

BIODEGRADACIÓN DE FENOLES EN AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA PETROLERA

J. L. GROSSO V.*, M. P. DÍAZ M. y G. LEÓN‡

Ecopetrol - Instituto Colombiano del Petróleo, A.A. 4185 Bucaramanga, Santander, Colombia

‡Ecopetrol - Complejo Industrial de Barrancabermeja, Barrancabermeja, Santander, Colombia

Se establecieron métodos prácticos para aislar, adaptar y propagar microorganismos biodegradadores de fenol, obteniéndose 15 mezclas distintas de microorganismos capaces de eliminar el fenol contenido en aguas de deshidratación de emulsiones inversas de hidrocarburos pesados, aguas de producción y aguas ácidas y residuales de la refinería de Barrancabermeja. En laboratorio y planta piloto se logró la eliminación de más del 95% del fenol de estas aguas en períodos de tiempo que no superaron las 24 h. En abril de 1994 se implementó esta tecnología en la planta de tratamiento de aguas residuales del Complejo Industrial de Barrancabermeja, en sistema continuo con caudales entre 16.000 y 32.000 m³d⁻¹, convirtiendo piscinas de estabilización en biorreactores. Eficiencias cercanas al 95% han sido obtenidas en condiciones controladas de acidez, aireación y flujo. Esta tecnología está siendo implementada en otras refinerías y campos de producción de Ecopetrol.

Practical methods to isolate, adapt and propagate phenol biodegradating microorganisms were established. Fifteen different microorganism groups were obtained, capable of eliminating phenol contained in production water, sour water and waste water from Barrancabermeja's refinery, and dehydration water from heavy oil-in-water emulsions. Elimination efficiencies higher than 95% in periods of time shorter than 24 h were achieved at laboratory and pilot plant scales. A continuous system using this technology was successfully implemented in April, 1994 for the treatment of waste water from Colombia's biggest refinery. Existing stabilizing pools were converted into bioreactors capable of handling water flow rates between 16.000 and 32.000 m³d⁻¹. Efficiencies close to 95% have been obtained under controlled acidity, aeration and flow rate conditions. This technology is being implemented in other Ecopetrol refineries and production fields.

Palabras claves: *fenoles, biodegradación, tratamiento de aguas.*

* A quien debe ser enviada la correspondencia

INTRODUCCIÓN

El fenol y sus derivados están presentes en efluentes de muchos procesos industriales, tales como refinerías de petróleo, plantas petroquímicas, plantas de coquización, industrias de plástico, plantas farmacéuticas e industrias de resinas, entre otras. Algunos de los métodos conocidos para el tratamiento de estos residuos incluyen procesos de extracción con solventes, adsorción con carbón activado o resinas, ultrafiltración, incineración, oxidación química y biodegradación (Zilli *et al.*, 1989; García-Portilla *et al.*, 1989; Lanoueth, 1977, y Teixeira *et al.*, 1991).

Los métodos tradicionales para tratar aguas fenólicas son costosos para industrias que generan grandes volúmenes de aguas residuales, como es el caso de las refinerías. Por esto es factible el uso de procesos microbiológicos para eliminar estos compuestos de una manera económica, limpia y eficiente (Galil *et al.*, 1988).

Durante el proceso de biodegradación, además de generarse gas carbónico, agua y otros compuestos intermedios, se consigue un incremento en la biomasa como consecuencia de la utilización del fenol como fuente de carbono y energía.

Debido a su toxicidad, los compuestos fenólicos, aún a bajas concentraciones ($> 200 \text{ gm}^{-3}$), pueden causar inhibición del crecimiento microbiano en plantas de tratamiento de aguas residuales (Hinteregger *et al.*, 1992). Sin embargo, algunos microorganismos han sido reportados como degradadores de fenol, entre ellos, *Pseudomonas sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Sarcinas*, *Desulfovibrio sp.*, *Micoplana sp.*, *Acromobacter sp.*, *Bacillus sp.* y algunos géneros de *Nocardia* y *Acinetobacter* (Dvoracek *et al.*, 1989; Allsop *et al.*, 1993; Vaishnav *et al.*, 1989; Menke y Rhem, 1992 y Gvozdyak *et al.*, 1989).

En Colombia, la empresa estatal petrolera (Ecopetrol) hace grandes esfuerzos para recuperar y preservar el entorno donde opera, lo cual se refleja en el desarrollo y puesta en marcha de programas y proyectos que le han merecido un puesto de vanguardia en la conservación ambiental entre las empresas industriales del país.

Para eliminar el impacto negativo sobre los ecosistemas acuáticos ocasionados por el vertimiento de aguas asociadas a los procesos de transporte, refinación y producción de petróleo, Ecopetrol a través del Instituto Colombiano del Petróleo (ICP) y del Complejo Industrial de Barrancabermeja (CIB), lleva

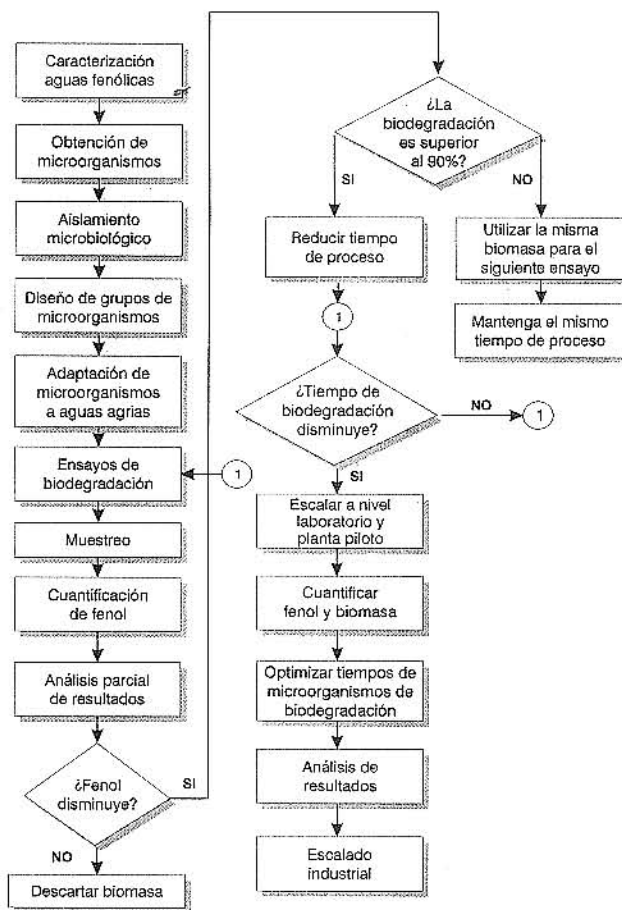


Figura 1. Metodología experimental

a cabo estudios de investigación de procesos biotecnológicos, con el fin de hallar las mejores condiciones técnicas y económicas factibles para lograr la degradación biológica de los compuestos fenólicos de estos efluentes industriales (Díaz y Grosso, 1993).

En abril de 1994 se implementó la tecnología de biodegradación de fenoles en la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) del CIB, la cual tiene un caudal que oscila entre 16.000 y 32.000 m^3d^{-1} , y entrega un efluente dentro de los límites exigidos por las entidades ambientales colombianas, en condiciones controladas de acidez, aireación y flujo. Esta tecnología está siendo extendida a otros distritos de Ecopetrol como la refinería de Cartagena y los campos de producción.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Este trabajo se llevó a cabo en dos fases: estudios de laboratorio y planta piloto, los cuales se realizaron en los laboratorios de reología, biotecnología y plantas

piloto del ICP, y escalado del proceso a nivel industrial, el cual se realiza actualmente en la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) del CIB y, próximamente, en el sistema de tratamiento de aguas residuales de la refinería de Cartagena. La Figura 1 presenta un diagrama esquemático de la metodología empleada.

Caracterización de corrientes fenólicas

En esta etapa del proyecto se analizaron corrientes fenólicas asociadas al transporte, refinación y producción de petróleo, tales como aguas agrias y residuales del CIB, aguas de deshidratación generadas en el transporte de emulsiones inversas de hidrocarburos pesados y aguas de producción. La concentración de fenoles osciló entre 1 y 500 gm^{-3} . La composición química de estas corrientes es variable, puesto que depende de la naturaleza del hidrocarburo y método de tratamiento de las emulsiones, del yacimiento y del funcionamiento de las diferentes plantas de proceso. En la Tabla 1 se presenta la composición promedio de los efluentes evaluados.

Selección y adaptación de microorganismos

Por métodos convencionales, se aislaron microorganismos provenientes de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas, lodos aceitosos de refinería y aguas fenólicas. Se utilizaron los microorganismos aislados como inóculo inicial para la degradación de fenol.

La adaptación se llevó a cabo utilizando un medio de cultivo enriquecido y volúmenes crecientes de aguas fenólicas, hasta obtener un crecimiento satisfactorio en un medio que contenía 100% de aguas fenólicas y algunas sales minerales. De esta forma se obtuvieron microorganismos capaces de metabolizar compuestos fenólicos. Estos microorganismos fueron aislados, identificados y posteriormente agrupados, de acuerdo con un diseño factorial, en 15 mezclas diferentes, todas con buen potencial biodegradador. El recuento de microorganismos se hizo por los métodos de unidades formadoras de colonias y del peso seco.

Ensayos de biodegradación

Para efectuar los ensayos de biodegradación, las aguas fenólicas se complementaron con sales minerales, de tal forma que la única fuente de carbono la aportó el fenol. El pH inicial del medio se ajustó a siete mediante adición de ácido fosfórico. Como preinóculo se utilizó el mismo medio en un volumen que no excedió el 10% del volumen total del ensayo, incubado a 305 K (32°C) durante dos días. La concentración inicial de microorganismos se mantuvo en un valor de 10^3 microorganismos por mililitro. El proceso se realizó a una temperatura de 305 K (32°C) con suministro de aire ($1.300 \text{ cm}^3\text{min}^{-1}$).

El control del proceso se hizo cuantificando el contenido de fenol en las aguas, antes y después del proceso de biodegradación. Se utilizó el método de la 4-aminoantipirina (APHA *et al.*, 1992).

Tabla 1. Caracterización de corrientes fenólicas

ANÁLISIS	TIPO DE AGUA			
	Aguas Agrias CIB	PTAR CIB	Aguas de Deshidratación	Aguas de Producción
Fenoles totales (gm^{-3})	300 - 500	20 - 180	15 - 30	0,7 - 2,5
Aceites y grasas (gm^{-3})	-	40-50	94	6
Nitrógeno total (gm^{-3})	1.000 - 3.000	100 - 200	-	0,5 - 1
Fósforo total (gm^{-3})	-	13,4	-	0,27
Cianuros (gm^{-3})	2 - 4	-	-	-
H_2S (gm^{-3})	9.160	-	-	-
RSH (gm^{-3})	1.000	-	-	-
Cloruros (gm^{-3})	-	40 - 100	9.000	27
Surfactantes (gm^{-3})	-	-	2.500 - 3.500	-
pH	9 - 11	6 - 9	9	7 - 8
DQO	1.574	200 - 600	400 - 500	-

Para mejorar la eficiencia de biodegradación, los cultivos estuvieron sujetos a ensayos sucesivos de aclimatación usando como inóculo la biomasa proveniente del ensayo precedente, logrando así reducir significativamente los tiempos de proceso.

Escalado del proceso

Inicialmente se realizaron ensayos en el laboratorio utilizando volúmenes pequeños (entre 100 cm³ y 500 cm³); los cuales se incrementaron gradualmente a medida que se obtenían resultados satisfactorios en cada una de las pruebas. El proceso se evaluó en sistemas cerrados, semicontinuos y continuos, en biorreactores agitados permanentemente, utilizando volúmenes de 500 cm³, 3.000 cm³, 0,18 m³, 3 m³ y 10 m³ para finalizar con el escalado industrial en biorreactores de 25.000 m³.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Influencia del tipo de microorganismo

Los microorganismos seleccionados para conformar las diferentes mezclas fueron ajustando su metabolismo

durante la etapa de adaptación, y aumentaron progresivamente la velocidad de desaparición de fenol, hasta obtener el consumo total en tiempos cercanos a 24 h, con la mayoría de las mezclas evaluadas.

Los grupos conformados fueron más eficientes que cada uno de los microorganismos individualmente, como se puede ver en la Figura 2, lo que demuestra un efecto sinérgico entre los diferentes microorganismos.

Influencia de la adaptación de los microorganismos a las aguas fenólicas

Una vez se seleccionaron y conformaron las diferentes mezclas de microorganismos, se llevó a cabo el proceso de adaptación a aguas agrias de refinería comenzando con tiempos de proceso de siete días hasta lograr reducciones de fenol significativas en períodos de nueve horas. La temperatura de los ensayos se mantuvo en 303 K y el pH inicial del medio en 7.

La Figura 3 muestra el resultado del proceso de adaptación de los microorganismos parcialmente adaptados a aguas agrias. Se puede observar un aumento progresivo en la velocidad de biodegradación a medida que transcurren las diferentes etapas, hasta lograrse el

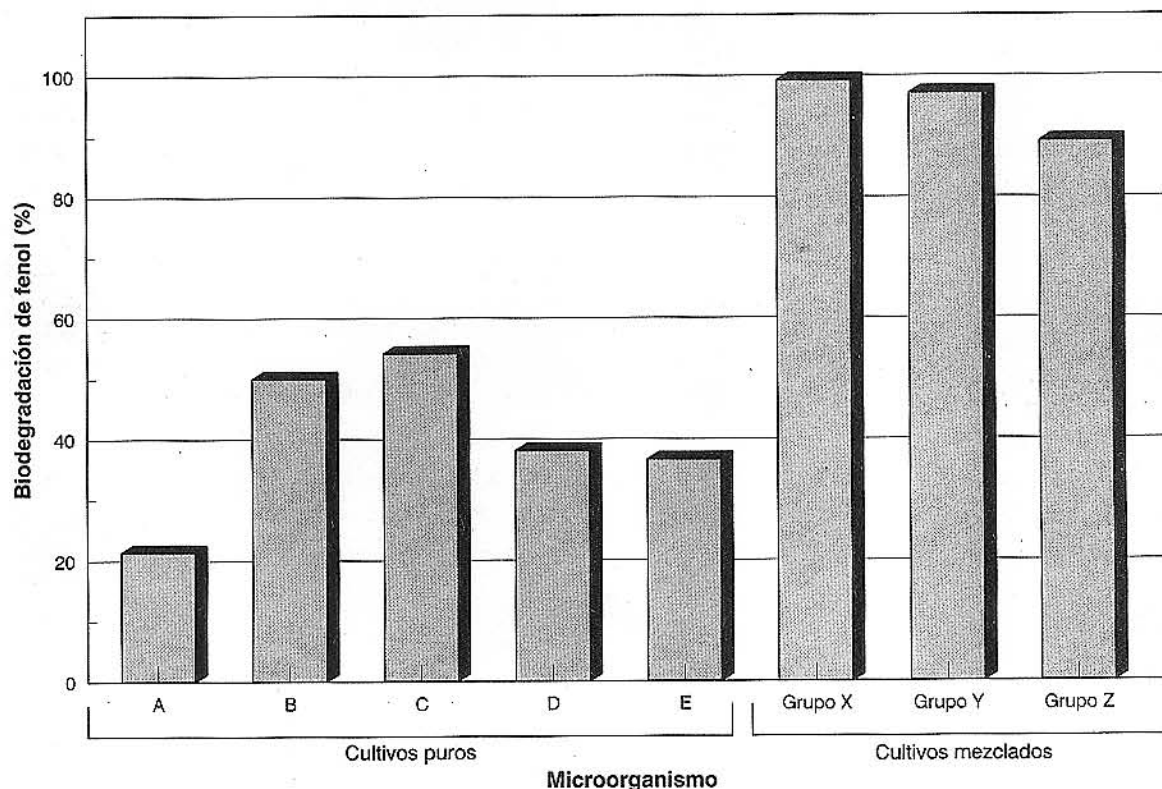


Figura 2. Efecto del uso de microorganismos puros y en mezcla, sobre la biodegradación de fenoles en aguas agrias. Concentración inicial de fenol, 380 gm⁻³; Tiempo de proceso, 24 h; Temperatura, 303 K.

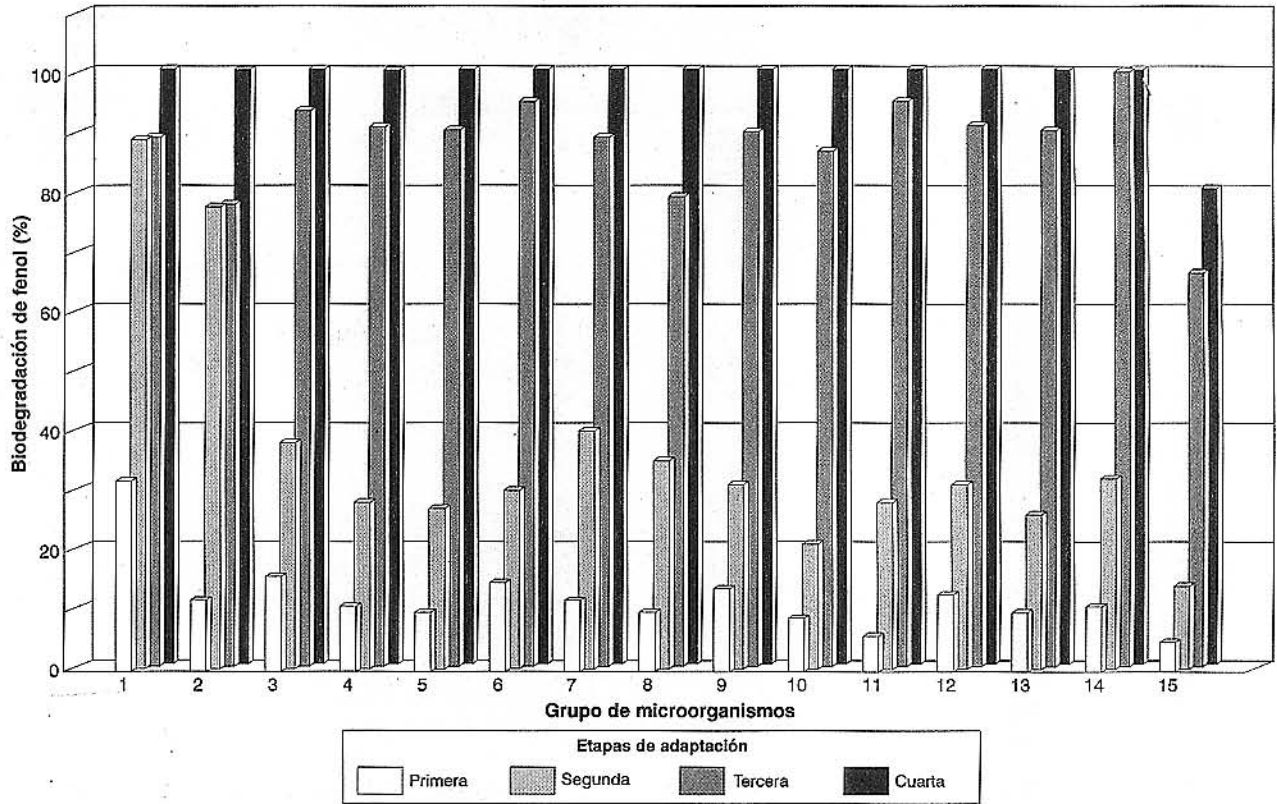


Figura 3. Proceso de adaptación de microorganismos a aguas agrias de refinería. Concentración inicial de fenol, 437 gm⁻³; Tiempo de proceso, 7 d; Temperatura, 303 K.

consumo de la totalidad del fenol en siete días de proceso. La composición de los medios utilizados y las condiciones de operación fueron las mismas para todos los ensayos realizados.

En la primera etapa se logró una reducción del contenido de fenoles cercana al 10% con la mayoría de las mezclas ensayadas, excepto para el grupo 1 que demostró una rápida adaptación. En la segunda etapa que consistió en el uso de parte de la biomasa de la primera etapa de adaptación, se logró incrementar la biodegradación acumulada en un 25%, destacándose nuevamente el grupo 1 y una respuesta rápida de la mezcla 2 de microorganismos. En la tercera etapa se logra una degradación promedio del 80% con todos los grupos. Las siguientes etapas de adaptación condujeron a la degradación de la totalidad del fenol suministrado en siete días de proceso.

La Tabla 2 contiene los resultados finales del uso de microorganismos aclimatados previamente a aguas agrias, los cuales continuaron con el proceso de adaptación, hasta lograrse una reducción en los tiempos

de proceso hasta de siete veces la inicial. Los ensayos evaluados a un tiempo de 24 h, muestran cómo nueve de los 15 grupos microbianos consumieron la totalidad del fenol; los ensayos a un tiempo de nueve horas mostraron resultados altamente satisfactorios, y se obtuvieron remociones superiores al 90% con la mayoría de los grupos evaluados.

Influencia de la fuente de residuo fenólico

La concentración inicial de fenoles, y de otros contaminantes presentes en las aguas residuales tratadas, influye substancialmente en la velocidad de biodegradación de todos los microorganismos ensayados. Concentraciones altas de fenol como las encontradas en las aguas agrias, son reducidas en tiempos cercanos a nueve horas, por microorganismos adaptados (Tabla 2).

La Figura 4 presenta la biodegradación combinada de tensoactivos tipo dodecil benceno sulfonato y fenoles, encontrados en aguas de deshidratación de emulsiones de hidrocarburos pesados en agua. Se

Tabla 2. Efecto del proceso de aclimatación de microorganismos sobre el tiempo de biodegradación de fenoles en aguas agrias - CIB

GRUPO	BIODEGRADACIÓN DE FENOL (%)				
	168 h	120 h	48 h	24 h	9 h
1	100	100	99,1	100	97,1
2	99,8	100	100	96,3	99,9
3	100	100	100	100	98,5
4	99,8	99,9	99	98,2	99,3
5	98,9	99,1	100	100	86,3
6	100	99,8	99,3	96,9	99
7	100	99,4	99,2	100	60,5
8	100	100	100	100	91,5
9	100	100	100	98	98,3
10	100	99,9	99,2	100	99,2
11	100	100	99,1	100	63,3
12	100	99,9	100	99,9	89,9
13	99,9	100	98,9	99,2	60
14	100	99,9	100	100	99,5
15	100	99,5	100	100	98,5

Concentración inicial de fenol, 430 gm⁻³; Temperatura, 303 K

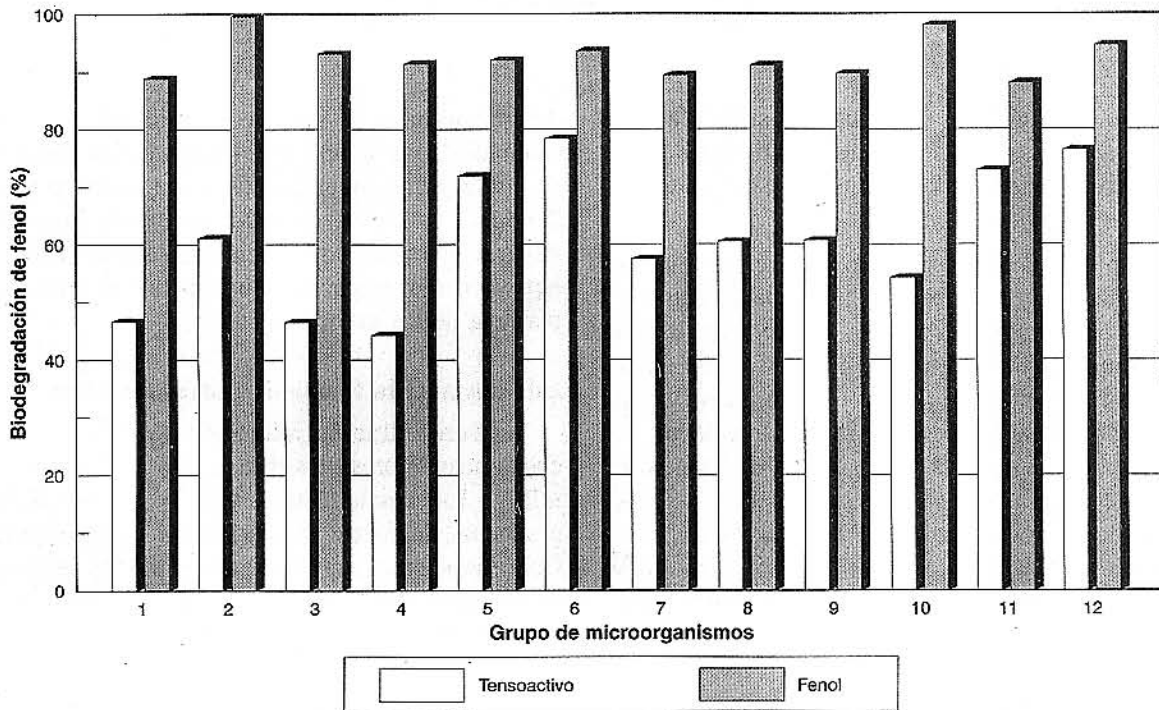


Figura 4. Biodegradación de fenoles y tensoactivos en aguas de deshidratación de emulsiones de combustóleo
 * Concentración inicial de fenol, 11,05 gm⁻³; Concentración de tensoactivo lineal, 3.478,5 gm⁻³; Tiempo de proceso, 7 d;
 Temperatura, 303 K

conformaron 12 mezclas de microorganismos capaces de consumir ambos sustratos simultáneamente, obteniéndose reducciones superiores al 90% del fenol y de cerca del 65% de los tensoactivos, en siete días de proceso.

Aguas de producción con contenidos de fenoles menores de 2 gm^{-3} (Figura 5) alcanzaron biodegradaciones superiores al 75% con la mayoría de las mezclas de microorganismos evaluadas, en períodos de tiempo de cinco horas y más del 95% en 24 h, cumpliendo con los requerimientos ambientales colombianos ($0,2 \text{ gm}^{-3}$). La relativa baja velocidad de biodegradación alcanzada se debe a la presencia de fenoles sustituidos, los cuales fueron asimilados más lentamente por estos microorganismos. Además, desde el punto de vista cinético, la remoción de cantidades elevadas de fenol ocurre a mayor velocidad que cuando se desean remover cantidades pequeñas, como las que se presentan en estas aguas.

Debido a los grandes volúmenes manejados por la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) del Complejo Industrial de Barrancabermeja y a las altas

temperaturas presentes (313 K) fue necesario adaptar los microorganismos a condiciones de trabajo más severas (altas temperaturas y sin adición de nutrientes). La Figura 6 muestra cómo la mayoría de los grupos de microorganismos una vez adaptados, lograron consumos de fenoles cercanos al 98% con tiempos de proceso de 15 h.

Escalado del proceso

Se realizaron ensayos de biodegradación en un biorreactor cerrado de $0,18 \text{ m}^3$, con adición de aire. La Figura 7 presenta el proceso de adaptación de una de las mezclas de microorganismos a aguas agrias, con un contenido inicial de fenol de 430 gm^{-3} . El tiempo de biodegradación se redujo en cerca de 41 h, cuando se realizaron ensayos sucesivos de aclimatación.

Basándose en el flujo de aire, tiempo de residencia y proporción de nutrientes que se encontraron adecuados en los ensayos en planta piloto, se procedió a evaluar la eficiencia en biorreactores semicerrados de 3 m^3 y 10 m^3 en el Complejo Industrial de Barrancabermeja. A estos niveles, el porcentaje de biode-

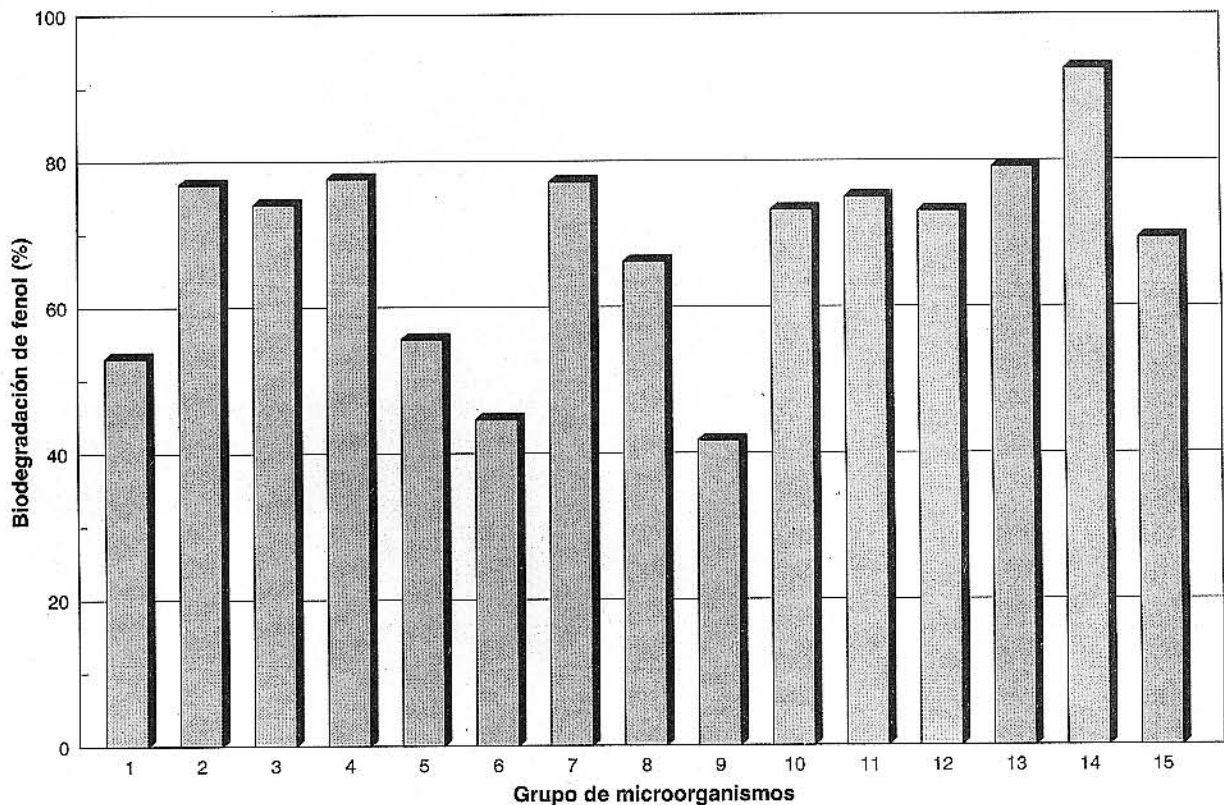


Figura 5. Biodegradación de fenoles en aguas de producción de petróleo. Concentración inicial de fenol, $1,44 \text{ gm}^{-3}$; Tiempo de proceso, 5 h; Temperatura, 303 K

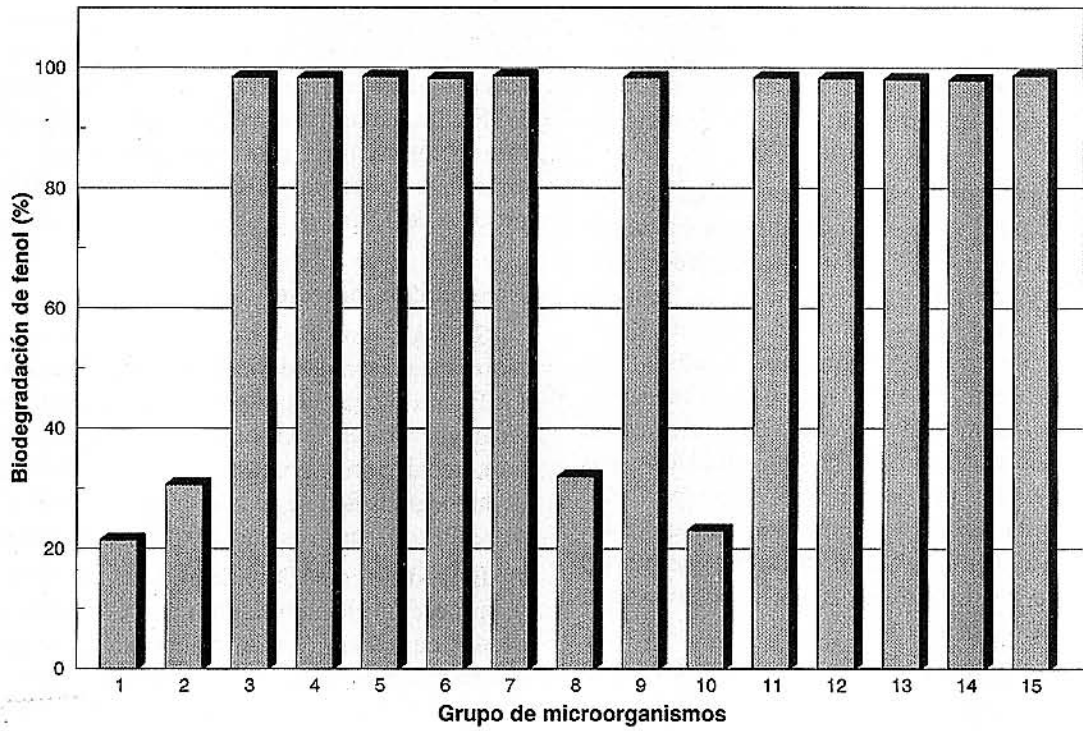


Figura 6. Biodegradación de fenoles en aguas residuales PTAR
 Concentración inicial de fenol, 43,3 gm⁻³; Tiempo de proceso, 15 h; Temperatura, 313 K

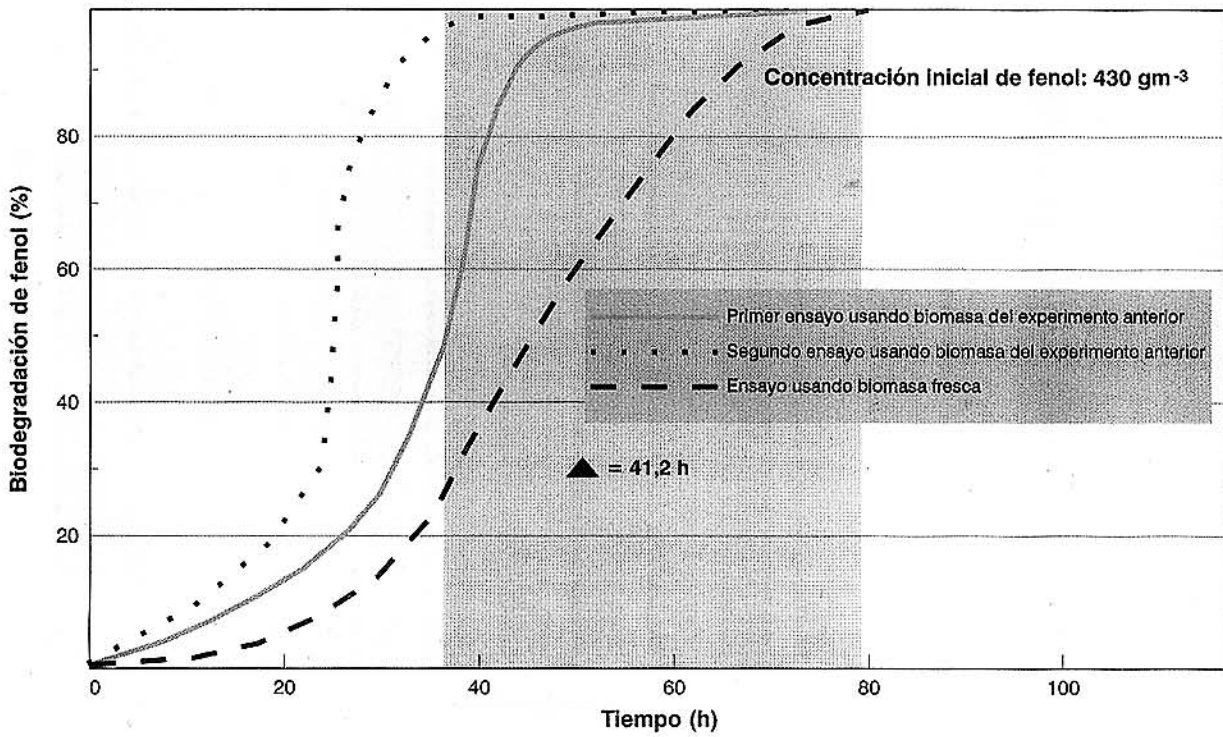


Figura 7. Adaptación de microorganismos a aguas agrias escala piloto (0,18 m³)

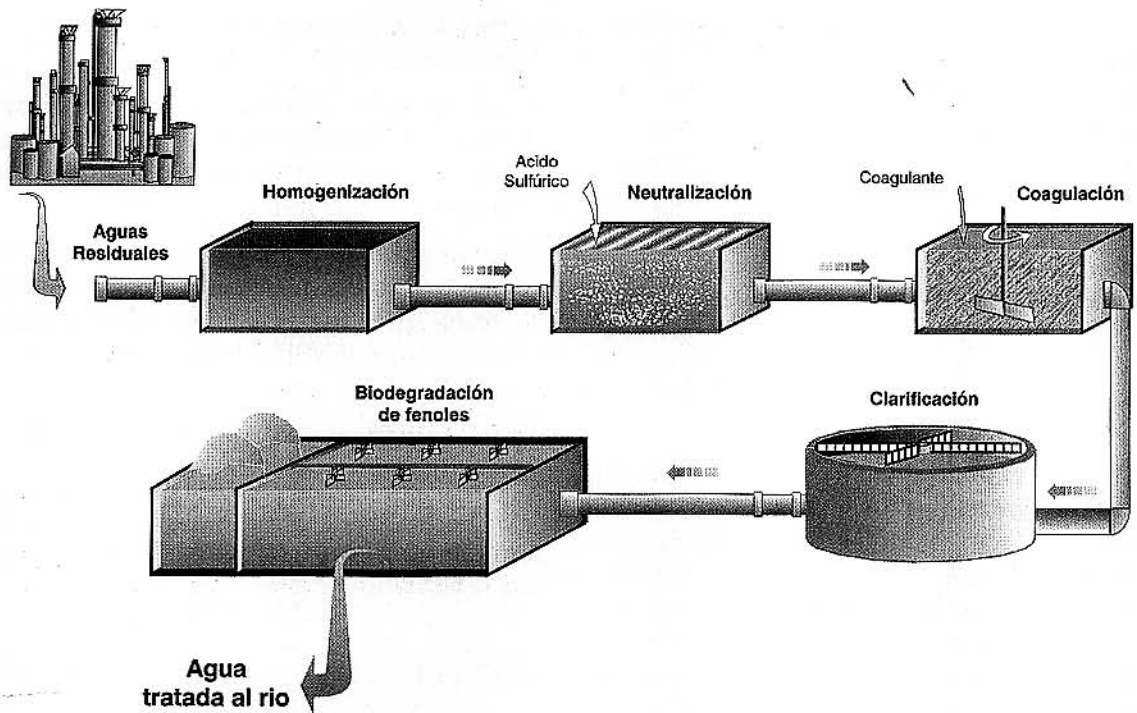


Figura 8. Esquema general Planta de Tratamiento de aguas residuales PTAR - CIB

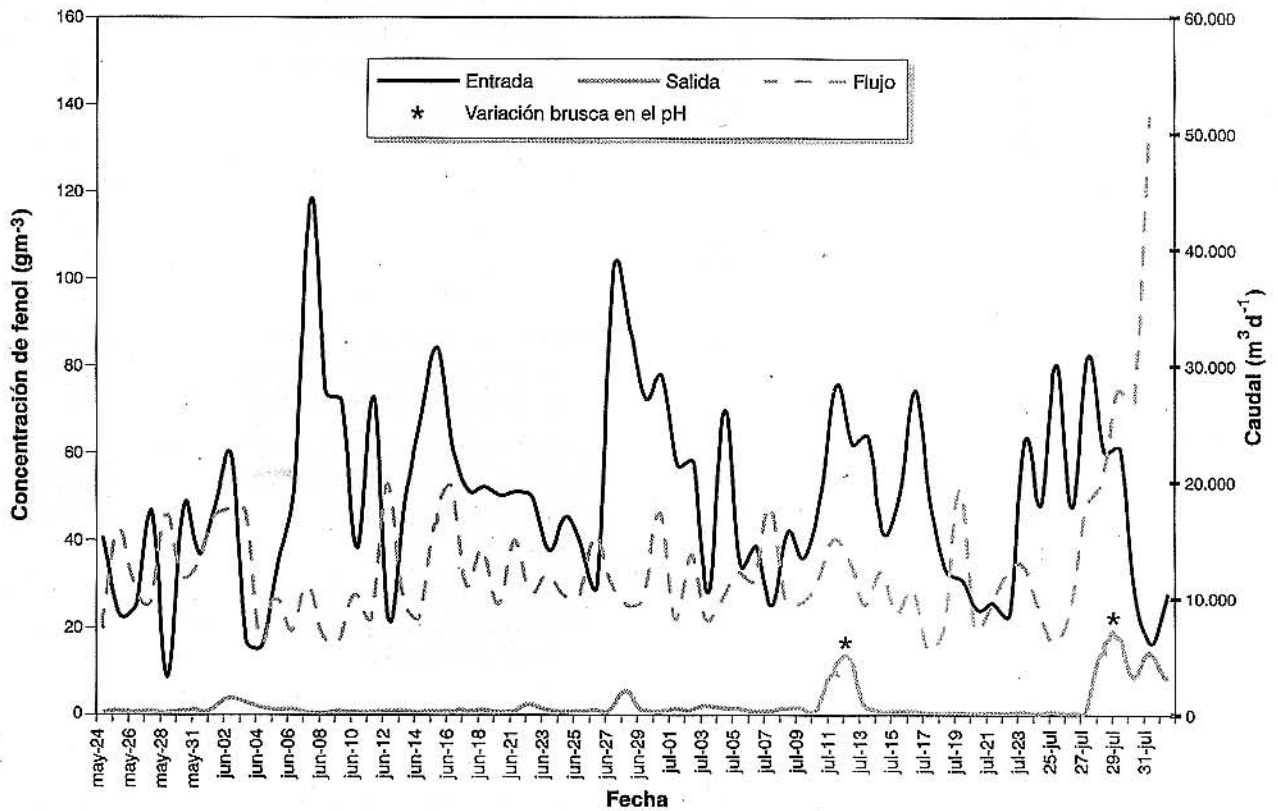


Figura 9. Proceso de biodegradación de fenoles a escala industrial PTAR - CIB

gradación y el crecimiento bacteriano se mantuvieron en valores cercanos a los de los ensayos piloto, a pesar de que la concentración de oxígeno disuelto fue menor.

El escalado del proceso a nivel industrial se llevó a cabo en la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) (Figura 8), en tres biorreactores aireados con una capacidad total de 25.000 m³ que funcionaron como sistemas cerrados y semicontinuo durante la fase de arranque del proceso. El tiempo de residencia osciló entre 19 h y 38 h, la temperatura entre 309-313 K (36-40°C), el pH entre 7 y 8,5, y la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo en valores cercanos a 1 gm⁻³.

Durante la operación normal de PTAR se manejan flujos de agua entre 16.000 y 32.000 m³d⁻¹. Mediante el proceso de biodegradación continua se obtiene una reducción en el contenido de fenoles cercana al 95%, entregando un efluente dentro de los límites exigidos por las entidades ambientales colombianas (0,2 gm⁻³) (Decreto 1594, 1989), en condiciones estables de flujo, aireación y acidez. La Figura 9 muestra los flujos manejados y las concentraciones de fenol a la entrada y salida de los biorreactores en donde se realiza el proceso de biodegradación.

La tecnología de biodegradación ha permitido la depuración de aguas residuales industriales asociadas a la actividad petrolera, resaltándose la aplicación a escala industrial que se realiza para el tratamiento de la totalidad del agua producida en la mayor refinería de Colombia.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- En las aguas contaminadas con fenol, generadas en procesos de refinación, producción y transporte de hidrocarburos, se logró la biodegradación total del fenol en períodos inferiores a 24 h.
- Uno de los principales factores de éxito en el proceso de biodegradación de fenoles se basa en la técnica de adaptación de los microorganismos biotransformadores al tipo de agua que se desea tratar.
- La concentración inicial y el tipo de fenol tuvieron una marcada influencia sobre la eficiencia de biodegradación. Concentraciones elevadas como la del agua de refinería son reducidas rápidamente, mientras que a concentraciones bajas y en presencia de fenoles sustituidos el proceso se hace más lento.
- La conformación adecuada de asociaciones microbianas permite obtener biodegradaciones de fenol

más eficientes que cuando se utilizan microorganismos puros.

- La aplicación industrial del proceso de biodegradación en sistemas continuos ha permitido reducir el contenido de fenoles en un 95%, manejando flujos hasta de 32.000 m³d⁻¹.
- Se recomienda realizar estudios de sensibilidad a pH, exceso de aireación, así como técnicas para establecer contacto entre microorganismos y aguas por tratar, a través de lechos fluidizados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a los profesionales: Fredy Carvajal, Sonia Meléndez, Liliana Echeverría, Astrid Pimiento y Roger Beltrán por su valiosa colaboración para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- A.P.H.A., A.W.W.A. y W.E.F., 1992. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*, 18th. ed., Washington, A.P.H.A.
- Allsop, P. J., Moo-Young, M. y Sullivan, G.R., 1993. "Dynamics of phenol Degradation by *Pseudomonas putida*", *Biotechnology and Bioengineering*, 41: 572 - 580.
- Díaz M. P. y Grosso J. L., 1993. "Biodegradación de Fenoles". *Primer Encuentro de Especialistas en Biotecnología Aplicada a la Industria Petrolera*, Instituto Venezolano del Petróleo, Los Teques, Venezuela.
- Decreto 1594 del Ministerio de Salud, 1989.
- Dvoracek, L., Glancer, M. y Ban, S., 1989. "Degradation of phenol in industrial waste waters. Part 1. Selection of microorganisms", *Ptbrek*, 27 (2-3): 147 - 154.
- Galil, N., Rebhun, M. y Brayer, Y., 1988. "Disturbances and Inhibition in Biological Treatment of Wastewater from an Integrated Refinery", *Wat. Sci. Tech.*, 20 (10): 21 - 29.
- García-Portilla, J. A., Diez, F. V. y Coca, J., 1989. "Métodos alternativos para el tratamiento de efluentes fenólicos industriales", *Ingeniería Química*, enero: 151-158.
- Gvozdyak, P. I., Mogilevich, N. F., Kulikov, N. I., Romanova, E. A. y Nezdoinov, V. I., 1989. "Treatment phenol-containing waste water with immobilized microorganisms", *Journal Water Chem. Technol.*, 11: 98 - 100.

- Hinteregger, C., Leitner, R., Loidl, M., Ferschl, A. y Streichsbier, F., 1992. "Degradation of phenol and phenolic compounds by *Pseudomonas putida* EKII", *Applied Microbiol Biotechnol.*, 37: 252-259.
- Lanoueth, K. H., 1977. "Treatment of Phenolic Wastes", *Chemical Engineering Deskbook Issue*, October: 100-106.
- Menke, B. y Rehm H. J., 1992. "Degradation of mixtures of monochlorophenols and phenol as substrates for free and immobilized cells of *Alcaligenes* sp. A7-2", *Applied and Microbiology Biotechnology*, 37: 655 - 661.
- Teixeira, A. C. y Balassiano, G. L., 1991. "Process Development in phenolic wastewater treatment", *Wat. Sci. Tech.*, 24 (12): 77 - 81.
- Vaishnav, D. D., Babeu, L. y Korthals, T., 1989. "Effect of microbial concentration on biodegradation rates of phenols", *Journal of Industrial Microbiology*, 4: 307 -314.
- Zilli, M., Converti, A., Lodi, A., Borghi, M. y Ferraiolo, G., 1993. "Phenol Removal from Waste Gases With a Biological Filter by *Pseudomonas putida*", *Biotechnology and Bioengineering*, 41: 693 - 699.