.105	5.657	7.741

**Elaborado Por:** Sara Vaca



**Figura 22-4.** Distancia Surfactante-asfalteno Sistema Lauril5545

**Elaborado Por:** Sara Vaca

La Figura 22-4 muestra las distancia de cada asfalteno respecto a los distintos surfactantes Lauril5545, en función del tiempo en forma de los mapas de calor. a) Lauril5545 n.5, b) Lauril5545 n.12 y c) Lauril5545 n.15. Los cuadros oscuros muestran menor distancia por ende mayor interacción intermolecular, mientras que el color verde claro muestra mayor distancia e indica que no existe interacción intermolecular. Tomemos como ejemplo el Asfalteno 1 interactuando con el Laurilsulfato N.5, se observa que aproximadamente más del 50% del tiempo esta interactuando con el surfactante Laurilsulfato, mientras que el mismo asfalteno respecto al Laurilsulfato n.15, no presenta interacción con la molécula de surfactante ya que aproximadamente el 70% del tiempo en la trayectoria se encuentra a distancias mayores a 5nm.

#### 4.1.2.2. Sistema Lauril7525

Debido a la gran cantidad de datos a evaluar se seleccionó 3 moléculas al azar con la ayuda de la herramienta Excel, de esta selección se determinó que las moléculas de surfactante en estudio son la número 3, 10 y 17.

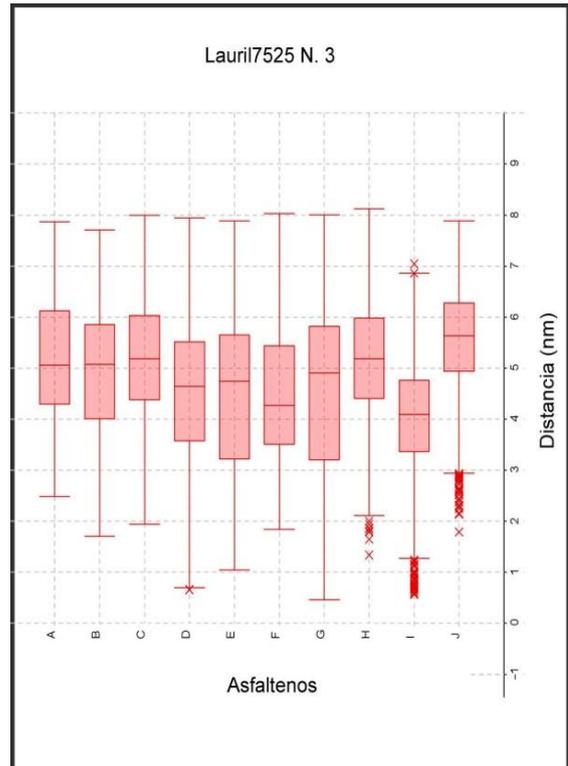
Lauril7525 N. 3

La Tabla 5-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de lauril sulfato número 3, respecto a cada uno de los asfaltenos, en el sistema Lauril7525. La Figura 23-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.459nm correspondiente al asfalteno G, lo cual indica un interacción química con la molécula de surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 8.125 nm, en el asfalteno H. Gráficamente se observa que en su mayoría, la distancia promedio de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 3 a 6 nm lejos del centro de masa del surfactante número 3.

El asfalteno G muestra gran variedad de información, presenta la mayor cercanía y una distancia máxima de 7.044nm, lo cual sugiere diversidad de datos.

En la Tabla 5-4, se muestra que el 30% de las moléculas de asfaltenos tienen distancias superiores a 3.2nm, por lo cual ya no se encuentran en la zona de interacción química del surfactante. La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 1.0 y 1.6, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.



**Figura 23-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.3 del sistema Lauri7525

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 5-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril7525 N. 3 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	Ö	s	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	5.177	1.184	1.185	2.483	4.300	5.058	6.123	7.869
Asf.B	1001	4.911	1.211	1.211	1.707	4.005	5.073	5.857	7.709
Asf.C	1001	5.147	1.171	1.172	1.945	4.383	5.185	6.029	7.995
Asf.D	1001	4.459	1.476	1.477	0.656	3.580	4.644	5.518	7.946
Asf.E	1001	4.491	1.548	1.549	1.047	3.218	4.744	5.650	7.890
Asf.F	1001	4.490	1.311	1.312	1.837	3.508	4.270	5.443	8.027
Asf.G	1001	4.574	1.681	1.682	0.459	3.200	4.903	5.824	8.005
Asf.H	1001	5.154	1.153	1.154	1.336	4.404	5.187	5.979	8.125
Asf.I	1001	3.967	1.169	1.169	0.565	3.368	4.097	4.766	7.044
Asf.J	1001	5.528	1.078	1.078	1.792	4.939	5.633	6.276	7.885

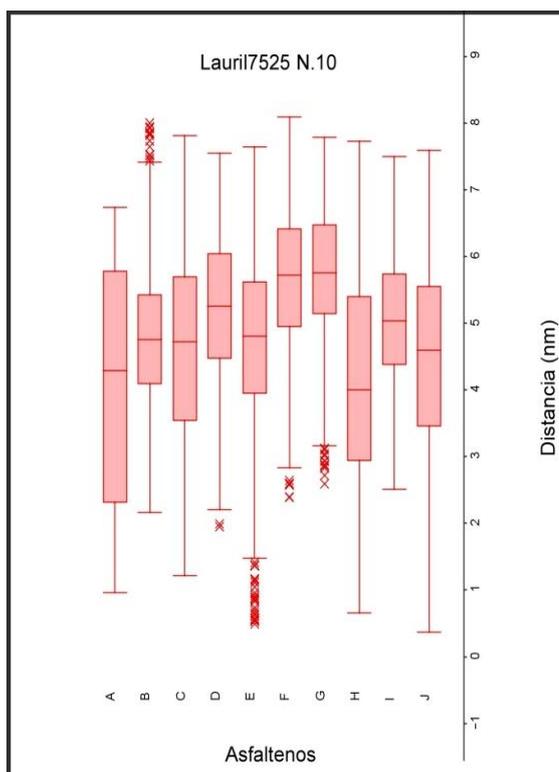
Elaborado Por: Sara Vaca

### Lauril7525 N. 10

La Tabla 6-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de lauril sulfato número 10, respecto a cada uno de los asfaltenos, en el sistema Lauril7525. La La Figura 24-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.365nm correspondiente al asfalto J, lo cual indica acercamiento íntimo a la zona de interacción química de la molécula de surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 8.088 nm, en el asfalto F. Gráficamente se observa que en su mayoría, la distancia promedio de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 2 a 6 nm distantes del centro de masa del surfactante número 10.

En la Tabla 6-4, se muestra que tiene el 30% de las moléculas de asfaltenos en diferentes estadios entran en la zona de interacción química del surfactante 10, con una distancia menor a



**Figura 24-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.10 del sistema Lauri7525

Elaborado Por: Sara Vaca

0.6nm. El primer cuartil de todas las moléculas, muestra valores promedios de distancia menores a 5.1nm, lo cual sugiere movimiento espacial en el 50 % de caja, recordando que la misma mide 9,6 x 9,6 x 9,6 nm, finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 6.4nm, lo que indica que las moléculas de asfaltenos se encuentran en la misma zona de interacción del surfactante n. 10. La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.9 y 1.7, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.

**Tabla 6-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril7525 N. 10 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	Ó	s	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	4.107	1.728	1.737	0.959	2.317	4.291	5.779	6.733
Asf.B	1001	4.793	1.033	1.034	2.167	4.096	4.751	5.421	7.998
Asf.C	1001	4.620	1.365	1.366	1.212	3.543	4.720	5.694	7.809
Asf.D	1001	5.181	1.137	1.137	1.950	4.473	5.253	6.042	7.546
Asf.E	1001	4.634	1.332	1.333	0.491	3.947	4.803	5.619	7.637
Asf.F	1001	5.674	1.002	1.002	2.388	4.953	5.721	6.416	8.088
Asf.G	1001	5.722	0.976	0.976	2.589	5.146	5.749	6.471	7.783
Asf.H	1001	4.140	1.649	1.650	0.655	2.946	3.999	5.395	7.723
Asf.I	1001	5.079	1.004	1.005	2.507	4.379	5.036	5.737	7.499
Asf.J	1001	4.435	1.474	1.474	0.365	3.456	4.596	5.546	7.590

Elaborado Por: Sara Vaca

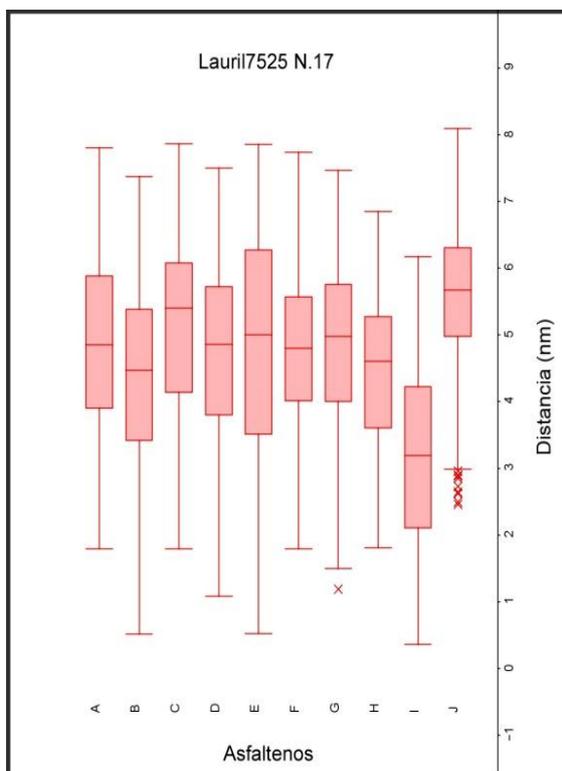
### Lauril7525 N. 17

La Tabla 7-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de lauril sulfato número 17, respecto a cada uno de los asfaltenos, en el sistema Lauril7525. La Figura 25-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.361nm correspondiente al asfalteno I, lo cual indica interacción química con la molécula de surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 8.092 nm, en el asfalteno J. Gráficamente se observa que en su mayoría, la distancia promedio de todas las moléculas de asfaltenos, se encuentra en un rango de 3 a 6 nm distantes del centro de masa del surfactante número 17.

En la Tabla 7-4, se muestra que tiene el 30% de las moléculas de asfaltenos en diferentes estadíos entran en la zona de interacción química a una distancia menor de 0.6nm. El

primer cuartil de todas las moléculas presenta distancias superiores a 2.1nm, lo que indica inexistencia de interacción química con el surfactante, y finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 6.3nm. . La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 1.0 y 1.6, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.



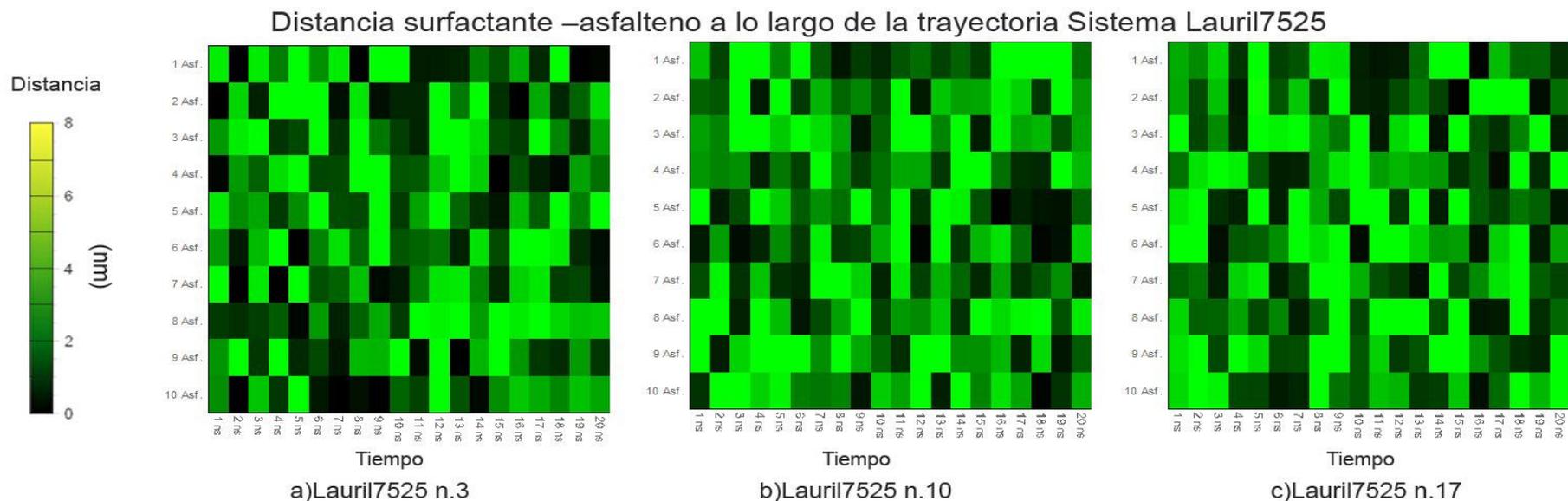
**Figura 25-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula Laurilsulfato N.17 del sistema Lauri7525

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 7-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Lauril7525 N. 17 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	$\sigma$	s	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	4.878	1.295	1.296	1.790	3.900	4.847	5.880	7.803
Asf.B	1001	4.377	1.370	1.371	0.513	3.422	4.470	5.387	7.371
Asf.C	1001	5.156	1.225	1.225	1.798	4.144	5.401	6.076	7.861
Asf.D	1001	4.650	1.350	1.351	1.080	3.799	4.861	5.727	7.504
Asf.E	1001	4.793	1.688	1.688	0.528	3.515	5.001	6.270	7.853
Asf.F	1001	4.847	1.113	1.114	1.796	4.015	4.800	5.570	7.740
Asf.G	1001	4.827	1.210	1.211	1.192	4.007	4.981	5.757	7.468
Asf.H	1001	4.479	1.107	1.107	1.808	3.610	4.609	5.274	6.847
Asf.I	1001	3.168	1.312	1.313	0.361	2.105	3.193	4.228	6.173
Asf.J	1001	5.623	1.030	1.030	2.459	4.979	5.669	6.309	8.092

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 26-4.** Distancia Surfactante-asfalto Sistema Lauril7525

**Elaborado Por:** Sara Vaca

La Figura 23-4 muestra las distancia de cada asfalto respecto a los distintos surfactantes Lauril7525, en función del tiempo en forma de los mapas de calor. Las moléculas en la gráfica son a) Lauril7525 n.3, b) Lauril7525 n.10 y c) Lauril7525 n.17. Los cuadros oscuros muestran menor distancia por ende mayor interacción intermolecular, mientras que el color verde claro muestra mayor distancia e indica que no existe interacción intermolecular. Tomemos como ejemplo el Asfalto 10 interactuando con el Laurilsulfato N.3, se observa que alrededor del 50% del tiempo esta interactuando con el surfactante Laurilsulfato, mientras que el mismo asfalto respecto al Laurilsulfato n.10, no presenta interacción con la molécula de surfactante ya que aproximadamente el 70% del tiempo en la trayectoria se encuentra a distancias mayores a 5nm. En general las tres gráficas se observan uniformes en base a interacción química.

#### 4.1.2.3. Sistema Rhamnolipido5545

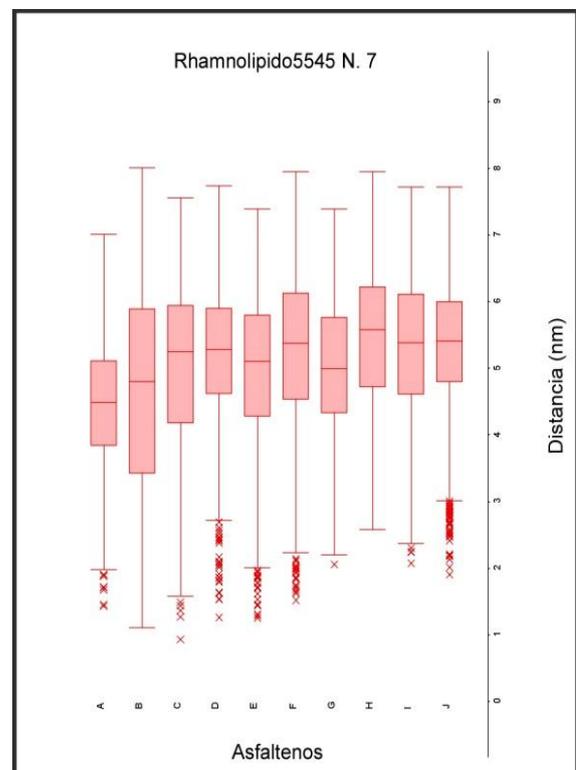
Debido a la gran cantidad de datos a evaluar se seleccionó 3 moléculas al azar con la ayuda de la herramienta Excel, de esta selección se determinó que las moléculas de surfactante en estudio son la número 7,13 y 19.

##### Rhamnolipido5545 N. 7

La Tabla 8-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de rhamnolipido número 7, respecto a cada uno de los asfaltenos en el sistema Rhamnolipido5545. La Figura 27-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.255nm correspondiente al asfalteno H, lo cual indica un interacción química con la molécula de surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 8.072 nm, en el asfalteno D. Gráficamente en promedio se observa que en su mayoría, la distancia de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 4 a 6 nm distantes del centro de masa del surfactante rhamnolipido número 7.

En la Tabla 8-4, se muestra que tiene el 50% de las moléculas de asfaltenos en diferentes estadíos entran en la zona de interacción química a una distancia menor a 0.6nm. El primer cuartil de todas las moléculas posee distancias superiores a 2.3nm, lo cual indica que no existe interacción química, y finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 6.1nm, lo que indica que su recorrido no atraviesa la caja y su área de desplazamiento es alrededor del 50% del tamaño de la caja . La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.9 y 1.5, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.



**Figura 27-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.7 del sistema Rhamnolipido5545

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 8-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido5545 N.7 y cada molécula de asfaltenos.

	N	Media	Ö	S	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	5.451	0.978	0.979	2.082	4.860	5.433	6.142	8.011
Asf.B	1001	4.695	1.449	1.449	0.462	3.657	4.929	5.729	7.921
Asf.C	1001	3.915	1.354	1.355	0.785	2.812	3.969	4.845	7.517
Asf.D	1001	4.394	1.411	1.411	0.384	3.356	4.505	5.451	8.072
Asf.E	1001	4.543	1.235	1.235	1.414	3.589	4.586	5.530	8.000
Asf.F	1001	4.146	1.587	1.588	0.287	2.924	4.394	5.465	7.383
Asf.G	1001	4.617	1.290	1.290	1.193	3.752	4.557	5.660	7.625
Asf.H	1001	3.364	1.193	1.194	0.255	2.348	3.444	4.285	6.560
Asf.I	1001	4.088	1.264	1.265	0.583	3.175	4.246	4.992	7.435
Asf.J	1001	4.163	1.378	1.379	1.158	3.044	4.257	5.182	7.206

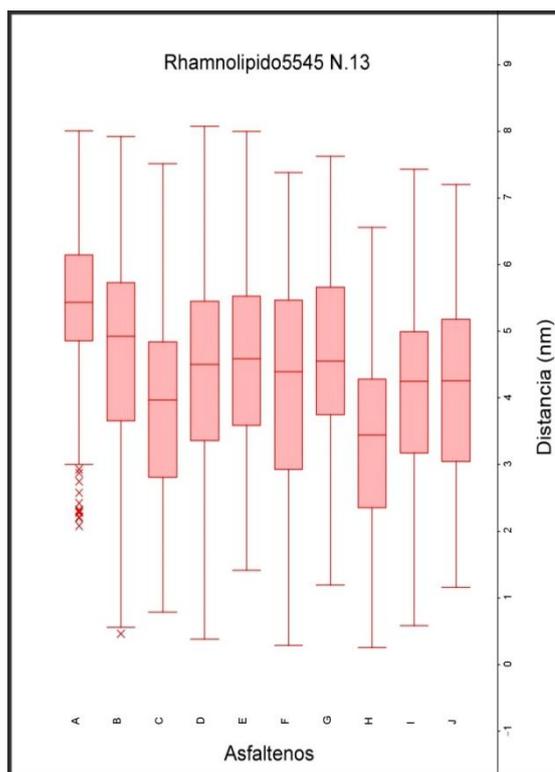
Elaborado Por: Sara Vaca

Rhamnolipido5545 N. 13

La Tabla 9-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de rhamnolipido número 13, respecto a cada uno de los asfaltenos en el sistema Rhamnolipid5545. La Figura 28-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.092nm correspondiente al asfalteno E, lo cual indica interacción química con la molécula de surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 7.212nm, en el asfalteno B. Gráficamente en promedio se observa que en su mayoría, la distancia de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 2 a 5 nm distantes del centro de masa del surfactante número 13.

En la Tabla 9-4, se muestra que tiene el 70% de las moléculas de asfaltenos en diferentes estadíos entran en la zona de interacción química con el surfactante n. 13, una distancia



**Figura 28-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.13 del sistema Rhamnolipido5545

Elaborado Por: Sara Vaca

menor de 0.6nm. Lo que indica que el surfactante n.13, tiene gran afinidad con los asfaltenos. El primer cuartil de todas las moléculas presenta distancias menores a 2.9nm, y finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 4.7nm, lo que indica que el desplazamiento de los asfaltenos, respecto al surfactante n.13 es menor al recorrido de la mitad de la caja(9,6 x 9,6 x 9,6 nm) . La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 1.0 y 1.3, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.

**Tabla 9-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido5545 N.13 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	$\sigma$	S	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	3.472	1.091	1.091	0.755	2.556	3.5218	4.291	6.352
Asf.B	1001	3.827	1.196	1.197	0.677	2.954	3.8276	4.724	7.212
Asf.C	1001	3.414	1.316	1.316	0.442	2.383	3.4314	4.451	6.791
Asf.D	1001	3.519	1.105	1.106	0.823	2.632	3.506	4.395	6.796
Asf.E	1001	3.005	1.187	1.188	0.092	2.123	2.9502	3.891	5.993
Asf.F	1001	3.049	1.193	1.193	0.469	2.178	2.977	3.855	6.827
Asf.G	1001	2.842	1.106	1.107	0.244	2.006	2.7963	3.583	6.442
Asf.H	1001	3.431	1.382	1.382	0.545	2.265	3.4445	4.571	6.609
Asf.I	1001	3.531	1.326	1.327	0.256	2.532	3.4767	4.497	6.962
Asf.J	1001	2.986	1.351	1.351	0.263	1.862	2.8976	4.021	6.459

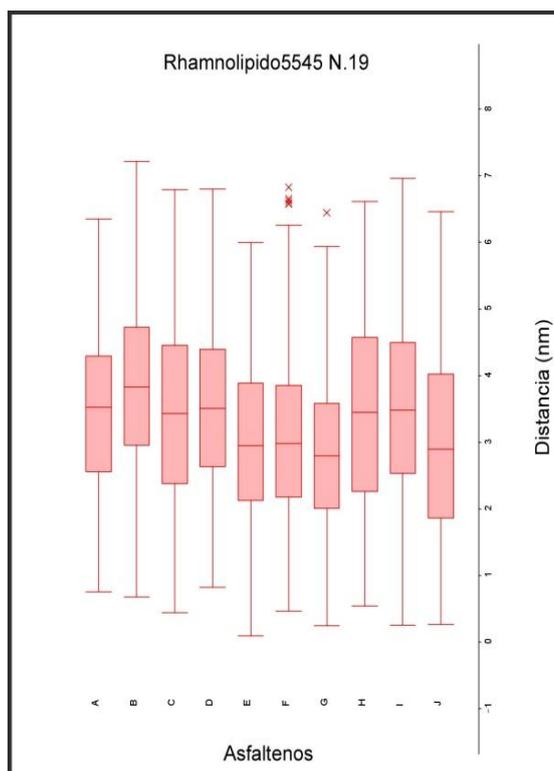
Elaborado Por: Sara Vaca

### Rhamnolipido5545 N. 19

La Tabla 10-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de rhamnolipido número 19, respecto a cada uno de los asfaltenos en el sistema Rhamnolipid5545. La Figura 29-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.255nm correspondiente al asfalteno H, lo cual indica que existe interacción química con el surfactante n.19, y la distancia máxima encontrada fue de 8.072 nm, en el asfalteno D. Gráficamente se observa que en su mayoría, la distancia promedio de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 2 a 4 nm, respecto al centro de masa del surfactante número 19.

En la Tabla 10-4, se muestra que tiene el 50% de las moléculas de asfaltenos en diferentes estadios entran en la zona de interacción química con el surfactante n.19 a una distancia menor a 0.6nm. El primer cuartil de todas las moléculas posee distancias menores a 4.8nm, y finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 6.2nm, por lo que en ambos casos no presenta interacción en la mayoría del tiempo de la trayectoria. La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.9 y 1.4, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.



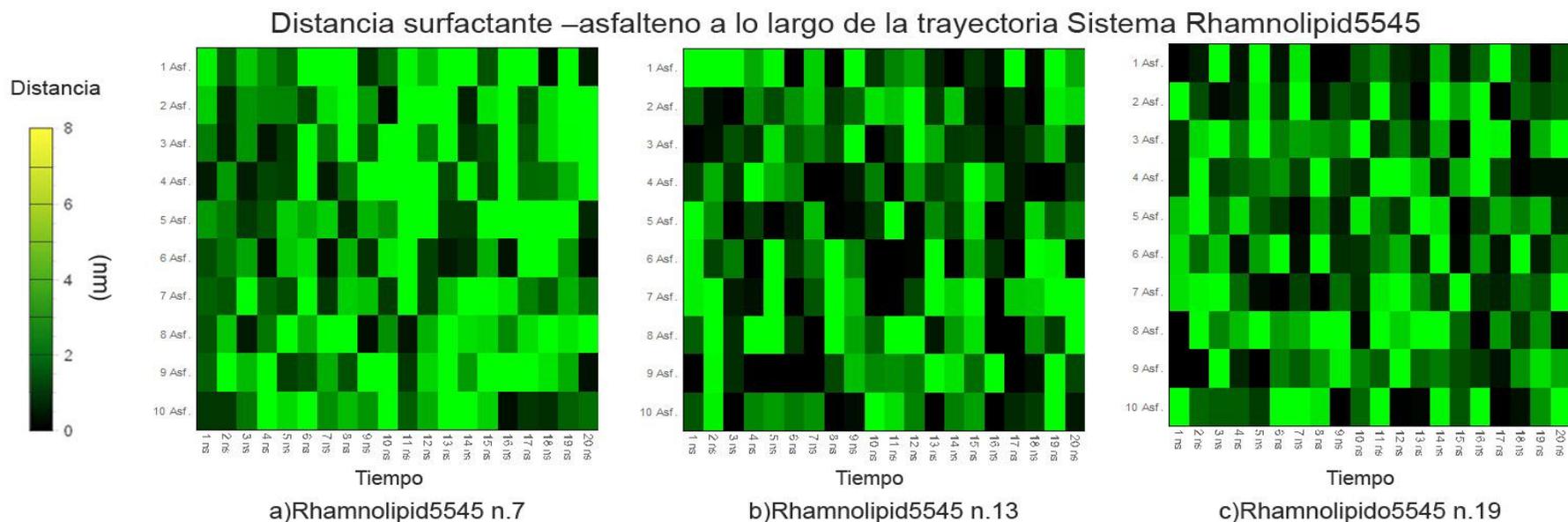
**Figura 29-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.13 del sistema Rhamnolipido5545

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 10-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido5545 N.19 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	$\sigma$	s	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	5.451	0.978	0.979	2.082	4.860	5.433	6.142	8.011
Asf.B	1001	4.695	1.449	1.449	0.462	3.657	4.929	5.729	7.921
Asf.C	1001	3.915	1.354	1.355	0.785	2.812	3.969	4.845	7.517
Asf.D	1001	4.394	1.411	1.411	0.384	3.356	4.505	5.451	8.072
Asf.E	1001	4.543	1.235	1.235	1.414	3.589	4.586	5.530	8.000
Asf.F	1001	4.146	1.587	1.588	0.287	2.924	4.394	5.465	7.383
Asf.G	1001	4.617	1.290	1.290	1.193	3.752	4.557	5.660	7.625
Asf.H	1001	3.364	1.193	1.194	0.255	2.348	3.444	4.285	6.560
Asf.I	1001	4.088	1.264	1.265	0.583	3.175	4.246	4.992	7.435
Asf.J	1001	4.163	1.378	1.379	1.158	3.044	4.257	5.182	7.206

Elaborado Por: Sara Vaca



**Figura 30-4.** Distancia Surfactante-asfalteno Sistema Rhamnolipid5545

**Elaborado Por:** Sara Vaca.

La Figura 30-4 muestra las distancia de cada asfalteno respecto a los distintos surfactantes Rhamnolipido5545, en función del tiempo en forma de mapas de calor. Las moléculas en la gráfica son a) Rhamnolipid5545 n.7, b) Rhamnolipid5545 n.13 y c) Rhamnolipido5545 n.19. Los cuadros oscuros muestran menor distancia por ende mayor interacción intermolecular, mientras que el color verde claro muestra mayor distancia e indica que no existe interacción intermolecular. Tomemos como ejemplo el Asfalteno 5 interactuando con el Rhamnolipido N.13, se observa que alrededor del 70% del tiempo esta interactuando con el surfactante rhamnolipido, mientras que el mismo asfalteno respecto al rhamnolipido n.7, no presenta interacción con la molécula de surfactante ya que aproximadamente el 70% del tiempo en la trayectoria se encuentra a distancias mayores a 4nm.

#### 4.1.2.4. Sistema Rhamnolipid7525

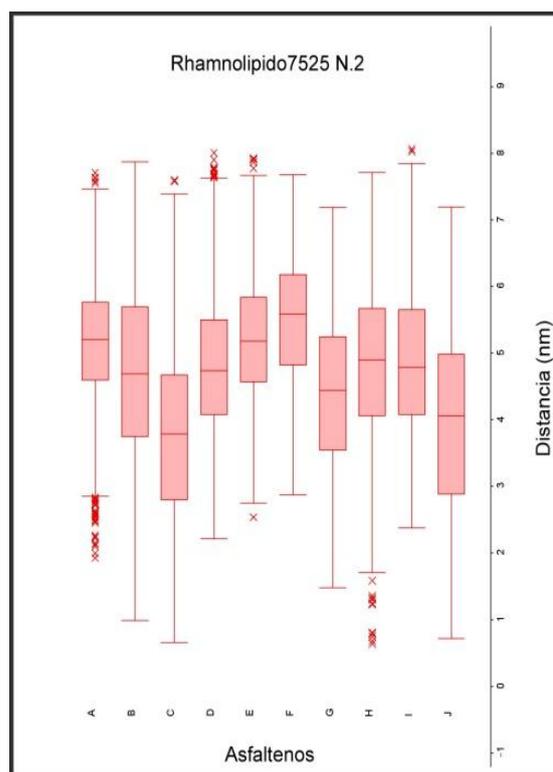
Debido a la gran cantidad de datos a evaluar se seleccionó 3 moléculas al azar con la ayuda de la herramienta Excel, de esta selección se determinó que las moléculas de surfactante en estudio son la número 2, 7 y 11.

##### Rhamnolipido7525 N. 2

La Tabla 11-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de rhamnolipido número 2, respecto a cada uno de los asfaltenos en el sistema Rhamnolipid7525. La Figura 31-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.638nm correspondiente al asfalteno H, lo cual indica que no existe interacción química con el surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 8.062nm, en el asfalteno I. Gráficamente en promedio se observa que en su mayoría, la distancia de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 3 a 6 nm distantes del centro de masa del surfactante número 2.

En la Tabla 11-4, se muestra que el 100% de las moléculas de asfaltenos no entran en la zona de interacción química. El primer cuartil de todas las moléculas presenta distancias menores a 4.8nm, lo que indica desplazamiento menor a la mitad de la caja (9,6 x 9,6 x 9,6 nm) y finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 6.1nm, respecto al surfactante n.2. La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.9 y 1.4, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.



**Figura 31-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.2 del sistema Rhamnolipido7525

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 11-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido7525 N.2 y cada molécula de asfaltenos.

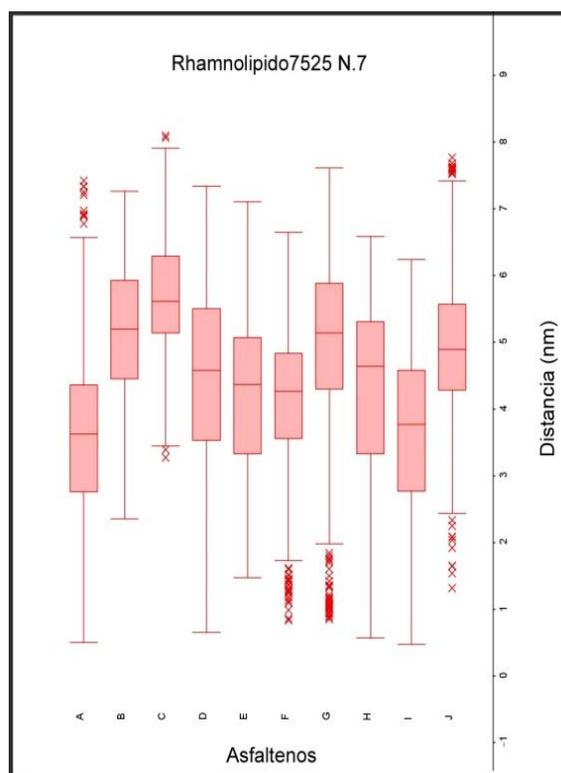
	n	Media	$\sigma$	S	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	5.117	1.034	1.034	1.927	4.596	5.2041	5.763	7.704
Asf.B	1001	4.649	1.358	1.359	0.987	3.751	4.6893	5.699	7.872
Asf.C	1001	3.786	1.386	1.387	0.66	2.803	3.7866	4.673	7.597
Asf.D	1001	4.849	1.086	1.086	2.219	4.079	4.7353	5.501	8.007
Asf.E	1001	5.162	0.949	0.949	2.536	4.57	5.1769	5.839	7.921
Asf.F	1001	5.481	0.924	0.925	2.878	4.826	5.5852	6.174	7.68
Asf.G	1001	4.404	1.161	1.162	1.481	3.547	4.4395	5.251	7.185
Asf.H	1001	4.848	1.265	1.265	0.638	4.057	4.9021	5.673	7.711
Asf.I	1001	4.847	1.08	1.081	2.376	4.077	4.7893	5.654	8.062
Asf.J	1001	3.994	1.44	1.441	0.719	2.886	4.0645	4.987	7.193

**Elaborado Por:** Sara Vaca

### Rhamnolipido7525 N. 7

La Tabla 12-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de rhamnolipido número 7, respecto a cada uno de los asfaltenos en el sistema Rhamnolipido7525. La Figura 32-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.405nm correspondiente al asfalteno E, lo cual indica interacción química con la molécula de surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 7.791nm, en el asfalteno E. Gráficamente en promedio se observa que en su mayoría, la distancia de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 2 a 6 nm en promedio distantes del centro de masa del surfactante número 7.



**Figura 32-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.7 del sistema Rhamnolipido7525

**Elaborado Por:** Sara Vaca

En la Tabla 12-4, se muestra que el 30% de las moléculas de asfaltenos en diferentes estadios entran en la zona de interacción química a una distancia menor de 0.6nm. El primer cuartil de todas las

moléculas muestra distancias menores a 4.4nm, y finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 5.7nm, lo que indica que en la mayoría de tiempo las moléculas no tuvieron desplazamientos mayores a la mitad de la caja de simulación. La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.9 y 1.5, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.

**Tabla 12-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido7525 N.7 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	$\sigma$	s	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	4.581	1.494	1.495	0.47	3.95	4.7927	5.683	7.556
Asf.B	1001	4.294	1.158	1.159	1.2	3.439	4.2274	5.229	7.034
Asf.C	1001	4.924	0.917	0.917	2.355	4.29	5.0479	5.613	6.953
Asf.D	1001	3.71	1.154	1.155	0.782	2.887	3.7938	4.525	6.941
Asf.E	1001	4.441	1.381	1.381	0.405	3.779	4.6116	5.376	7.791
Asf.F	1001	4.17	1.159	1.159	0.408	3.464	4.2822	4.972	7.204
Asf.G	1001	4.638	1.384	1.385	1.471	3.639	4.8823	5.778	6.964
Asf.H	1001	4.2	1.281	1.282	1.075	3.23	4.2956	5.272	7.307
Asf.I	1001	4.088	1.497	1.498	0.67	3.081	4.0787	5.39	7.423
Asf.J	1001	5.124	1.158	1.159	1.719	4.414	5.3063	6.006	7.512

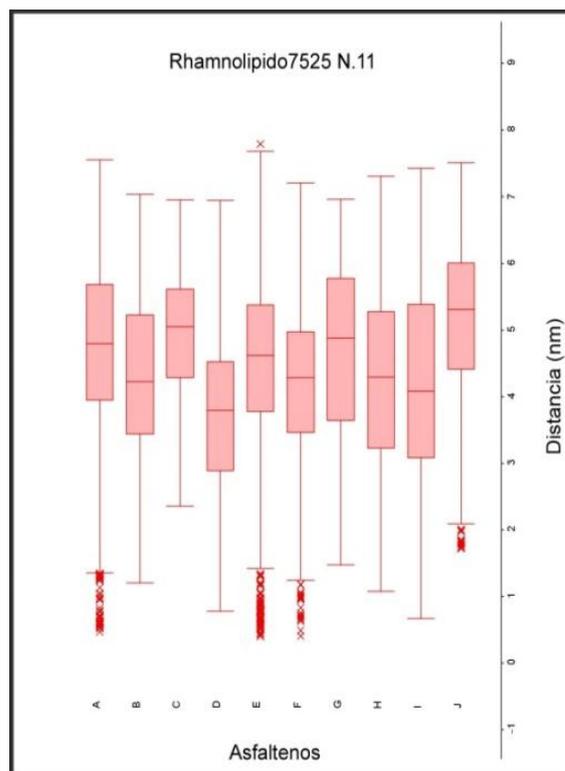
Elaborado Por: Sara Vaca

### Rhamnolipido7525 N. 11

La Tabla 13-4, muestra la evaluación estadística de la distancia de la molécula de rhamnolipido número 11, respecto a cada uno de los asfaltenos en el sistema Rhamnolipido7525. La Figura 33-4 muestra gráficamente la información de dicha evaluación.

La distancia mínima encontrada, fue de 0.477nm correspondiente al asfalteno I, lo cual indica un acercamiento íntimo a la molécula de surfactante, y la distancia máxima encontrada fue de 8.094nm, en el asfalteno C. Gráficamente en promedio se observa que en su mayoría, la distancia de todas las moléculas de asfaltenos se encuentra en un rango de 3 a 6 nm en promedio distantes del centro de masa del surfactante número 11.

En la Tabla 13-4, se muestra que el 30% de las moléculas de asfaltenos en diferentes estadíos entran en la zona de interacción química a una distancia menor de 0.6nm. El primer cuartil de todas las moléculas presenta distancias menores a 5.1nm, y finalmente el tercer cuartil no presenta distancias mayores de 6.2nm, por lo que no se encuentran en la zona de interacción química. La desviación estándar tanto en la muestra como en la población, está entre 0.8 y 1.3, lo cual indica uniformidad en el comportamiento de cada molécula.



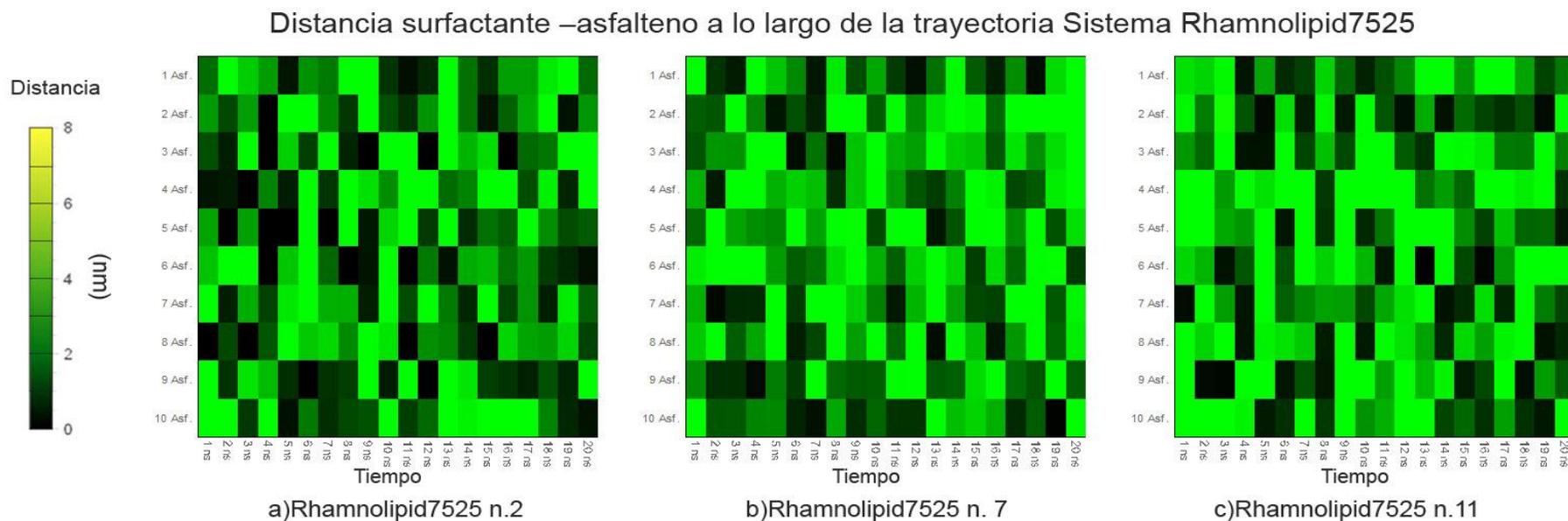
**Figura 33-4.** Evaluación de distancias de asfaltenos (A-J) a la molécula rhamnolipido N.11 del sistema Rhamnolipido7525

**Elaborado Por:** Sara Vaca

**Tabla 13-4.** Evaluación estadística de las distancias entre la molécula Rhamnolipido7525 N.11 y cada molécula de asfaltenos.

	n	Media	$\sigma$	s	Min	Q1	Mediana	Q3	Max
Asf.A	1001	3.574	1.167	1.168	0.498	2.758	3.6211	4.359	7.425
Asf.B	1001	5.161	0.964	0.965	2.357	4.453	5.1964	5.931	7.266
Asf.C	1001	5.703	0.852	0.852	3.275	5.137	5.6103	6.287	8.094
Asf.D	1001	4.466	1.338	1.339	0.655	3.531	4.5818	5.504	7.34
Asf.E	1001	4.224	1.174	1.174	1.47	3.326	4.3711	5.074	7.104
Asf.F	1001	4.132	1.061	1.062	0.831	3.559	4.2694	4.834	6.646
Asf.G	1001	4.967	1.37	1.371	0.851	4.298	5.1414	5.881	7.615
Asf.H	1001	4.282	1.318	1.319	0.568	3.325	4.6358	5.305	6.586
Asf.I	1001	3.631	1.196	1.196	0.477	2.765	3.7647	4.576	6.237
Asf.J	1001	4.948	1.036	1.037	1.313	4.285	4.8912	5.567	7.769

**Elaborado Por:** Sara Vaca



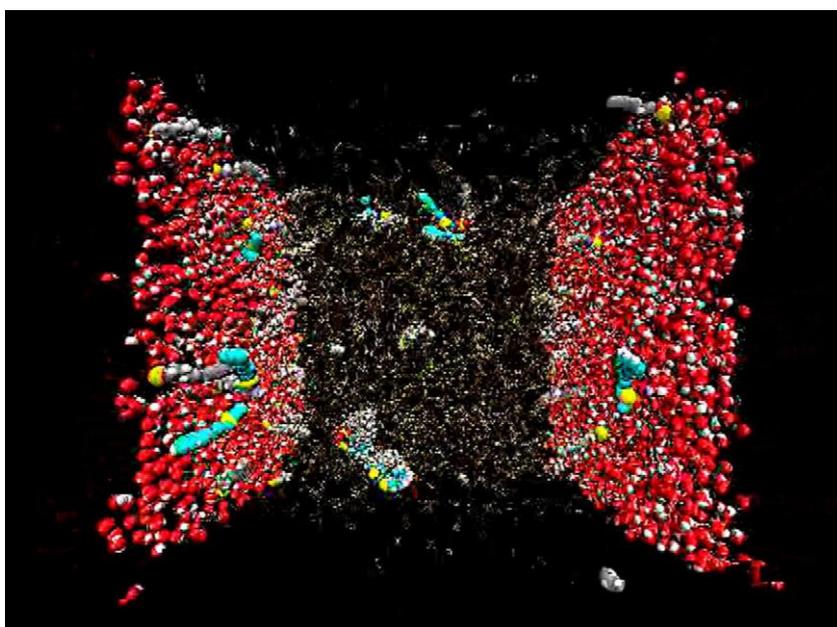
**Figura 34-4.** Distancia Surfactante-asfalteno Sistema Rhamnolipido7525

Elaborado Por: Sara Vaca

La Figura 34-4 muestra las distancia de cada asfalteno respecto a los distintos surfactantes Rhamnolipido7525, en función del tiempo en forma de mapas de calor. Las moléculas en la gráfica son a) Rhamnolipido7525 n.2, b) Rhamnolipido7525 n.7 y c) Rhamnolipido7525 n.11. Los cuadros oscuros muestran menor distancia por ende mayor interacción intermolecular, mientras que el color verde claro muestra mayor distancia e indica que no existe interacción intermolecular. Tomemos como ejemplo el Asfalteno 9 interactuando con el Rhamnolipido N.2, se observa que alrededor del 60% del tiempo está en interacción química con el surfactante rhamnolipido, mientras que el mismo asfalteno respecto al rhamnolipido n.11, no presenta mayor interacción con la molécula de surfactante ya que aproximadamente el 60% del tiempo en la trayectoria se encuentra a distancias mayores a 5nm.

## 4.2. Discusión de resultados

El modelo de la caja presentado en esta investigación tiene el tamaño de 9,6nm de espesor, esta podría ser comparable con una interface agua-petróleo a nivel macro. En la interface, donde suceden varias interacciones químicas, se aprecia que la concentración de surfactante, baja la tensión interfacial cuando interactúa con el agua, esto permite que el surfactante entre en la fase orgánica y pueda tener contacto con los asfaltenos. La Figura 35-4, muestra el instante en el que las moléculas presentan dicho comportamiento.



**Figura 35-4.** Modelo de Caja-Interface

Elaborado Por: Sara Vaca

Los resultados muestran el aporte científico de la investigación, por lo que se consideró realizar una lista de cotejo en base a características relevantes, que los sistemas deben cumplir. Estos factores garantizarían que los valores resultados obtenidos son válidos. La Tabla 14-4, muestra los resultados de cada característica frente a cada sistema desde el desarrollo de los sistemas trifásicos hasta la etapa de dinámica molecular. Además se incluye una tabla (Tabla 15-4) donde se evalúa el cambio en la conformación de las estructuras moleculares iniciales, por medio de la medida de los enlaces químicos principales de cada molécula, tomando como referencia las moléculas iniciales optimizadas en la plataforma virtual ATB y comparadas con las estructuras finales de DM.

**Tabla 14-4.** Lista de Cotejo de Sistemas sometidos a Dinamica Molecular

<i>Criterios de evaluación</i>	<i>SISTEMAS SOMETIDOS A DINAMICA MOLECULAR</i>					
	<i>ST5545</i>	<i>ST7525</i>	<i>ST5545 Rhamnolipido</i>	<i>ST7525 Rhamnolipido</i>	<i>ST5545 Laurilsulfato</i>	<i>ST7525 LaurilSulfato</i>
<b>Minimización</b>						
Energía Potencial Negativa	■	■	■	■	■	■
Temperatura Alcanzada 200°C	■	■	■	■	■	■
<b>Ensamble NVT</b>						
Energía > 1000kJ/mol*nm	■	■	■	■	■	■
<b>Ensamble NPT</b>						
Densidad Constante	■	■	■	■	■	■
Presión Constante	■	■	■	■	■	■
<b>Producción-Ensamble NVT</b>						
Densidad Constante	■	■	■	■	■	■
Presión Constante	■	■	■	■	■	■
Temperatura Constante	■	■	■	■	■	■
Volumen Constante	■	■	■	■	■	■
RMSD Constante	■	■	■	■	■	■
<b>Análisis de Distancias</b>						
Distancias asfalteno-surfactante < 0.6nm			■■■	■■■	■■■	■■■

Elaborado por: Sara Vaca

Los campos marcados en color negro son campos que se han cumplido en su totalidad, efectivamente estos resultados son indispensables para obtener una dinámica molecular óptima, después de varias pruebas finalmente los sistemas moleculares cumplieron con los requisitos para ser considerados “ideales”, a pesar de que durante la trayectoria siempre existen pequeñas variaciones, la estabilidad en conjunto es considerada relevante.

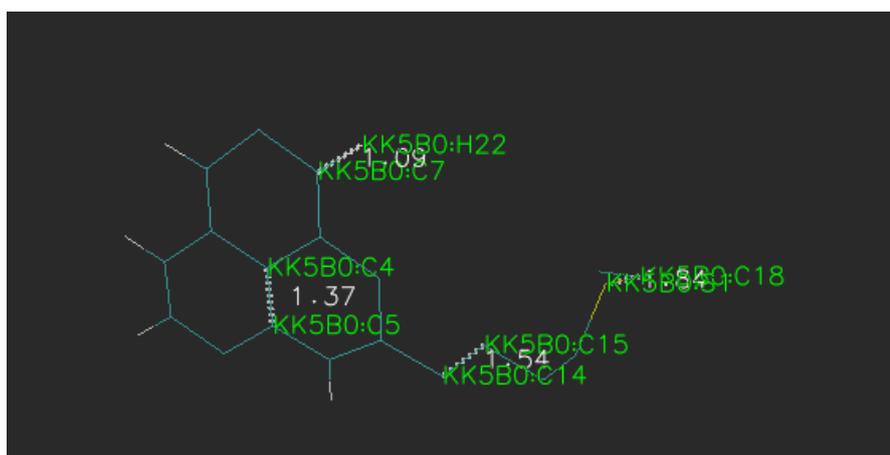
Durante la simulación se realiza la etapa preliminar NVT donde se calienta el sistema, esto puede influir a un sobrecalentamiento del sistema y por ende a un elevado valor de energía cinética donde se pueden desencadenar movimientos inusuales a causa del exceso de energía. La temperatura en los sistemas en +/- 2K, con una temperatura promedio en NVT

de 200.073 K y en producción de 300.151 K, lo que muestra que el sistema no tiene sobrecalentamiento

La densidad general de los sistemas muestra una oscilación de  $\pm 1 \text{ kg/m}^3$ , con un valor promedio de  $789.954 \text{ kg/m}^3$ , lo que muestra estabilidad en todos los sistemas. Al variar dicho valor, nos puede indicar que dentro de la caja existen vacíos y esto afectará la simulación.

La presión es un valor determinante en simulación, pues los sistemas deben contar con cierta energía que estimula el movimiento de las moléculas, si éste valor tiende a variar mucho, indicaría inestabilidad en los sistemas. La presión en todos los sistemas muestra una estabilidad con un rango de  $\pm 50 \text{ KPa}$  de presión, con una presión promedio de  $84.164 \text{ KPa}$ . A pesar de que este valor puede aparentar ser muy amplio, es debido a las unidades en uso ya que  $1 \text{ KPa} = 0,0098 \text{ atm}$ .

Al momento del diseño de la caja se establece un volumen a partir de cálculos en base a densidad y número de moléculas que tendrá la misma. Este volumen durante los procesos preliminares cambia pues es optimizado, en la etapa de producción el volumen debe ser constante pues esto garantiza la óptima interacción de las moléculas. La variación de volumen es de  $<1 \text{ nm}^3$ , con un volumen promedio de  $863.59 \text{ nm}^3$ , lo cual establece que la caja tiene tamaño constante durante la trayectoria.



**Figura 36-4.** Medidas internas de la molécula original de asfalto

Elaborado Por: Sara Vaca

**Tabla 15-4.** Evaluación de Distancias de enlace químico de las moléculas asfalteno, rhamnolipido y laurilsulfato en los sistemas de estudio; estado inicial y final.

Tipo de enlace	Distancias en cada sistema				
	Molécula original	Rhamnolipido 7525	Rhamnolipido 5545	Lauril7525	Lauril5545
<b>Asfalteno</b>					
C-C cola	1.54	1.53	1.53	1.53	1.53
C=C	1.37	1.39	1.39	1.39	1.32
C-H	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09
C-S	1.84	1.83	1.84	1.84	1.83
<b>Rhamnolipid</b>					
H-O	0.97	1	1	-	-
C-C	1.51	1.52	1.52	-	-
C-H	1.12	1.1	1.1	-	-
C-O	1.44	1.43	1.43	-	-
<b>Laurilsulfato</b>					
C-C	1.53	-	-	1.52	1.53
S-O	1.66	-	-	1.68	1.68
C-H	1.1	-	-	1.1	1.09
C-O	1.43	-	-	1.43	1.43

Elaborado Por: Sara Vaca

Como muestra la Tabla 15-4., en algunos casos hay una variación muy pequeña de longitud de enlace, sin embargo al ser la variación menor al 2%, se considera que no existe deformación alguna en las moléculas, las cuales conservaron su estructura original, durante toda la simulación de dinámica molecular.

A continuación se muestra una tabla 16-4. Comparación de densidades en sistemas frente a la densidad ponderada, donde se muestra que los valores son íntimamente similares y están totalmente relacionados con la realidad.

**Tabla 16-4.** Comparación de densidades en sistemas frente a la densidad ponderada

Sistema	Tipo de Ensamble				
	Equilibración NPT		Etapa de Producción-Dinámica Molecular		Densidad Ponderada
	Densidad		Densidad		Densidad
	Media (Kg/m <sup>3</sup> )	σ (Kg/m <sup>3</sup> )	Media (Kg/m <sup>3</sup> )	σ (Kg/m <sup>3</sup> )	Media (Kg/m <sup>3</sup> )
<b>ST7525</b>	767.429	1.586	767.7	0.864	768.121
<b>ST5545</b>	792.126	1.305	796.166	0.936	799.144
<b>Lauril7525</b>	777.61	0.924	777.8	0.966	777.9
<b>Lauril5545</b>	806.377	0.852	808.608	1.009	808.368
<b>Rhamnolipid 7525</b>	781.28	1.017	781.43	0.894	782.012
<b>Rhamnolipid 5545</b>	805.641	1.102	808.023	1.007	807.529

Elaborado Por: Sara Vaca

Finalmente se realiza un análisis porcentual general de eficiencia en las distancias de interacción obtenidas en los surfactantes muestra con acorde a cada sistema. La Tabla 17-4. Resumen eficiencia porcentual distancias asfaltenos-surfactantes. Claramente se observa que el Rhamnolipido contiene eficiencia máxima del 70% y mínima del 50% en el caso del sistema Rhamnolipid5545, sorprendentemente el caso es diferente para el sistema Lauril5545 el cuál tiene una eficiencia máxima del 20% y mínima del 0% de interacción. Lo que nos indica que a nivel de nanosistemas en dinámica molecular, el sistema Rhamnolipido es más eficiente que el Lauril-sulfato comúnmente utilizado en la industria en recuperación mejorada de petróleo.

**Tabla 17-4.** Tabla Resumen distancias asfaltenos-surfactantes

<b>TABLA RESUMEN DISTANCIAS ASFALTENOS-SURFACTANTES</b>			
<b>SISTEMA</b>	<b>Molécula</b>	<b>Distancia Min. (nm)</b>	<b>Porcentaje de interacción</b>
<b>Lauril5545</b>	Lauril n.5	0.969	<b>0%</b>
	Lauril n. 12	0.22	20%
	Lauril n. 15	0.803	<b>0%</b>
<b>Lauril7525</b>	Lauril n. 3	0.459	20%
	Lauril n. 10	0.365	30%
	Lauril n. 17	0.361	30%
<b>Rhamnolipid 5545</b>	Rhamnolipido n. 7	0.255	50%
	Rhamnolipido n. 13	0.255	50%
	Rhamnolipido n. 19	0.092	<b>70%</b>
<b>Rhamnolipid 7525</b>	Rhamnolipido n. 2	0.638	<b>0%</b>
	Rhamnolipido n. 7	0.405	30%
	Rhamnolipido n. 11	0.477	30%

**Elaborado Por:** Sara Vaca

## CONCLUSIONES

- Dentro de esta investigación fueron estudiados el biosurfactante Rhamnolipido de modelo sencillo propuesto por (Van Dike, M.I. 1993), el cual posee mayor solubilidad, biodegradabilidad en condiciones aeróbicas y anaeróbicas; y el surfactante control Lauril sulfato, comúnmente utilizado en la industria en el transporte de crudo pesado.
- Luego de una exhaustiva revisión bibliográfica y de experimentación, se logró identificar las estructuras de los componentes químicos representativos del hidrocarburo siendo este un fragmento del modelo de asfalteno tipo archipiélago propuesto por Tukhvatulina AZ. La fórmula química del asfalteno es  $C_{19}H_{24}S$  y su peso molecular 284,459 g/mol con un número total de 44 átomos y 46 enlaces. Debido a la tendencia de los asfaltenos a agregarse, se consideró utilizar solventes para facilitar la interacción entre asfaltenos y surfactantes, con base en el estudio realizado por Tukhvatullina, A. Z, donde se presenta dos ensayos como referencia: el primero con un 75% de tolueno y un 25% de heptano y el segundo con un 55% de tolueno y un 45% de heptano, ambos con una concentración de 5g/L de asfaltenos.
- Se seleccionó el bio-surfactante Rhamnolipido el cual se obtiene a través de la síntesis metabólica de la bacteria *Pseudomona aeruginosa*. Este surfactante presenta un potencial de alta disponibilidad, pues al ser producido por una bacteria es posible su síntesis en laboratorio por medio de bioreactores.
- Por medio del software Avogadro se construyó los modelos de Asfalteno, Rhamnolipido y Lauril sulfato (surfactante control), dichas moléculas fueron optimizadas. Posteriormente se procesó su topología en la plataforma gratuita ATB, finalmente se realizó una minimización para obtener el equilibrio de las moléculas del sistema en conjunto, para la simulación molecular.
- Después de analizar las gráficas de Equilibración y Producción de cada sistema, conjuntamente con el análisis de la lista de cotejo, tabla de densidades y longitud de enlaces, se determinó que los resultados son confiables, ya que cumplen positivamente con los parámetros nominales de evaluación. A partir de esta información se demuestra que el modelo y metodología son adecuados para el estudios de petróleo y surfactantes.

- Al comparar los resultados de las distancias según la tabla 17-4, se observa que hay mayor interacción del Rhamnolipido 5545, superiores al 50 % de interacciones químicas con distancias menores a 0,6nm. Los Sistemas Lauril 7525, Rhamnolipid7525 y Lauril5545 presentaron distancias menores a 0,6nm únicamente en el 30% de sus valores mínimos de distancia de interacción.

## **RECOMENDACIONES**

- La selección de modelos moleculares iniciales, es sumamente importante durante el desarrollo de la investigación, se sugiere siempre empezar con modelos simples, para evitar el uso de tiempo de cálculo en el sistema operativo, además de que en sistemas demasiado grandes, la indagación de errores puede tomar excesivo tiempo.
- Para tener resultados que gráficamente entreguen mayor información, se recomienda incrementar el número de puntos de impresión en los resultados en el archivo de referencia .mdp.
- Usar las herramientas que están incorporadas en los diferentes software, porque éstas ya han sido evaluadas y existen manuales de como utilizarlas, utilizar el tiempo en descubrir nuevas formas de obtener un resultado es innecesario.
- Se incentiva a continuar con el estudio de Biosurfactantes, respecto al suelo, ya que esta investigación evidenció la afinidad existente entre Rhamnolipido y asfaltenos, por lo que el siguiente nivel sería incluir al suelo como sistema físico. Las zeolitas son una buena opción para determinar comportamiento, ya que existe extensos estudios sobre el suelo con dicha representación molecular.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **ATKINS, Peter; DE PAULA, Julio.** *Physical chemistry for the life sciences.* Oxford University Press, USA, 2011.pp.458.
2. **BANCO MUNDIAL,** Informe Cambio Climático, 2006  
Disponible en: <http://datos.bancomundial.org/indicador/EG.USE.COMM.FO.ZS>
3. **CABRERA-VALLADARES, Natividad,** et al. Monorhamnolipids and 3-(3-hydroxyalkanoxy) alkanolic acids (HAAs) production using *Escherichia coli* as a heterologous host. *Applied microbiology and biotechnology*, 2006, vol. 73, no 1, p. 187-194.  
Disponible en:<http://link.springer.com/article/10.1007/s00253-006-0468-5>
4. **CHANG, Raymond.** *Physical chemistry for the biosciences.* University Science Books, 2005.pp. 492-498
5. **FERRERA, Ronald; ROJAS, Norma; POGGI, Hector; ALARCON, Alejandro; CAÑIZARES, Rosa.** “Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos”. *Revista Latinoamericana de Microbiología* Vol. 48, No. 2, (Abril-Junio2006) pp179-187.  
Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2006/mi062s.pdf>
6. **FRIEND, David J.** *Remediation of petroleum-contaminated soils.* Vol. 226 Transportation Research Board, 1996.
7. **GARBISU, Carlos; AMÉZAGA, Ibone; ALKORTA, Itziar.** “Biorremediación y ecología”. *Revista Ecosistemas*, 2002, vol. 11, no 3.  
Disponible en:  
<http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/viewFile/591/558>
8. **GEOGEBRA.** International Geogebra Institute, 2002.  
Disponible en: <https://www.geogebra.org>
9. **HANWELL, Marcus; CURTIS, Donald; LONIE, David; VANDERMEERSCH, Tim; ZUREK, Eva ; HUTCHISON, Geoffrey.** “Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform” *Journal of Cheminformatics* 2012.  
Disponible en: [http://avogadro.cc/wiki/Main\\_Page](http://avogadro.cc/wiki/Main_Page)

10. **HEADEN, Thomas F.; BOEK, Edo S.; SKIPPER, Neal T.** “Evidence for Asphaltene Nanoaggregation in Toluene and Heptane from Molecular Dynamics Simulations”. *Energy & Fuels*, 2009, vol. 23, no 3, p. 1220-1229.  
Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/profile/Edo\\_Boek2/publication/231273900\\_Evidence\\_for\\_Asphaltene\\_Nanoaggregation\\_in\\_Toluene\\_and\\_Heptane\\_from\\_Molecular\\_Dynamics\\_Simulations/links/004635352d8f4eb841000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Edo_Boek2/publication/231273900_Evidence_for_Asphaltene_Nanoaggregation_in_Toluene_and_Heptane_from_Molecular_Dynamics_Simulations/links/004635352d8f4eb841000000.pdf)
11. **HOLMBERG, Krister**, et al. “Surfactants and polymers in aqueous solution”. *Journal of Synthetic Lubrication*, 2004, vol. 20, no 4, p. 367-370.  
Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsl.3000200408/abstract>
12. **HOLMBERG, Krister**, et al. Surfactants and polymers in aqueous solution. Wiley, 2003.  
Disponible en: <http://publications.lib.chalmers.se/publication/200808-surfactants-and-polymers-in-aqueous-solution-2nd-ed>
13. **KHAN, Faisal I.; HUSAIN, Tahir; HEJAZI, Ramzi.** An overview and analysis of site remediation technologies. *Journal of environmental management*, 2004, vol. 71, no 2, p. 95-122.  
Disponible en: <http://www.uvm.edu>
14. **KŁOSOWSKA-CHOMICZEWSKA, I. E.; MĘDRZYCKA, K.; KARPENKO, E.** “Biosurfactants–Biodegradability, toxicity, efficiency in comparison with synthetic surfactants”. 2011.  
Disponible en:  
<http://rymd.lwr.kth.se/forskningsprojekt/Polishproject/rep17/Klosowska-Chomiczewska.pdf>
15. **LINDAHL, E.**, et al. Gromacs User Manual, version 4.5. 6., 2010.  
Disponible en:<ftp://ftp.gromacs.org/pub/manual/manual-4.5.6.pdf>
16. **LLADÓ FERNÁNDEZ, Salvador.** Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas implicadas. 2012.. Memoria de Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Facultad de Biología. pp. 21-24, 40-41.  
Disponible en:  
[http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42417/5/SLLF\\_TESIS.pdf](http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42417/5/SLLF_TESIS.pdf)
17. **MABRAHAM, GROMACS**,2009  
Disponible en:<http://www.gromacs.org/>

18. **MAKKAR, Randhir S.; ROCKNE, Karl J.** “Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons”. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, vol. 22, no 10, p. 2280-2292.  
Disponible en:  
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.583.6585&rep=rep1&type=pdf>
19. **MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBBS, B. F.** “Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review”. *Engineering Geology*, 2001, vol. 60, no 1, p.371-380.  
Disponible en: <https://www.ualberta.ca/~mrscott/host/hw/400/sdarticle5.pdf>
20. **OOSTENBRINK, Chris**, et al. Validation of the 53A6 GROMOS force field. *European Biophysics Journal*, 2005, vol. 34, no 4, p. 273-284.  
Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/profile/Thereza\\_Soares/publication/7933453\\_Validation\\_of\\_the\\_53A6\\_GROMOS\\_force\\_field/links/09e4151016df111818000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Thereza_Soares/publication/7933453_Validation_of_the_53A6_GROMOS_force_field/links/09e4151016df111818000000.pdf)
21. **PETROAMAZONAS**, “Informe De Gestion 2014”.  
Disponible en:  
<http://www.petroamazonas.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/03/INFORME-PAM-2014-para-web.pdf>
22. **PETRUCCI, Ralph H.** et. al. *General Chemistry*. Eight Edition. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, Inc. 2002. 497-500
23. **RIOJAS Héctor, TORRES Luis, MONDACA Iram. BALDERAS José, GORTÁRES Pablo.** “Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos”. *Revista Química Viva*, Diciembre-2010, n.3, pp 120-136.  
Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/profile/Luis\\_Torres7/publication/50285620\\_Efectos\\_de\\_los\\_surfactantes\\_en\\_la\\_biorremediacion\\_de\\_suelos\\_contaminados\\_con\\_hidrocarburos/links/53dfd7370cf2a768e49bec94.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Luis_Torres7/publication/50285620_Efectos_de_los_surfactantes_en_la_biorremediacion_de_suelos_contaminados_con_hidrocarburos/links/53dfd7370cf2a768e49bec94.pdf)
24. **SALAGER, Jean Louis.** “Surfactantes en solución acuosa”. *Cuaderno FIRP*, 1993, vol. 201, p. 1-19.  
Disponible en: <http://www.firp.ula.ve>

25. **SALAGER, Jean-Louis.** “Surfactants types and uses”. *Fire p booket-E300- attaching aid in surfactant science and engineering in English. Merida Venezuela,* 2002, vol. 2, p. 2-35.  
Disponible en: <http://www.nanoparticles.org/pdf/Salager-E300A.pdf>
26. **SALAGER, Jean-Louis; FERNANDEZ, Alvaro.** “Surfactantes”. *Cuaderno FIRP* 2004, pp 8-25.  
Disponible en: <http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S302.pdf>
27. **SCHROEDER, Randy H. Adams; RODRÍGUEZ, Verónica I. Domínguez; HERNÁNDEZ, Leonardo García.** “Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano”. *Terra*, 1999, vol. 17, no 2, p. 159-174.  
Disponible en: <http://www.chapingo.mx/terra/contenido/17/2/art159-174.pdf>
28. **SELLERS, Kathleen.** *Fundamentals of hazardous waste site remediation.* CRC Press, 1998.
29. **TUKHVATULLINA, A. Z.,** et al. Supramolecular structures of oil systems as the key to regulation of oil behavior. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 2013.  
Disponible en: <http://www.omicsonline.org/supramolecular-structures-of-oil-systems-as-the-key-to-regulation-of-oil-behavior-2157-7463.1000152.pdf>
30. **URUM, Kingsley; PEKDEMIR, Turgay.**” Evaluation of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing”. *Chemosphere*, 2004, vol. 57, no 9, p. 1139-1150.  
Disponible en:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653504006630>
31. **VAN DYKE, M.I.; COUTURE, P; BRAUER, M; LEE H.; TREVORS, J.T. ,** et al. “Pseudomonas aeruginosa UG2 rhamnolipid biosurfactants: structural characterization and their use in removing hydrophobic compounds from soil.” *Canadian Journal of Microbiology*, 1993, vol. 39, no 11, p. 1071-1078.  
Disponible en: <https://www.researchgate.net>
32. **VIDALI, M.,** et al. Bioremediation. an overview. *Pure and Applied Chemistry*, 2001, vol. 73, no 7, p. 1163-1172.  
Disponible en: <http://www.eolss.net/sample-chapters/c17/e6-58-09-13.pdf>
33. **VMD - Visual Molecular Dynamics.** William Humphrey, Andrew Dalke, and Klaus Schulten. *Journal of Molecular Graphics*, 14:33-38, 1996.  
Disponible en: <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>

34. **WOLFRAM**, Computation Meets knowledge, 2016.

Disponibile en: <http://www.wolfram.com/>

## ANEXOS

**Anexo 1. Tabla 2-1** Técnicas de Remediación de Suelos y factores determinantes

	<i>Lavado de Suelo</i>	<i>Extracción por vapor</i>	<i>Landfarming</i>	<i>Flushing - Enjuague de Suelo</i>	<i>Encapsulamiento</i>	<i>Desorción Térmica</i>	<i>Biopilas</i>	<i>Fitoremediación</i>	<i>Aereación</i>
<i>Requiere Pretratamiento</i>	Ácidos húmicos	No	COV's	No	COV's	No	COV's	No	No
<i>Requiere Postratamiento</i>	El suelo tratado deben recibir postratamiento. El agua utilizada en el lavado debe recibir postratamiento	Gases	No	Si es necesario tratar el agua de enjuague, pero se puede realizar recuperación de compuestos en la solución de anjuague.	Puede resultar suelo contaminado	Los gases extraídos deben ser tratados	No	Disposición Final de Plantas utilizadas	En caso de que el suelo presente aun contaminantes peligrosos
<i>Requiere Aditivos</i>	* Solventes	No	Nutrientes, Microorganismos	Surfactantes, Solventes	Si	No	Nutrientes, aireación y microorganismos	Nutrientes	No
<i>Tipo de suelo</i>	Arcilloso	Arcilloso	Arenoso	Arcilloso	Todos	Todos	Todos	Todos	Todos
<i>Tipo de contaminantes</i>	Hidrocarburos, metales pesados, HAP's, pesticidas	COV's	<50.000 ppm TPH	TPH, HAP's, COV's, pesticidas, contaminantes hidrofóbicos	Compatibles con compuestos encapsulantes	COV's, compuestos volátiles	<50.000 ppm TPH	Metales pesados, TPH's, HAP's, insecticidas, explosivos, surfactantes	COV's, Pesticidas y combustibles
<i>COV's</i>	Si	Si	No	Si	No	Si	Si	No	Si
<i>Ubicación</i>	In-situ	In-situ	Ex-situ	In-situ	Ex-situ	Ex-situ	Ex-situ	In-Situ/Ex-situ	Ex-situ
<i>Capacidad de tratamiento en Volumen de Suelo</i>	Alto	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Bajo	Medio	Bajo	Medio
<i>Tiempo</i>	Corto	Medio	Medio	Corto	Corto	Corto	Medio	Largo	Largo
<i>Recolección de datos</i>	Si	No	Si	Si	Si	Si	Si	No	No
<i>Permeabilidad del Suelo</i>	Óptimo	Óptimo	No recomendable	Óptimo	N/A	N/A	Óptimo	Óptimo	N/A
<i>Presencia de agua</i>	No	Si	No	No	N/A	N/A	N/A	Si	N/A
<i>Costo</i>	Medio	Bajo	Bajo	Medio	Alto	Alto	Medio	Alto	Alto

Elaborado por: Sara Vaca

## Anexo 2. Cálculos Generales para la Construcción de Sistemas.

### Volumen de caja:

#### Sistema Tolueno-Heptano-Asfalteno

El volumen de la caja se calculará a partir de la concentración de asfaltenos que se requiere en la solución.

$$N. Moles = 5 \frac{g}{L} * \frac{1mol}{268g/L} * \frac{6.022 \times 10^{23}}{1mol} = 2.247 \times 10^{20} moles/L$$

Para poder observar la agregación de las moléculas se determinó que se utilizarán 10 moléculas del fragmento de asfaltenos.

$$Volumen = 10 \text{ moléculas} * \frac{1L}{2.247 \times 10^{20} mol} * \frac{1000 \text{ cm}^3}{1L} * \frac{(1 \times 10^9 \text{ nm})^3}{(100 \text{ cm})^3} = 890 \text{ nm}^3$$

Para tener las dimensiones de la caja definidas entonces,

$$Dimensiones \text{ de caja} = \sqrt[3]{890 \text{ nm}^3}$$

$$Dimensiones \text{ de caja} = 9.6 \text{ nm} \times 9.6 \text{ nm} \times 9.6 \text{ nm}$$

Se realizará dos cajas con dos concentraciones de solventes diferentes:

#### Tolueno al 25%- Heptano 75%

Tolueno 25%

$$N. Moles = 866.90 \frac{g}{L} * \frac{1mol}{92.14g/L} * \frac{6.022 \times 10^{23}}{1mol} = 5.6658 \times 10^{24} moles/L$$

$$Volumen = \frac{1L}{5.6658 \times 10^{24}} * \frac{1000 \text{ cm}^3}{1L} * \frac{(1 \times 10^9 \text{ nm})^3}{(100 \text{ cm})^3} = 0.17649 \text{ nm}^3$$

$$N. Moléculas = \frac{890 \text{ nm}^3}{0.17649 \text{ nm}^3} = 5042.77 \rightarrow 25\% \rightarrow 1260$$

Heptano 75%

$$N. Moles = 684 \frac{g}{L} * \frac{1mol}{\frac{100.21g}{L}} * \frac{6.022 \times 10^{23}}{1mol} = 4.11 \times 10^{24} moles/L$$

$$\text{Volumen} = \frac{1L}{4.11 \times 10^{24}} * \frac{1000 \text{ cm}^3}{1L} * \frac{(1 \times 10^9 \text{ nm})^3}{(100 \text{ cm})^3} = 0.2433 \text{ nm}^3$$

$$N. \text{ Moléculas} = \frac{890 \text{ nm}^3}{0.2433 \text{ nm}^3} = 3658.04 \rightarrow 75\% \rightarrow 2743$$

### **Tolueno al 45%- Heptano 55%**

*Tolueno 45%*

$$N. \text{ Moles} = 866.90 \frac{g}{L} * \frac{1 \text{ mol}}{92.14 g/L} * \frac{6.022 \times 10^{23}}{1 \text{ mol}} = 5.6658 \times 10^{24} \text{ moles/L}$$

$$\text{Volumen} = \frac{1L}{5.6658 \times 10^{24}} * \frac{1000 \text{ cm}^3}{1L} * \frac{(1 \times 10^9 \text{ nm})^3}{(100 \text{ cm})^3} = 0.17649 \text{ nm}^3$$

$$N. \text{ Moléculas} = \frac{890 \text{ nm}^3}{0.17649 \text{ nm}^3} = 5042.77 \rightarrow 45\% \rightarrow 2269$$

*Heptano 75%*

$$N. \text{ Moles} = 684 \frac{g}{L} * \frac{1 \text{ mol}}{\frac{100.21g}{L}} * \frac{6.022 \times 10^{23}}{1 \text{ mol}} = 4.11 \times 10^{24} \text{ moles/L}$$

$$\text{Volumen} = \frac{1L}{4.11 \times 10^{24}} * \frac{1000 \text{ cm}^3}{1L} * \frac{(1 \times 10^9 \text{ nm})^3}{(100 \text{ cm})^3} = 0.2433 \text{ nm}^3$$

$$N. \text{ Moléculas} = \frac{890 \text{ nm}^3}{0.2433 \text{ nm}^3} = 3658.04 \rightarrow 55\% \rightarrow 2011$$

### **Sistema Agua-Surfactante**

El tamaño de dicha caja se determinó por la densidad necesaria para los asfaltenos

*Volumen Total: 3x 10 x 10 nm*

### **Rhamnolipid**

Volumen: 1167.29 Å<sup>3</sup> por molécula

$$N. \text{ de Moléculas} = \frac{300 \text{ nm}^3}{1.167 \text{ nm}^3}$$

$$N. \text{ de Moléculas} = 257$$

### Agua

$$N. \text{ Moles} = 999.97 \frac{g}{L} * \frac{1 \text{ mol}}{18g} * \frac{6.022 \times 10^{23}}{1 \text{ mol}} = 3.3455 \times 10^{25} \text{ moles/L}$$

$$\text{Volumen} = \frac{1L}{3.3455 \times 10^{25}} * \frac{1000 \text{ cm}^3}{1L} * \frac{(1 \times 10^9 \text{ nm})^3}{(100 \text{ cm})^3} = 0.02989 \text{ nm}^3$$

$$N. \text{ Moléculas} = \frac{300}{0.02989 \text{ nm}^3} = 10036 \text{ molecules}$$

### **Anexo 3.** Protocolo General de Construcción de Cajas

Las moléculas del Fragmento del asfalto, Rhamnolipid fueron construidas en Avogadro, se realizó una optimización energética, angular y geométrica. Después se envió a la página del Automated Topology Builder para optimizar la geometría y para obtener archivos de topología. Se obtuvo las moléculas de Tolueno, Heptano y Agua desde el repositorio Automated Topology Builder.

Para que los archivos obtenidos a partir del ATB sean leídos en GROMACS es necesario algunas transformaciones:

1. Convertir los archivos \*.pdb a archivos \*.gro, por medio del siguiente comando.

```
trjconv -f *.pdb -s *.pdb -o *.gro
```

Seleccionar la opción 0.

2. Convertir archivo \*.itp a archivo \*.top
3. En el inicio del archivo \*.top incluir

```
#include/share/top
```

#### *Construcción de cajas en GROMACS*

##### Interfaz Tolueno-Heptano-Asfaltenos

Después de los cálculos realizados se determinó que el tamaño de caja de la interfaz tolueno-heptano-Asfalto es de  $10\text{nm} \times 10\text{nm} \times 10\text{nm}$ . La densidad utilizada para el tolueno es de 866.90 g/L, para el heptano 684 g/L y la concentración utilizada para asfaltenos es de 5g/L.

#### **Tolueno 25% - Heptano75%**

Para la construcción de la celda de la presente interfaz se utilizó el siguiente proceso:

1. Se construyó la caja de Tolueno utilizando el siguiente comando:

```
$ genbox -ci toluene.gro -nmol 1260 -box 2.5 10 10 -o toluenebox.gro
```

Después de generar este archivo gromacs en el terminal muestra la siguiente información.

Para la celda de heptano se modificó un archivo denominado vdwradii.dat contenido en la carpeta top de gromacs. Este archivo contiene los radios de VanderWals de diferentes átomos utilizados para construir las celdas con moléculas usando la herramienta genbox. En este caso de estudio, el radio de vdw para el carbono es 0.15 y se modificó a 0.08 y para el hidrógeno el radio de vdw es 0.04 y se redujo a 0.02. Éstas modificaciones se realizaron para obtener la densidad del compuesto.

2. Se construyó la caja de Heptano, dividiendo la magnitud de la misma para el posible procesamiento de datos.

```
$ genbox -ci heptane.gro -nmol 2743 -box 3.75 10 10 -o heptanebox.gro
```

Para obtener la magnitud real se duplicó la caja anterior, con los siguientes comandos:

```
$ cp heptanebox.gro heptanebox1.gro
```

Para unir las cajas se editó inicialmente el tamaño de las mismas, dando como resultado una caja de heptano de 7,5nm x 10nm x10nm, los comando que se utilizaron fueron los siguientes:

```
$ editconf -ci heptanebox.gro -box 7.5 10 10 -center 1.625 5 5 -o heptanebox11.gro
```

```
$ editconf -ci heptanebox1.gro -box 7.5 10 10 -center 4.875 5 5 -o heptanebox12.gro
```

Ambas celdas individuales fueron ensambladas mediante el siguiente comando:

```
$ genbox -cp heptanebox11.gro -cs heptanebox12.gro -o heptaneboxtotal.gro
```

Finalmente se obtienen cajas con las medidas y el número de moléculas deseadas.

Los archivos de ejecución .mdp se los presenta a continuación:

```
MDP-MINIM-SAMPLEFILE:
; minim.mdp - used as input into grompp to generate em.tpr
integrator      = steep           ; Algorithm (steep = steepest descent
minimization)
emtol           = 1000.0          ; Stop minimization when the maximum force
< 1000.0 kJ/mol/nm
emstep         = 0.01            ; Energy step size
nsteps         = 50000           ; Maximum number of (minimization) steps
to perform

; Parameters describing how to find the neighbors of each atom and how to
calculate the interactions
```

```

nstlist          = 1           ; Frequency to update the neighbor
list and long range forces
cutoff-scheme    = Verlet
ns_type          = grid       ; Method to determine neighbor list
(simple, grid)
coulombtype      = PME        ; Treatment of long range
electrostatic interactions
rcoulomb         = 1.0        ; Short-range electrostatic cut-off
rvdw             = 1.0        ; Short-range Van der Waals cut-off
pbc              = xyz        ; Periodic Boundary Conditions
(yes/no)

```

MDP-EQUILIBRIUM-SAMPLEFILE:

```

title           = OPLS Lysozyme NVT equilibration
define          = -DPOSRES    ; position restrain the protein
; Run parameters
integrator      = md          ; leap-frog integrator
nsteps         = 50000       ; 2 * 50000 = 100 ps
dt             = 0.002       ; 2 fs
; Output control
nstxout        = 500         ; save coordinates every 1.0 ps
nstvout        = 500         ; save velocities every 1.0 ps
nstenergy      = 500         ; save energies every 1.0 ps
nstlog         = 500         ; update log file every 1.0 ps
; Bond parameters
continuation    = no         ; first dynamics run
constraint_algorithm = lincs  ; holonomic constraints
constraints     = all-bonds  ; all bonds (even heavy
atom-H bonds) constrained
lincs_iter     = 1           ; accuracy of LINCS
lincs_order    = 4           ; also related to accuracy
; Neighborsearching
cutoff-scheme   = Verlet
ns_type         = grid       ; search neighboring grid cells
nstlist        = 10         ; 20 fs, largely irrelevant with
Verlet
rcoulomb       = 1.0         ; short-range electrostatic cutoff
(in nm)
rvdw           = 1.0         ; short-range van der Waals cutoff
(in nm)
; Electrostatics
coulombtype    = PME         ; Particle Mesh Ewald for long-range
electrostatics
pme_order      = 4           ; cubic interpolation
fourierspacing = 0.16       ; grid spacing for FFT
; Temperature coupling is on
tcoupl         = V-rescale   ; modified Berendsen
thermostat
tc-grps        = Protein Non-Protein ; two coupling groups - more
accurate
tau_t          = 0.1 0.1     ; time constant, in ps
ref_t          = 300 300     ; reference temperature, one for
each group, in K
; Pressure coupling is off
pcoupl         = no         ; no pressure coupling in NVT
; Periodic boundary conditions
pbc            = xyz        ; 3-D PBC
; Dispersion correction
DispCorr       = EnerPres   ; account for cut-off vdW scheme

```

```

; Velocity generation
gen_vel      = yes          ; assign velocities from Maxwell
distribution
gen_temp     = 300         ; temperature for Maxwell distribution
gen_seed     = -1          ; generate a random seed

MDP-DMPRODUCTION-SAMPLEFILE:

title        = OPLS Lysozyme MD simulation
; Run parameters
integrator   = md          ; leap-frog integrator
nsteps      = 500000      ; 2 * 500000 = 1000 ps (1 ns)
dt          = 0.002       ; 2 fs
; Output control
nstxout     = 5000        ; save coordinates every 10.0 ps
nstvout     = 5000        ; save velocities every 10.0 ps
nstenergy   = 5000        ; save energies every 10.0 ps
nstlog      = 5000        ; update log file every 10.0 ps
nstxout-compressed = 5000 ; save compressed coordinates every 10.0
ps
; nstxout-compressed replaces nstxtcout
compressed-x-grps = System ; replaces xtc-grps
; Bond parameters
continuation = yes        ; Restarting after NPT
constraint_algorithm = lincs ; holonomic constraints
constraints  = all-bonds  ; all bonds (even heavy
atom-H bonds) constrained
lincs_iter  = 1           ; accuracy of LINCS
lincs_order = 4           ; also related to accuracy
; Neighborsearching
cutoff-scheme = Verlet
ns_type       = grid      ; search neighboring grid cells
nstlist       = 10        ; 20 fs, largely irrelevant with
Verlet scheme
rcoulomb      = 1.0       ; short-range electrostatic cutoff
(in nm)
rvdw         = 1.0       ; short-range van der Waals cutoff
(in nm)
; Electrostatics
coulombtype   = PME       ; Particle Mesh Ewald for long-
range electrostatics
pme_order     = 4         ; cubic interpolation
fourierspacing = 0.16    ; grid spacing for FFT
; Temperature coupling is on
tcoupl        = V-rescale ; modified Berendsen
thermostat
tc-grps       = Protein Non-Protein ; two coupling groups - more
accurate
tau_t         = 0.1      0.1 ; time constant, in ps
ref_t         = 300      300 ; reference temperature, one for
each group, in K
; Pressure coupling is on
pcoupl        = Parrinello-Rahman ; Pressure coupling on
in NPT
pcoupltype    = isotropic   ; uniform scaling of
box vectors
tau_p         = 2.0       ; time constant, in ps
ref_p         = 1.0       ; reference pressure,
in bar

```

```
compressibility      = 4.5e-5           ; isothermal compressibility  
of water, bar^-1  
; Periodic boundary conditions  
pbc                  = xyz             ; 3-D PBC  
; Dispersion correction  
DispCorr             = EnerPres       ; account for cut-off vdW scheme  
; Velocity generation  
gen_vel              = no             ; Velocity generation is off
```

**Anexo 4.** Lista de Cotejo-Criterios de Evaluación y Verificación de Sistemas

<i>Criterios de evaluación</i>	<b>SISTEMAS SOMETIDOS A DINAMICA MOLECULAR</b>					
	<i>ST5545</i>	<i>ST7525</i>	<i>ST5545 Rhamnolipido</i>	<i>ST7525 Rhamnolipido</i>	<i>ST5545 Laurilsulfato</i>	<i>ST7525 LaurilSulfato</i>
<b>Minimización</b>						
Energía Potencial Negativa						
Temperatura Alcanzada 200°C						
<b>Ensamble NVT</b>						
Energía > 1000kJ/mol*nm						
<b>Ensamble NPT</b>						
Densidad Constante						
Presión Constante						
<b>Producción-Ensamble NVT</b>						
Densidad Constante						
Presión Constante						
Temperatura Constante						
Volumen Constante						
<b>Análisis de Distancias</b>						
Distancias asfalteno-surfactante < 2nm						

**Elaborado por:** Sara Vaca

