

**BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE FENOLES TOTALES PRESENTES EN  
AGUAS DE PRODUCCIÓN PETROLERA DEL CAMPO ESCUELA COLORADO**

**WILLIAM GUERRERO SALAZAR**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER – UIS  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA  
2015**

**BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE FENOLES TOTALES PRESENTES EN  
AGUAS DE PRODUCCIÓN PETROLERA DEL CAMPO ESCUELA COLORADO**

**WILLIAM GUERRERO SALAZAR**

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TITULO DE MAGISTER EN QUÍMICA  
AMBIENTAL**

**Directora  
LUZ YOLANDA VARGAS FIALLO  
Magister en Química**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER – UIS  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA  
2015**

A mi Ángel y amor lindo.

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. MARCO DE REFERENCIA	16
1.1 FUENTES DE AGUA PRODUCIDA	16
1.2 AGUAS DE PRODUCCIÓN	17
1.2.1 Problemas del agua de producción	18
1.2.2 Características de las aguas de producción	19
1.3 FENOLES	22
1.3.1 Propiedades de los fenoles	23
1.3.2 Exposición y Efectos del fenol en la salud humana	24
1.3.3 Efectos en el medio ambiente	27
1.4 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS EN LA REMOCIÓN DE FENOLES TOTALES EN AGUA DE PRODUCCIÓN PETROLERA	29
1.4.1 Biodegradación del fenol bajo condiciones aerobias	33
1.4.2 Productos empleados comercialmente para de biodegradación de Fenol	36
1.4.3 Experiencias exitosas en degradación aerobia de fenol	37
1.5 REACTORES BIOLÓGICOS SECUENCIALES	40
1.6 ASPECTOS LEGALES	42
2. METODOLOGÍA	44
2.1 LOCALIZACIÓN	44
2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	44
2.2.1 Selección de las muestras	44
2.2.2 Toma de muestras de agua de producción	45
2.2.3 Inóculo microbiano	45
2.2.4 Descripción de las condiciones de estudio	46
2.2.5 Asignación	47

	pág.
2.2.6 Medición basal (pretest)	47
2.2.7 Condiciones de operación	48
2.2.8 Descripción de la intervención	49
2.2.9 Seguimiento (postest)	50
2.2.10 Análisis de datos	50
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	51
3.1 CARACTERÍSTICAS DEL AGUA DE PRODUCCIÓN CAMPO ESCUELA COLORADO	51
3.2 COMPORTAMIENTO VARIABLES DE CONTROL	53
3.2.1 Oxígeno disuelto (OD).	53
3.2.2 pH.	57
3.3 BIODEGRADACIÓN DE FENOLES TOTALES	61
3.3.1 Montaje y operación del modelo experimental	61
3.3.2 Preparación y toma de la muestra	63
3.3.3 Biodegradación de fenoles totales	65
CONCLUSIONES	76
BIBLIOGRAFÍA	79

## LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Propiedades físicas de los fenoles	24
Tabla 2. Constantes de acidez	24
Tabla 3. Efectos del fenol sobre la salud humana	26
Tabla 4. Características del Producto	37
Tabla 5. Condiciones de aplicación	37
Tabla 6. Límite máximo permisible de vertimiento de fenoles en fuentes hídricas	43
Tabla 7. Constantes de operación del sistema	47
Tabla 8. Diseño experimental	47
Tabla 9. Variables y métodos de análisis	48
Tabla 10. Condiciones de operación Fenobiol	49
Tabla 11. Caracterización inicial aguas de producción petrolera CEC.	51
Tabla 12. Valores oxígeno disuelto ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) en proceso de biodegradación aerobia	53
Tabla 13. Comportamiento pH	57
Tabla 14. Biodegradación aerobia fenoles totales en aguas de producción petrolera ( $\text{mg.l}^{-1}$ )	65
Tabla 15. Contrastes multivariados <sup>a</sup>	72
Tabla 16. Matriz SCPC inter-sujetos*	72
Tabla 17. Prueba de hipótesis para los contrastes de oxígeno disuelto	73
Tabla 18. Prueba de hipótesis para los contrastes de pH	73
Tabla 19. Prueba de hipótesis para los contrastes de fenoles totales	74
Tabla 20. Pruebas post hoc. Comparaciones múltiples	74
Tabla 21. Sub-conjuntos homogéneos, fenoles totales	75

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Modelo conceptual del origen, migración y acumulación de aguas de formación e hidrocarburos en yacimientos petroleros	14
Figura 2. Estructura química del Fenol	23
Figura 3. Ruta metabólica de eliminación del fenol (ATSDR, 1998)	27
Figura 4. Vía metabólica para la biodegradación de fenol en condiciones aerobias	36
Figura 5. Ubicación geográfica del Campo escuela Colorado	44
Figura 6. Comportamiento oxígeno disuelto RBS – 1	54
Figura 7. Comportamiento oxígeno disuelto RBS – 2	55
Figura 8. Comportamiento oxígeno disuelto RBS – 3	55
Figura 9. Comportamiento oxígeno disuelto grupo de control RBS – 4	56
Figura 10. Medidas marginales estimadas de oxígeno disuelto.	57
Figura 11. Comportamiento pH RBS – 1	58
Figura 12. Comportamiento pH RBS – 2	58
Figura 13. Comportamiento pH RBS – 3	59
Figura 14. Comportamiento pH RBS – 4	59
Figura 15. Medidas marginales estimadas de pH	60
Figura 16. Montaje modelo experimental	61
Figura 17. Proceso de expansión grupo experimental 1 (RBS – 1)	62
Figura 18. Proceso de expansión grupo experimental 2 y 3	62
Figura 19. Proceso de expansión grupo experimental 4 (control)	63
Figura 20. Muestras aguas de producción producto del biotratamiento	64
Figura 21. Datos y curva de calibración espectrofotómetro	64
Figura 22. Muestras depuradas aguas de producción	65
Figura 23. Biodegradación aerobia fenoles totales RBS – 1	66
Figura 24. % Biodegradación de fenoles totales en RBS – 1	67
Figura 25. Biodegradación aerobia fenoles totales RBS – 2	67
Figura 26. % Biodegradación de fenoles totales en RBS – 2	68
Figura 27. Biodegradación aerobia fenoles totales RBS – 3	68
Figura 28. % Biodegradación de fenoles totales en RBS – 3	69
Figura 29. Perdidas fenoles totales grupo de control RBS – 4	70
Figura 30. Biodegradación aerobia de fenoles totales	70
Figura 31. % Biodegradación de fenoles totales	61

## RESUMEN

TITULO: BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE FENOLES TOTALES PRESENTES EN AGUAS DE PRODUCCIÓN PETROLERA DEL CAMPO ESCUELA COLORADO.\*

AUTOR: William Guerrero Salazar\*\*

Palabras clave: Fenoles totales, biodegradación aerobia, reactores biológicos secuenciales, aguas de producción.

### DESCRIPCIÓN:

La investigación propuso evaluar por medio de Reactores Biológicos Secuenciales (RBS) la biodegradación aeróbica de los fenoles totales presentes en aguas de producción petrolera del Campo Escuela Colorado (CEC); que en la actualidad registra una producción media de 100 barriles de agua por día, y cuya producción podría incrementar en los próximos dos años en un 300%.

Para lograrlo se propuso una metodología de 3 fases. En la primera se realizó un muestreo al azar de las aguas de producción en los tanques de almacenamiento de crudo del Campo Escuela Colorado; la segunda se llevó a cabo en el Laboratorio Químico de Consultas Industriales de la UIS, donde se desarrolló la caracterización físico química del agua de producción del Campo, en relación con los nutrientes requeridos para el desarrollo de los microorganismos y los contenidos de fenoles totales; y en la tercera fase, se realizó la operación de los RBS, en donde se determinó la degradación de los fenoles totales; controlando el comportamiento del pH, el oxígeno disuelto y temperatura durante todo el proceso, permitiendo establecer la posibilidad de uso de esta tecnología para el tratamiento biológico de las aguas de producción.

Los resultados permitieron concluir, que las aguas de producción petroleras del CEC presenta concentraciones de fenoles totales entre de  $5,33 \pm 0,27 \text{ mg.l}^{-1}$ , y pueden ser tratadas satisfactoriamente utilizando RBS, obteniendo valores de degradación entre 78,72 – 86,39%.

---

\*Proyecto de grado.

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directora: Luz Yolanda Vargas Fiallo.

## ABSTRACT

TITLE: AEROBIC BIODEGRADATION OF PHENOLS TOTAL PRODUCTION PRESENT IN WATER OIL FIELD SCHOOL COLORADO\*

AUTHOR: William Guerrero Salazar\*\*

Keywords: Total Phenols, aerobic biodegradation, biological reactors sequential, production waters.

### DESCRIPTION:

The research aimed to assess the aerobic biodegradation of total phenols present in oil production waters through Sequential Biological Reactor (RBS) at Colorado School Field (CEC), which currently registers an average production of 100 barrels the water day, and the production could increase in the next two years by 300%.

To achieve this, we proposed a 3-phase methodology. The first was a random sampling of production water in the oil storage tanks of Colorado School Field; the second was held in the Chemical Laboratory of Industrial Consulting, at the Industrial University of Santander (UIS), where the physical and chemical characterization of Field production water was developed in relation to the nutrients required for the growth of microorganisms and the contents of total phenols; and during the third phase, the operation was performed to the RBS, where the degradation of total phenols was determined by controlling the behavior of pH, dissolved oxygen and temperature throughout the process, allowing the possibility of using this technology for biological treatment of produced water.

The results concluded that oil production waters at Colorado School Field presents a total phenol concentrations between  $5.33 \pm 0.27 \text{ mg.l}^{-1}$ , and can be successfully treated using RBS, obtaining degradation values between 78.72 - 86.39%.

---

\*Bachelor thesis

\*\* Faculty of Sciences. School of Chemistry. Director: Luz Yolanda Vargas Fiallo.

## INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción petrolera a nivel mundial han sido reconocidos como grandes generadores de residuos, emisiones y vertimientos altamente contaminados, situación que no es ajena en Colombia. Pero estos problemas ambientales no solo son asociados al sistema productivo como tal, también se asocian al tipo de producto extraído y los elementos que fluyen con él.

Las aguas de producción petrolera se generan en todo proceso extractivo de crudo, y el problema con ellas se deriva del hecho de que han estado presentes en la capa freática asociada al petróleo y al gas que se produce, con amplio contacto con las formaciones rocosas que han disuelto exitosamente a ciertos compuestos. Teóricamente el principal problema generado por el agua de producción “se deriva de sus contenidos de fenoles, sales y gases disueltos (CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S), así como de presentar generalmente niveles altos de gotitas de petróleo suspendidas y emulsificadas, y presentar algunos sólidos en suspensión que pueden contener trazas de metales pesados y, posiblemente, niveles excesivos de radiación en el estroncio y el radio”<sup>1</sup>.

En la actualidad, y basados en reportes del 2012 del CEC, se registra una producción media diaria de agua de 100 barriles día, y de 275 barriles de petróleo, (lo que establece una relación 1:2.75), agua que es bombeada con el crudo por el oleoducto y es transportada a la planta deshidratadora de Lizama, en donde la disponen (vertimiento).

Las proyecciones productivas del campo para los próximos años se aproximan a los 1.200 barriles de petróleo día, lo que hace presumir un incremento en el agua de producción a 436 barriles/día, razones por las cuales el Campo debe iniciar la

---

<sup>1</sup> Ibit. p 16

implementación de estrategias que le permitan disponer o dar uso a las aguas que este genera.

En términos generales la investigación se justifica al permitir establecer soluciones desde la química ambiental a las deficiencias en los procesos productivos, con el ánimo de mejorarlos y evitar efectos secundarios y nocivos sobre los recursos naturales, en este caso en particular, las aguas de producción petrolera generadas por el CEC presentan sustancias tóxicas recalcitrantes, entre estas el fenol, lo que implica el desarrollo de procedimientos e instalaciones convencionales. Es por esto, que es necesario el diseño y evaluación de procesos eficaces, que puedan adaptarse a sustancias difíciles de biodegradar y que ofrezcan una remoción completa de los contaminantes sin elevar los costos de los procesos.

Por tal motivo, el presente trabajo propuso determinar la biodegradación aeróbica de los fenoles totales presentes en las aguas de producción petrolera del CEC, y establecer su posibilidad de aplicación futura en la bio-remediación de las aguas de producción generadas en el Campo.

Así las cosas, será preciso iniciar, para conocimiento global de quienes accedan al presente trabajo, con un breve, pero concreto marco conceptual que recoja los elementos teóricos que ayudan a definir el objeto de estudio que es principalmente la reseña del CEC y las características del agua de producción, complementado con una revisión sobre el fenol, su propiedades, rutas de biodegradación y su efecto en la salud humana, concluyendo las referencias con una exposición concisa sobre los tratamientos biológicos en la remoción de fenoles totales en aguas de producción petrolera y el uso de los Reactores Biológicos Secuenciales para tal fin, para que quienes consulten puedan comprender este tema sin necesidad de poseer la suficiente experiencia microbiológica, pues al fin y al cabo se trata una temática de las ciencias naturales desde la óptica ambiental.

Seguidamente se relaciona el diseño metodológico empleado en el desarrollo del trabajo en donde se identifica el tipo de trabajo desarrollado, su localización y se propone el diseño experimental, soportado en tres fases, selección (muestreo), asignación de la intervención y el seguimiento al experimento.

Con el análisis de resultados y sus consideraciones estadísticas se valoraron los datos obtenidos durante el proceso, los que posibilitaron contar con bases sólidas que permitan formular en una segunda instancia una discusión y análisis de la eficiencia comparativa. Experimentalmente se aportan datos que permiten relacionar la capacidad metabólica y degradadora del fenol a partir de un consorcio microbiano comercial.

Se concluye con una discusión de los resultados que relacionan las respuestas de cada una de las pruebas experimentales del tratamiento microbiano en condiciones similares de operación.

## 1. MARCO DE REFERENCIA

### 1.1 FUENTES DE AGUA PRODUCIDA

En las operaciones de producción petrolera se requiere básicamente que los fluidos que entran en el agujero del pozo puedan fluir hasta la superficie, donde son procesados, separados, y transportados. “La mayoría de pozos producen algo de agua pero generalmente las cantidades son, al menos en un principio, pequeñas como para cumplir con los límites de refinería o de transporte, hasta 0,5% BS&W. Este sedimento y agua básicos es el agua inicial producida por el pozo”<sup>2</sup>.

A medida que la producción continúa, disminuye la presión del yacimiento en la vecindad inmediata de los pozos productores, en donde según Rabalais et al<sup>3</sup>., se produce movimiento de fluido dentro del yacimiento y se perturba el contacto petróleo/agua. Los movimientos del agua y de los contactos son una función de los parámetros del yacimiento, particularmente de la transmisibilidad y las tasas de recogimiento.

Eventualmente el agua que se mueve en el yacimiento puede llegar al pozo y comenzará a salir en la producción, por lo que hay que instalar desde el comienzo equipos para separarla del petróleo.

En relación con lo expuesto en la guía para la disposición y tratamiento del agua producida<sup>4</sup>, la cantidad de agua que se puede tolerar en cualquier pozo productor varía considerablemente. En una inundación de agua, donde hay separación en el

---

<sup>2</sup>KERRY M ST. PE, JAY MEANS, MATT SCHLENKER, SEERI COURTNEY. Fate and Effects of Produced Water Impacts to Low Energy, Brackish Water Systems in Southeast Louisiana: A Project Summary, Louisiana Department of Environmental Quality, Water Pollution Control Division, Lockport, Louisiana, 70374

<sup>3</sup> RABALAIS N., MEANS J., BOESCH D. Fate and Effects of produced Water Discharges in Coastal Environments. Louisiana Universities Marine Consortium, Chauvin, Louisiana, 70344. Presented at the First International Symposium on Oil and Gas Exploration and Production Waster Management Practices, September 10-13, 1990, New Orleans, Louisiana, Sponsored by U.S. EPA.

<sup>4</sup> Op cit ARPEL. p 7

sitio, y se inyectan grandes volúmenes, el límite máximo económico muy bien podría ser de 50:1, es decir, 50 barriles de agua producida y dispuesta por cada barril de petróleo. En otros casos donde la eliminación de agua es limitada y costosa y las regalías sobre el petróleo son altas, los límites económicos son menores, quizás tan bajos como de 2 ó 3: 1.

En resumen, todos los pozos producen algo de agua. Las cantidades varían desde muy pequeñas inicialmente hasta varias veces el volumen de petróleo en etapas posteriores de la vida del depósito. En la mayoría de los casos la producción de agua durante la vida del pozo es inevitable, y se prevé que los volúmenes aumenten dramáticamente una vez que ocurra la irrupción de agua, y luego su incremento será cada vez más lentamente hasta alcanzar el límite económico.

## 1.2 AGUAS DE PRODUCCIÓN

“En el área de explotación el agua de los campos petroleros es un elemento indispensable para extraer el aceite con mayor facilidad, el estudio de estas aguas permite aumentar el conocimiento sobre el comportamiento actual del movimiento de las aguas de formación”<sup>5</sup>.

De acuerdo con Case<sup>6</sup>, las aguas de producción o de formación son aguas subterráneas que saturan los poros de las rocas, arenas y carbonatos que constituyen los yacimientos petroleros, sus principales constituyentes son Cl<sup>-</sup> y Na<sup>+</sup> en altas concentraciones (hasta 150 y 80 g/l respectivamente), sin embargo las relaciones de algunos halógenos como bromo y yodo, son significativas, porque permiten definir procesos hidrogeoquímicos y de interacción agua-roca.

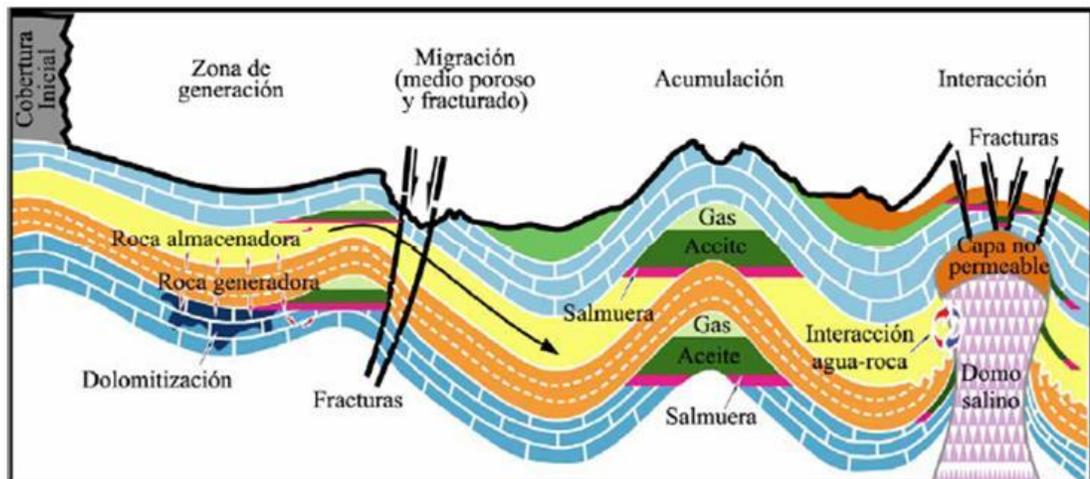
---

<sup>5</sup> MENDEZ B., Geoquímica e isotopía de aguas de formación (salmueras petroleras) de campos mesozoicos de la cuenca del sureste de México: implicación en su origen, evolución e interacción agua-roca en yacimientos petroleros. Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico 2007. p 36.

<sup>6</sup> Case L. C., 1955, Origin and current usage of the term, “connate water”: American Association of Petroleum Geologists, Bulletin 39, p. 1879–1882.

La figura 1. muestra un modelo conceptual del sistema petrolero en una cuenca sedimentaria(diseñado por el grupo de Geofluidos-UNAM), en donde “el movimiento de las salmueras depende de un gran número de mecanismos, dentro de los que se incluye principalmente sedimentación, compactación, gradiente topográfico, variaciones en la densidad del fluido, condiciones de permeabilidad y gradientes de presión”<sup>7</sup>.

Figura 1. Modelo conceptual del origen, migración y acumulación de aguas de formación e hidrocarburos en yacimientos petroleros



Fuente: Méndez. B.A. Geoquímica e Isotopía de Aguas de Formación (salmueras petroleras) de Campos Mesozoicos de la Cuenca del Sureste de México: Implicación en su Origen, Evolución e Interacción Agua-roca en Yacimientos Petroleros.

**1.2.1 Problemas del agua de producción.** Según Hanor<sup>8</sup> y Kharaha y Thordsen<sup>9</sup> existen varios términos descriptivos para los fluidos acuosos profundos en cuencas sedimentarias: salmueras petroleras, salmueras de cuenca, aguas de cuenca, aguas de producción y aguas deformación. Esta variación existe de acuerdo al hecho de que las aguas pueden ser clasificadas de acuerdo a su

<sup>7</sup> Kharaka, Y. K., and Hanor, J. S., 2004, Deep fluids in the continents: I. Sedimentary basins, in Drever, J. I., Holland, H. D., and Turekian, K. K., eds., Treatise on geochemistry, v. 5, Surface and groundwater weathering and soils, Elsevier, p. 499-540.

<sup>8</sup> Hanor, J. S., 1987, Origin and migration of subsurface sedimentary brines, Short Course 21, (SEMP) Society for Sedimentary Geology, Tulsa, OK, p. 36-74.

<sup>9</sup> Kharaka, Y. K., and Thordsen, J. J., 1992, Stable isotope geochemistry and origin of water in sedimentary basins, in Clauer, N., and Chaudhuri, S., eds., Isotope signatures and sedimentary records, Berlin, Springer, p. 411-466.

salinidad, origen de H<sub>2</sub>O (el cual es por lo regular diferente al de los solutos), comportamiento isotópico, concentración y origen de los constituyentes disueltos. La manera más común de clasificarlas es de acuerdo con su salinidad, la cual se define como la cantidad de sólidos disueltos totales (SDT) en una solución, generalmente reportada en miligramos por litro (mg.l<sup>-1</sup>).

La invasión de agua subterránea en los pozos petroleros es inevitable y un pozo con alto porcentaje de agua representa un problema que se controla con el entendimiento de la hidrodinámica en el yacimiento. Existe una gran cantidad de campos petroleros agotados investigados como posibles yacimientos acumuladores de grandes cantidades de CO<sub>2</sub> aislado, lo cual depende directamente de la interacción agua-mineral-CO<sub>2</sub>. La vía para obtener información acerca de la interacción ocurrida en el yacimiento a lo largo del tiempo es el análisis de las aguas.<sup>10,11</sup>

**1.2.2 Características de las aguas de producción.** “Los valores de salinidad se incrementan con el tiempo geológico debido principalmente a la interacción agua-roca, por lo que las aguas que se encuentran en horizontes o formaciones más antiguas tienden a presentar mayores concentraciones de sólidos disueltos totales”<sup>12</sup>. “Actualmente las aguas de formación presentan valores de salinidad de 30,000 hasta 600,000 mg.kg<sup>-1</sup> (ppm), este enriquecimiento es debido principalmente a la interacción con sales que aumentan de manera considerable la concentración de Cl<sub>2</sub> y Na<sup>+</sup>”<sup>13</sup>.

“En las aguas de formación la temperatura y el pH juegan un papel muy importante en la determinación de estas transformaciones, aunque también influyen los procesos de disolución y precipitación, los cuales dependen de la composición química y mineralógica de la roca, heterogeneidad en la composición,

---

<sup>10</sup> Herzog, H. J., and Drake, E. M., 1998, CO<sub>2</sub> capture, reuse, and sequestration technologies for mitigating global climate change, in Proceedings of the 23th international technology conference on coal utilization and fuel systems. Clearwater, FL, p. 615-626.

<sup>11</sup> White, C. M., Strazisar, B. R., Granite, E. J., Hoffman, J. S., and Pennline, H. W., 2003, critical review: separation and capture of CO<sub>2</sub> from large stationary sources and sequestration in geological formations-coalbeds and deep saline aquifers: Journal of Air and Waste Management Association v. 53, p. 645-715.

<sup>12</sup> Op cit, Hanor, p. 36-74.

<sup>13</sup> Hernández, C. A., Ortuño, M. E., y Juárez, A. L. (2002), Salinidad en los acuíferos de la Sonda de Campeche, datos no publicados, Reporte Interno, PEMEX.

textura, sobrepresión, composición química y velocidad de infiltrado de la salmuera”.<sup>14</sup>

Los principales procesos geoquímicos que controlan la composición de las aguas de formación son: “a) disolución y precipitación de calcita y yeso, b) oxidación de pirita y formación de oxihidróxidos, c) disolución de silicatos (feldespatos, micas, cloritas, anfíboles, olivinos, etc.)”<sup>15</sup>, “d) formación de minerales arcillosos (caolinitización, laterización e illitización), e) disolución de dolomita y precipitación de calcio (dedolomitización)”<sup>16</sup>, “f) formación de dolomita (dolomitización), g) reducción de sulfato y formación de pirita, h) precipitación de sílice, i) evaporación y j) intercambio catiónico”<sup>17</sup>.

“La cinética de reacción es un factor importante, ya que el tiempo de contacto del agua con los minerales modifica sus propiedades enriqueciéndola en SDT, lo que representa una mayor interacción agua-roca y un mayor tiempo de migración”<sup>18</sup>. Las aguas de formación influyen en la hidratabilidad de los minerales en los yacimientos para recuperación del aceite, “uno de estos efectos es la variación del ángulo de contacto en la superficie de los minerales (por cambios en la composición de la salmuera), ángulos medidos muestran que la mojabilidad del aceite/salmuera/sistemas sólidos, puede ser afectada por la salinidad así como por el pH”<sup>19</sup>.

Las aguas de formación son importantes portadores de halógenos, principalmente Cl<sup>-</sup> que se encuentra en mayor proporción (100-55,000 mg.l<sup>-1</sup>), seguido del Br<sup>-</sup> (1-6,000 mg.l<sup>-1</sup>), I<sup>-</sup> (0.1 a 100 mg.l<sup>-1</sup>) y F<sup>-</sup> (0.1 a 30 mg.l<sup>-1</sup>). Los

---

<sup>14</sup> Bazin, B., Borsse, É., and Sommer, F., 1997a, Chemistry of oil-fields brines in relation to diagenesis of reservoirs 1. Use of mineral stability fields to reconstruct in situ water composition. Example of the Mahakam basin: Marine and Petroleum Geology, v. 14, No. 5, p. 481-495.

<sup>15</sup> Stumm, W., and Morgan, J. J., 1996, Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters, Third edition, New York, John Wiley and sons, p. 275-315.

<sup>16</sup> Drever, J., 1997, The geochemistry of natural waters: surface and groundwater environments, Third Edition, New Jersey, Prentice Hall Ed, p. 235-351.

<sup>17</sup> Langmuir, D., 1997, Aqueous environmental geochemistry, First Edition, New Jersey, Prentice Hall Inc, p. 245-287.

<sup>18</sup> Op cit. Bazin, B., p. 481-495.

<sup>19</sup> Buckley, J. S., and Morrow, N. R., 1991, An overview of crude oil adhesion phenomena, in Toulhoat, H., and Lecourtier, J., eds., Physical chemistry of colloids and interfaces in oil production. Editions Techni, Paris, p. 39-75.

halógenos son conservativos por no experimentar interacción diagenética agua-roca y por no ser constituyentes principales de los minerales carbonatados y rocas clásticas. La única situación en la que la interacción agua-roca de los halógenos representa un papel importante es cuando las rocas llegan a tener contacto con sales (Worden, 1996)<sup>20</sup>. La covariación sistemática mostrada por las concentraciones de Br<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> y F<sup>-</sup> sugiere que son controladas por los mismos procesos químicos, mientras que la concentración de I<sup>-</sup> depende de un proceso independiente<sup>21</sup>.

El Na<sup>+</sup> es el catión dominante en aguas de formación (70 al 90% de SDT) seguido por el Ca<sup>2+</sup>. La concentración de Mg<sup>2+</sup> es mucho menor que en aguas oceánicas y decrece con el incremento de la temperatura en el subsuelo. Generalmente la concentración de Sr<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup> son mayores en aguas de formación que en los océanos, su incremento es proporcional a la concentración de Ca<sup>2+</sup> y Cl<sup>-</sup>. Las relaciones de Li<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup> y Cs<sup>+</sup> aumentan normalmente respecto a Na<sup>+</sup>, con el incremento de la temperatura del subsuelo. Estas proporciones pueden variar de acuerdo al tipo de cuenca, encontrándose incluso heterogeneidad en una misma cuenca con similares condiciones geológicas<sup>22</sup>.

La concentración de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) en aguas de formación, rara vez excede los 1000 mg.l<sup>-1</sup>, mientras que en agua marina se encuentra hasta 2700 mg.l<sup>-1</sup>. A diferencia de los iones mayores respecto a la alcalinidad, no existe una correlación entre sulfato, cloruro y salinidad. La anhidrita controla la concentración de sulfato al disminuir su solubilidad rápidamente con un incremento de la temperatura<sup>23</sup>. Otros mecanismos que afectan la concentración de sulfatos son: liberación por oxidación de pirita<sup>24</sup>, disolución de yeso y anhidrita<sup>25,26</sup>, mezcla, precipitación de barita (BaSO<sub>4</sub>), reducción bacteriana particularmente en la presencia de hidrocarburos<sup>27</sup> y reducción termoquímica significativa a temperaturas superiores a 100 °C<sup>28</sup>.

---

<sup>20</sup> Worden, R. H., 1996, Controls of halogen concentrations in sedimentary formation waters: Mineralogical Magazine, v. 60, p. 259-274.

<sup>21</sup> Ibit. Worden, r H, p 259-274

<sup>22</sup> Op cit. Kharaka, Y. K., and Thordsen, J. J. p. 411-466.

<sup>23</sup> Ibit. Kharaka, Y. K., and Thordsen, J. J. p. 411-466.

<sup>24</sup> Dworking, S. I., and Land, L. S., 1996, The origin of aqueous sulfate in Frio pore fluids and its implication for the origin of oil-field brines: Applied Geochemistry, v. 11, p. 403-408.

<sup>25</sup> Land, L. S., Eustice, R. A., Mack, L. E., and Horita, J., 1995, Reactivity of evaporates during burial: an example from the Jurassic of Alabama: Geochimica et Cosmochimica Acta, v. 59, p. 3765-3778.

<sup>26</sup> Hitchon, B., 1996, Rapid evaluation of the hydrogeochemistry of a sedimentary basin using only 'standard' formation water analysis: example from the canadian portion of the Williston basin: Applied Geochemistry, v. 11, p. 789-795.

<sup>27</sup> Gavrieli, I., Starensky, A., Spiro, B., AizenshaT, Z., and Nielsen, H., 1995, Mechanism of sulfate removal from subsurface chloride brines: Heletz-Kokhav oilfields, Israel: Geochimica et Cosmochimica Acta, v. 59, p. 3525-3533.

<sup>28</sup> Machel, H. G., 2001, Bacterial and thermochemical sulfate reduction in diagenetic settings: old and new insights: Sedimentary Geology, v. 140, p. 143-175.

### 1.3 FENOLES

“Los fenoles son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático y un grupo hidroxilo como su grupo funcional”<sup>29</sup>. “Los fenoles son sustancias tóxicas frecuentemente encontradas en ambientes acuáticos como resultado de la contaminación a partir de una gran variedad de fuentes (industriales, biogeoquímicos, degradación de pesticidas, entre otras)”<sup>30</sup>. La débil acidez del grupo fenólico ha determinado que se los agrupe químicamente junto a los ácidos carboxílicos y a los taninos, conformando así el grupo de los ácidos orgánicos.

Como dice Rodríguez<sup>31</sup>, la estructura básica de los compuestos fenólicos es el benceno, un anillo aromático de 6 átomos de carbono, su fórmula química es  $C_6H_5OH$ . La localización de sustituyentes en el anillo de benceno afecta significativamente la reactividad de la molécula; estos cambios en estructura y reactividad ejercen gran influencia sobre la biodegradabilidad de esta familia de compuestos.

El fenol no es un alcohol, debido a que el grupo funcional de los alcoholes es R-OH, y en el caso del fenol es Ph-OH. El Fenol es conocido como ácido fénico. Puede sintetizarse mediante la oxidación parcial del benceno<sup>32</sup>, su estructura química se muestra en la Figura 2.

“Las concentraciones naturales de compuestos fenólicos son usualmente inferiores a  $1 \mu g.L^{-1}$  y los compuestos más frecuentemente identificados son fenol, cresol y los ácidos siríngico, vainílico y p-hidroxibenzoico. En aguas contaminadas

---

<sup>29</sup>Taiz, Lincoln t., Zeiger E. Secondary Metabolites and Plant Defense. Plant Physiology, Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.

<sup>30</sup>Patterson J.W. Wastewater treatment technology. Ann Arbor Science publishers. Ann Arbor. Mich. 1995.

<sup>31</sup> Rodríguez M. Fenton and UV-vis based advanced oxidation processes in wastewater treatment: Degradation, mineralization and biodegradability enhancement. Tesis doctoral, Universidad de Barcelona. España. Disponible en : [http://www.tdx.cesca.es/AVAILABLE/TDX-0718103-115659/TOL208.pdf](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0718103-115659/TOL208.pdf)

<sup>32</sup> Ibit. P 75-95

es posible detectar otros tipos, como los clorofenoles, fenilfenol y alquilfenol. En rellenos sanitarios, su concentración total puede ser próxima a los 20 mg.l<sup>-1</sup>,<sup>33</sup>.

Figura 2. Estructura química del Fenol.



Fuente: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008c). Toxicological Profile for Phenol. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Unites States.

**1.3.1 Propiedades de los fenoles.** Los fenoles presentan algunas propiedades semejantes a los alcoholes, debido a la presencia del grupo –OH. Sin embargo conforman otra familia química y la mayoría de sus propiedades y los métodos para su obtención son diferentes. Propiedades físicas de los fenoles:

- Los fenoles más sencillos son líquidos o sólidos blandos e incoloros y se oxidan con facilidad por lo que se encuentran coloreados. En presencia de impurezas o bajo influencia de la luz, el aire y ciertos compuestos como el cobre y el hierro, el fenol puede teñirse de amarillo, marrón o rojo.
- El fenol es poco soluble en agua ya que aunque presentan el puente de hidrógeno, la proporción de carbonos con respecto a la cantidad de –OH es muy baja.
- Para que los compuestos que contienen grupos –OH sean solubles en agua la razón entre carbonos y grupos –OH no debe ser mayor de 3:1. El fenol es el miembro más pequeño de este grupo y contiene 6 átomos de carbono y sólo uno de -OH.
- Los demás monofenoles poseen mayor número de carbonos y sólo un grupo OH, por ello son insolubles en agua. Los difenoles y polifenoles con más de un grupo –OH presentan mayor solubilidad en el agua.
- En general presentan altos puntos de ebullición debido a la presencia del puente de hidrógeno.
- Los puntos de fusión son altos comparados con los de los alcoholes, esto se debe a que están unidos por fuerzas intermoleculares más fáciles de vencer<sup>34</sup>, la tabla 1 resume y expone estas propiedades.

<sup>33</sup> CAREY, F. Organic Chemistry. 4<sup>a</sup> ed. ED. McGraw-hill. USA. 2000

<sup>34</sup> WADE, L.G. Química Orgánica. 2<sup>a</sup> ed. Ed. Prentice-Hall- USA. 2002. p 65-82

Tabla 1. Propiedades físicas de los fenoles.

Nombre	Pto. de fusión(°C)	Pto. de ebullición(°C)	Solubilidad (gr/100 gr de H <sub>2</sub> O)
Fenol	41	182	9,3
-cresol (o-metilfenol)	31	191	2,5
m-cresol (m-metilfenol)	11	201	2,6
p-cresol (p-metilfenol)	35	202	2,3
Catecol (o-dihidroxibenceno)	104	246	45
Resorcinol (m-dihidroxibenceno)	110	281	123
Hidroxiquinona (p-dihidroxibenceno)	173	286	8

#### Propiedades químicas de los fenoles:

- Las propiedades de los fenoles están influenciadas por sus estructuras, en la reacción que se presenta a la derecha de este texto el fenol cede un protón al agua para formar el ión hidronio, de acuerdo a esto, el fenol se comporta como un ácido.
- Si se comparan las constantes de acidez de los fenoles con las del agua, los alcoholes y los ácidos carboxílicos (ver tabla 2), se puede concluir que los fenoles son ácidos más fuertes que el agua y que los alcoholes, pero más débiles que los ácidos carboxílicos.
- El fenol presenta cinco estructuras contribuyentes, es decir que pueden ceder protones. Dos de estas estructuras corresponden a la resonancia del anillo bencénico. La resonancia viene dada por la ubicación de los dobles enlaces dentro de la molécula.
- Las otras tres estructuras son posibles debido al carácter básico del oxígeno que le permiten compartir más de un par de electrones con el anillo<sup>35</sup>.

Tabla 2. Constantes de acidez

Agua	$1 \times 10^{-14}$
Alcoholes	$10^{-16}$ a $10^{-18}$
Fenol	$1,1 \times 10^{-10}$
Ácidos carboxílicos	$10^{-5}$

**1.3.2 Exposición y efectos del fenol en la salud humana.** “La exposición al fenol puede darse por algunas vías, las mismas que representan afectaciones a la

<sup>35</sup> lbit. p 65-82

salud humana”<sup>36</sup>. “El fenol es un compuesto corrosivo y causa quemaduras en el sitio de contacto”<sup>37</sup>.

“El fenol inhalado es absorbido rápida y significativamente por los pulmones, llevando a una toxicidad sistemática. A causa de su baja volatilidad, el peligro de inhalación a temperatura ambiente es limitado. Puede provocar síntomas no inmediatos como son: quemazón, tos, vértigo, dolor de cabeza, náuseas, jadeo, vómitos y pérdida del conocimiento”<sup>38</sup>.

“Si el fenol es ingerido, causa dolor abdominal, convulsiones, diarrea, dolor de garganta y coloración oscura de la orina. Se han descrito muertes en adultos después de ingerir 1 g”<sup>39</sup>. “Una ingestión continua de fenol en concentraciones entre 10 y 240 mg.l<sup>-1</sup>, por prolongados períodos, causa irritación bucal, diarrea, orina oscura; su concentración letal en sangre es de 4.7 a 130 mg.100 ml<sup>-1</sup>”<sup>40</sup>.

El contacto con la piel es la principal vía de exposición tóxica al fenol. El vapor y líquido son absorbidos fácil y rápidamente a través de la piel causando quemaduras cutáneas graves, efecto anestésico local, convulsiones, shock, colapso, coma o muerte. Incluso soluciones diluidas (< 2%) pueden causar quemaduras graves si el contacto es prolongado. Si el fenol toma contacto con los ojos, puede existir pérdida de visión y quemaduras graves<sup>41</sup>.

“En todos los sitios de contacto oral, estomacal, dérmico u ocular, el fenol puede causar serias quemaduras con una destrucción irreversible del tejido”<sup>42</sup>. En la tabla 3 se resume los efectos que puede tener el fenol en los sistemas del ser humano.

---

<sup>36</sup> Consejería de Sanidad, Dirección General de Salud Pública, Servicio de Sanidad Ambiental. (2007). Riesgo químico - accidentes graves Fenol. Región de Murcia: Europa.

<sup>37</sup> Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2008c). Toxicological Profile for Phenol. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Unites States.

<sup>38</sup> Institute for Health and Consumer Protection (IHCP). (2006). European Union Risk Assessment Report. PHENOL. CAS No: 108-95-2. EINECS No: 203-632-7. European Communities. Italy.

<sup>39</sup> Op cit. Consejería de Sanidad, Dirección General de Salud Pública, Servicio de Sanidad Ambiental.

<sup>40</sup> Kumaran, P., & Paruchuri, L. (1997). Kinetics of phenol biotransformation. Wat. Res. 31(1). 11-22.

<sup>41</sup> Op cit. Consejería de Sanidad, Dirección General de Salud Pública, Servicio de Sanidad Ambiental.

<sup>42</sup> BASF Chemical Emergency Medical Guidelines. (2009). Phenol (C6H5OH).Code: E014-007.

Según la ATSDR<sup>43</sup>, el fenol no ha sido clasificado por efectos carcinogénicos; sin embargo, puede ser un promotor de tumores. De la misma manera, no se han reportado efectos en el desarrollo o reproducción a causa del fenol en humanos. En estudios con animales, el fenol ha sido reportado como embriotóxico y fetotóxico, pero no teratogénico.

Tabla 3. Efectos del fenol sobre la salud humana

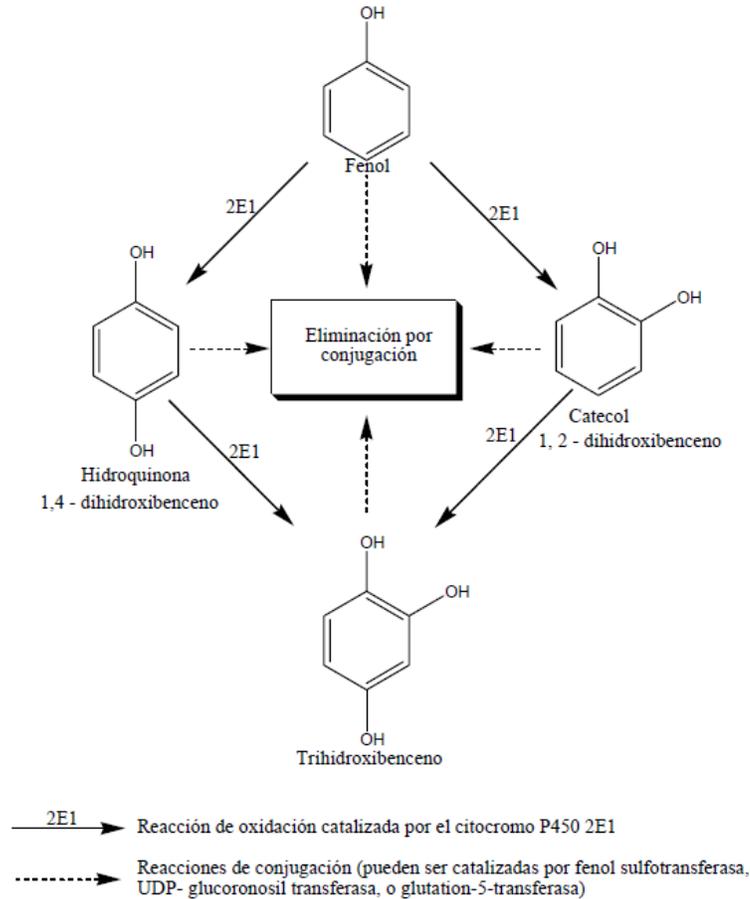
Sistema del ser Humano	Efecto del Fenol
Sistema Nervioso Central (SNC)	Este sistema se deprime, causa pérdida de la conciencia, ataques, depresión respiratoria y coma.
Sistema respiratorio	Exposiciones leves pueden causar irritación del tracto respiratorio superior. Exposiciones más serias pueden causar inflamación de la garganta y tráquea, ulceración de la tráquea y edema pulmonar.
Sistema cardiovascular	Causa inicialmente elevación en la presión sanguínea, después progresivamente baja la presión y causa un shock. Arritmia cardíaca y bradicardia.
Sistema gastrointestinal	Por cualquier vía de exposición el fenol causa comúnmente náusea, vómito y diarrea. Si se ingiere causa daño a la boca, garganta, esófago y estómago. La ingestión puede conducir a la muerte por un fallo respiratorio.
Sistema renal	Fallo renal agudo y desequilibrio ácido-base.
Sistema ocular	Inflamación del ojo y del párpado. Puede nublarse la superficie del ojo.
Sistema dérmico	Si es aplicado directamente, puede dejar manchas color marrón. Al mantener fenol sobre la superficie de la piel, penetra rápidamente y causa muerte celular y gangrena. Si es expuesto en más de 100 cm <sup>2</sup> de piel, existe un riesgo de muerte inmediata.

Fuente: Consejería de Sanidad, Dirección General de Salud Pública, Servicio de Sanidad Ambiental. (2007). Riesgo químico - accidentes graves Fenol. Región de Murcia: Europa

- **Eliminación y excreción.** Diversos estudios reportan que el fenol y sus formas conjugadas son un constituyente normal de la orina en concentraciones de  $8.7 \pm 2$  mg/día. En la Figura 3 se muestra la ruta de eliminación en el organismo humano.

<sup>43</sup> Op cit. Institute for Health and Consumer Protection (IHCP). (2006).

Figura 3. Ruta metabólica de eliminación del fenol (ATSDR, 1998)



En la orina. Existen tres sistemas de enzimas encargadas de catalizar las reacciones de transformación de fenol, la fenol sulfotransferasa, UDP-glucuronosil transferasa, y glutatión-5-transferasa. Estas enzimas se encuentran en diferentes tejidos, lo que provoca competencia entre éstos no sólo por el fenol sino por sus productos de oxidación, como la hidroquinona. En consecuencia, la cantidad de productos formados puede variar en base a la especie, la dosis y la ruta de administración. In vivo, el tracto gastrointestinal, el hígado, los pulmones y los riñones son los tejidos donde existe mayor conjugación de compuestos fenólicos simples.<sup>44</sup>

**1.3.3 Efectos en el medio ambiente.** “La alta solubilidad del fenol hace que los vapores liberados hacia la atmósfera sean atrapados por la lluvia, ocasionando el transporte de fenol desde zonas industriales hacia el campo, ríos y mares”.<sup>45</sup>

<sup>44</sup> Op cit. ATSDR. 1998. P 127 – 133.

<sup>45</sup> Op cit. Rodríguez, 2003

“Debido a que el pKa del fenol es 9.68, éste se encontrará en mayor proporción disociado en medios acuáticos naturales, por lo que su transporte hacia otras esferas ambientales dependerá del pH del medio”.<sup>46</sup>

El transporte intercompartimental del fenol ocurre de la siguiente manera: el fenol liberado al medio ambiente, regularmente en fase gaseosa, es lavado por la lluvia y llevado vía deposición húmeda y lixiviación a través del suelo. La evaporación tiende a ser lenta en el agua. Aunque el fenol no es muy persistente en aire, agua superficial u oceánica e incluso en suelo, reacciona fotoquímicamente, teniendo un tiempo de vida media de algunas horas; en cambio, su degradación por vía biológica, es de aproximadamente 2 días<sup>47</sup>.

“Teniendo en cuenta que el fenol absorbe luz en la región de 290 a 333 nm, es factible su foto oxidación en superficies acuáticas. El fenol es biodegradable en aguas siempre y cuando su concentración no sea muy alta y provoque inhibición en los microorganismos responsables de su degradación; así mismo, ésta se afecta cuando la concentración de compuestos orgánicos e inorgánicos es alta”.<sup>48</sup>

“El fenol puede ser convertido por bacterias, bajo condiciones aerobias, en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, mientras que en condiciones anaerobias puede transformarse en CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>. El catecol, cis-cis muconato, β-cetoadipato, succinato y acetato son algunos de los intermediarios en la biodegradación del fenol”<sup>49</sup>

El tiempo de vida media por degradación biológica en medios lacustres es de 1 día y de 9 en estuarios. Por vía fotoquímica la oxidación de fenol producida por radicales peróxido es de aproximadamente 19 horas, y la constante de velocidad para la reacción del fenol con O<sub>3</sub> en agua es de 1.5 x 10<sup>-5</sup> a 6 x 10<sup>-5</sup>. Aunque el nivel de bioacumulación del fenol es muy bajo, éste es considerado tóxico para los organismos acuáticos<sup>50</sup>.

---

<sup>46</sup> ATSDR. Toxicological profile for phenol. Agency for toxic substances and disease registry, U.S. Department of health and human services. Atlanta. P 127 – 133.

<sup>47</sup> GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 5.

<sup>48</sup> WHO. Phenol environmental health criteria 161. World Health organization. Disponible En: [www.inchem.org](http://www.inchem.org).

<sup>49</sup> Op cit. Rodríguez, 2003 En: GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 5.

<sup>50</sup> Op cit. ATSDR, 1998. P 127 – 133.

“Naturalmente el fenol se forma por la descomposición de materia orgánica. Su incremento ambiental se ve reflejado por la quema de bosques... Sin embargo, la mayor cantidad de fenol es liberado al ambiente a causa de la actividad industrial y la comercialización de productos que lo contienen”<sup>51</sup>. “La combustión que se produce por automóviles también libera fenol a la atmósfera. El fenol pasa al agua y suelos desde el aire por deposición húmeda. Una vez en el suelo, se puede mover por lixiviación con ayuda de la lluvia, llegando a las aguas subterráneas. La evaporación de fenol en agua es lenta”<sup>52</sup>. “El fenol no muestra bioacumulación significativa”<sup>53</sup>.

“Al ser descargado en cuerpos de agua representa riesgo frente a organismos acuáticos. La EPA determinó un nivel de preocupación de fenol de 0.02 µg.l<sup>-1</sup>. En concentraciones de 5 a 25 mg.l<sup>-1</sup> puede ser tóxico y/o letal para los peces”<sup>54</sup>. “En concentraciones bajas, el fenol no permanece ni en el aire, ni en el suelo o el agua superficial, esto se debe a que reacciona fotoquímicamente en el aire y en el agua superficial y puede ser biodegradado aeróbica y anaeróbicamente tanto en el agua como en el suelo”<sup>55</sup>.

#### **1.4 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS EN LA REMOCIÓN DE FENOLES TOTALES EN AGUAS DE PRODUCCIÓN PETROLERA**

Los tratamientos biológicos, son utilizados por sus bajos costos y altas eficiencias, se constituyen en alternativas para eliminar moléculas orgánicas; pueden ser aerobios o anaerobios, y cada una de estas modalidades presenta distintas ventajas e inconvenientes. A continuación se describen algunos tratamientos

---

<sup>51</sup> World Health Organization. (1994). International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 161. Phenol. Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc161.htm>

<sup>52</sup> Ibit.

<sup>53</sup> International Programme on Chemical Safety. (1994). Health and Safety Guide No.88, Phenol, Health and Safety, Guide. World Health Organization. Geneva.

<sup>54</sup> Annachhatre, A. P., & Gheewala, S. H. (1996). Biodegradation of chlorinated phenolic compounds. *Biotechnology Advances*. 14(1). 35-56.

<sup>55</sup> Op cit. World Health Organization. (1994).

biológicos aerobios que han sido utilizados para la remoción de fenol en agua.

“La degradación de los compuestos fenólicos puede ser llevada a cabo por organismos procariotas y eucariotas, tanto en condiciones aeróbicas (oxígeno como aceptor final de electrones) como anaeróbicas (nitrato, sulfato, iones metálicos o dióxido de carbono como aceptores finales de electrones)”<sup>56</sup>.

Estudios desarrollados por Brenner<sup>57</sup> y Yoong y Lant<sup>58</sup>, establecen que el tratamiento biológico ha sido utilizado eficientemente en la depuración de aguas residuales que contienen compuestos orgánicos peligrosos. “Si bien los compuestos tóxicos como el fenol contribuyen con la inestabilidad de los sistemas de tratamientos biológicos de aguas residuales, estos compuestos también son usados como fuentes de carbono y energía por ciertos grupos de microorganismos”<sup>59</sup>.

La experiencia desarrollada por Watanabe *et al.*,<sup>60</sup> muestra el uso de lodos activados, utilizando un tanque de aireación de 5 l equipado con un sistema en línea para el monitoreo de OD (oxígeno disuelto) y pH acoplado a un tanque de sedimentación con una capacidad de 3 l. Los lodos activados utilizados fueron extraídos de una planta de tratamiento de aguas residuales de una refinería. El proceso de adaptación consistió en la alimentación de  $0.3 \text{ gl}^{-1}\text{d}^{-1}$  de fenol durante un mes. A partir de los datos de biodegradación obtenidos durante la adaptación y su ajuste a un modelo de Haldane, calcularon la carga máxima para el reactor, que se establecida en  $4 \text{ Kgm}^{-3}\text{d}^{-1}$  de fenol. Para comprobar los resultados teóricos en el reactor, incrementaron la carga de fenol progresivamente desde 0.3 a 1, 2, 4,

---

<sup>56</sup> Lovley, D.R. y Lonergan, D.J. Anaerobic Oxidation of tolueno p-cresol and phenol by the Dissimilatory Iron-Reducing Organism GS-15. *Appl. Environ. Microbiology*. 56. 1858-1865, 1990.

<sup>57</sup> Brenner A., Chozick R., Irvine R. Treatment of a high-strength mixed phenolic waste in a SBR. *Wat Environ Res*. 64 (2), 128-133, 1992.

<sup>58</sup> Yoong E., Lant P. Biodegradation of high strength phenolic wastewater using SBR. *Wat Sci Technol*. 43 (3), 299-306, 2001.

<sup>59</sup> Ibit. p 299-306

<sup>60</sup> Watanabe K., Hino S. y Takahashi N. Responses of sludge to an increase in phenol loading, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 11.

8 Kgm<sup>3-1</sup>d<sup>-1</sup>. Así, la carga máxima real obtenida fue de 2 Kgm<sup>3-1</sup>d<sup>-1</sup> de fenol, que es sólo la mitad de la carga predicha por el modelo de Haldane. Una de las variables que no fueron contempladas fue la producción de metabolitos intermediarios posiblemente inhibitorios en el proceso de biodegradación de fenol, lo cual pudo influir en este proceso al disminuir considerablemente su rendimiento.

“En el ambiente las bacterias pueden eliminar rápidamente el fenol. Generalmente es eliminado en aire (1 – 2 días), agua (9 días) y suelo (2 – 5 días) de forma lenta”<sup>61</sup>.

Existen varias cepas microbianas capaces de degradar fenol, pues tienen capacidad metabólica de usar este compuesto como sustrato para su crecimiento, entre ellas podemos nombrar a *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*<sup>62</sup>, *Acinetobacter*, *Trichosporon cutaneum*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus elinivoi*<sup>63</sup>, *Bacillus brevis*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus erythropolis*, entre otras<sup>64</sup>.

“También han sido reportadas cepas de hongos con actividad para biodegradar fenol. Actinomicetes, *Nocardia hydrocarbonoxydans*, han presentado características de eficiente degradación de fenol, ser resistentes a la contaminación y tener nivel de concentración inhibitorio más alto, en comparación con muchas especies microbianas degradadoras de fenol”<sup>65</sup>.

Muchos de los cultivos analizados son capaces de degradar fenol en bajas concentraciones. Sin embargo, el fenol es tóxico para muchos tipos de microorganismos en altas concentraciones y puede ser un inhibidor para su

---

<sup>61</sup> Busca, G., Berardinelli, S., Resini, C. & Arrighi, L. (2008). Review Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments. *Journal of Hazardous Materials*. 160.265-288.

<sup>62</sup> Arutchelvan, V., Kanakasabai, V., Elangovan, R., Nagarajan, S. & Muralikrishnan, V. (2006). Kinetics of high strength phenol degradation using *Bacillus brevis*. *Journal of Hazardous Materials*. B129. 216-222.

<sup>63</sup> Agarry, S. & Solomon, B. (2008). Kinetics of batch microbial degradation of phenols by indigenous *Pseudomonas fluorescence*. *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 5(2). 223-232.

<sup>64</sup> Cordova, S., Dams, R., Cordova, E., Radetski, M., Corrêa, A., & Radetski, C. (2009). Remediation of phenol-contaminated soil by a bacterial consortium and *Acinetobacter calcoaceticus* isolated from an industrial wastewater treatment plant. *Journal of Hazardous Materials*. 164. 61-66.

<sup>65</sup> Op cit. Busca, et al, p. 265-288.

crecimiento. Por lo tanto, para obtener mejores resultados, la concentración de fenol necesita ser mantenida bajo los límites de toxicidad y se requiere de una aclimatación de los organismos en el ambiente de agua residual<sup>66</sup>.

En algunos estudios se ha optado por tratar el fenol con cultivos puros de microorganismos para su degradación; uno de estos estudios es el reportado por Komarkova *et al.*,<sup>67</sup> quienes utilizaron una cepa de *Candida tropicalis* C<sub>12</sub> aislada de los lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales industriales. Se utilizó un biorreactor a escala con capacidad de 1.5 l, con alimentación tipo fed batch; el pH de trabajo del reactor fue de 5.2 y la concentración de fenol utilizada fue de 100 mg l<sup>-1</sup>. Los resultados obtenidos en este estudio muestran el comportamiento de los microorganismos durante la degradación del fenol. La enzima fenol hidroxilasa es la que se encarga de iniciar la degradación; cuando la actividad de la enzima decae, los microorganismos, en un segundo paso, utilizan sus materiales de reserva para completar la oxidación del fenol a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. Otra observación que este estudio arroja es que bajo condiciones de estrés nutricional, es decir con bajas concentraciones de nutrientes o en un medio limitante, las células producen metabolitos extracelulares, los cuales pueden inhibir el proceso de respiración. En consecuencia, la actividad de la enzima encargada de iniciar el proceso de degradación decae, con lo que disminuye la velocidad de degradación del fenol y muere una parte de la población microbiana.

En el estudio realizado por Léonar *et al.*,<sup>68</sup> se utilizó una cepa bacteriana de *Ralstonia eutropha* para la biodegradación de fenol, así como 3 tipos de cultivo (fed batch, batch y quimiostato). El cultivo en fed batch fue automatizado y monitoreado en línea mediante el acoplamiento de un computadora personal,

---

<sup>66</sup> Ibit. p 265-268

<sup>67</sup> Komarkova E., Klápkova E., Stiborova M., Scow C.R. y Sobotka M. Physiological changes of *Candida tropicalis* population phenol in fed reactor, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 12.

<sup>68</sup> Léonar D., Ben Youssef C., Destruhaut C., Lindley N.D. y Queinnec I. Penol degradation by *Ralstonia eutropha*: colorimetric determination of 2-hydroxyacetyl semialdehyde accumulation to control feed-batch fermentations, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 12.

bombas peristálticas para controlar el llenado y vaciado de los reactores, unidades de filtración, control de agitación, pH, temperatura y oxígeno disuelto, además de un espectrofotómetro encargado de monitorear en tiempo real un metabolito intermediario de la degradación del fenol, el semialdehído 2-hidroximucónico (2-hmas). Como resultado, se modeló el comportamiento del intermediario inhibitorio 2-hmas, y se consiguió una alta carga de fenol biodegradado ( $9.3 \text{ Kg. de fenol.m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Sin embargo, el modelo presentado en este estudio tiene la desventaja de considerar un cultivo puro, cuyo desempeño difícilmente puede ser extrapolado a sistemas de tratamiento a mayor escala, como por ejemplo a una planta de tratamiento de aguas residuales industriales. La presencia de otros microorganismos, ubicuos en las aguas residuales, modificaría el comportamiento del proceso predicho por el modelo.

Es claro que el estudio con cepas puras han demostrado que se puede limitar la acción microbiana “debido a la presencia de diferentes contaminantes en las aguas residuales”<sup>69</sup>.

De otra parte, “la aplicación de consorcios microbianos para procesos de biorremediación tiene ventajas con respecto a los cultivos puros”<sup>70</sup>. “Se puede aumentar la tasa de degradación de fenol”<sup>71</sup> “ y “permitir que el consorcio supere limitaciones para la completa biodegradación de este tipo de compuestos tóxicos”<sup>72</sup>.

**1.4.1 Biodegradación del fenol.** La eficiencia en la biodegradación de compuestos está directamente relacionada con el tamaño de la población de microorganismos especializados en la utilización de dichos compuestos como fuente de carbono en sus procesos metabólicos, es por esto que las fases de

---

<sup>69</sup> Ibit. p 265-268

<sup>70</sup> Ambujom, S. (2001). Studies on composition and stability of a large membered bacterial consortium degrading phenol. *Microbiol. Res.* 156. 293-301.

<sup>71</sup> Ambujom, S. & Manilal, V. (1995). Phenol degradation by a stable aerobic consortium and its bacterial isolates. *Biotechnology letters.* 17(4). 443-448.

<sup>72</sup> Op cit. Ambujom, S. p 293-301

crecimiento bacteriano tienen especial relevancia en este proceso y se describe a continuación:

- **Fases del crecimiento bacteriano.** La evolución de una población bacteriana en función del tiempo se desarrolla en cuatro fases. La primera región se caracteriza por la baja tasa de reproducción bacteriana y es llamada fase lag la cual es debida a la aclimatación de los microorganismos al sustrato.

Posteriormente viene un periodo de rápido crecimiento, este es conocido como fase log o exponencial, durante la cual la población duplica su tamaño en un intervalo de tiempo llamado tiempo de generación.

Cuando la fase log termina, comienza la fase estacionaria debida a un factor limitante. Los factores típicos que limitan el crecimiento son el agotamiento de los nutrientes esenciales, liberación de material tóxico o inhibitorio y el consumo del oxígeno. Durante la fase estacionaria, el número de células viables sigue siendo prácticamente constante. Luego de la fase estacionaria, las bacterias comienzan a morir, a lo que se conoce como fase de muerte o de lisis celular.

- **Biodegradación del fenol bajo condiciones aerobias.** Los procesos de tratamiento biológico de la materia orgánica se basan en la utilización de ésta como fuente de carbono y/o de energía por parte de ciertos microorganismos. “El estudio de la biodegradación de compuestos fenólicos por vía aerobia ha demostrado que existe una ruta metabólica común para este tipo de compuestos y aun para aquéllos no tan cercanos a la familia de los compuestos fenólicos, como son los bifenilos”.<sup>73</sup> En esta etapa se consume oxígeno y por acción de la enzima fenol monooxigenasa se adiciona un grupo –OH al anillo fenólico, dando como resultado la formación de catecol. El anillo del catecol puede ser roto de dos

---

<sup>73</sup> Auternrieth R.L., Bonner J.S., Akgerman A., Okaygun M. y McCreary E.M. Biodegradation of phenolic wastes, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 14.

maneras distintas; es decir, existen dos rutas metabólicas de biodegradación posibles, la ruta orto y la ruta meta.

“En la vía metabólica *meta*-rompimiento de degradación de fenol inicia con oxidación, en la que el anillo aromático es inicialmente monohidroxilado por una fenol monoxigenasahidroxilasa en una posición *orto*, para la preexistencia del grupo hidroxilo y de esta manera formar catecol. Este es el principal intermediario que resulta del metabolismo del fenol por diferentes cepas de microorganismos <sup>74</sup>.”

“Dependiendo del tipo de cepa, el catecol sufre después un fraccionamiento del anillo, el cual puede suceder en la posición *orto* o *meta*, y de esta manera iniciar la vía metabólica *orto*, que termina en la formación de succinil Co-A y acetyl Co-A, o en la posición *meta* que termina en la formación de piruvato y acetaldehído, respectivamente”<sup>75</sup>, esto se muestra en la Figura 5.

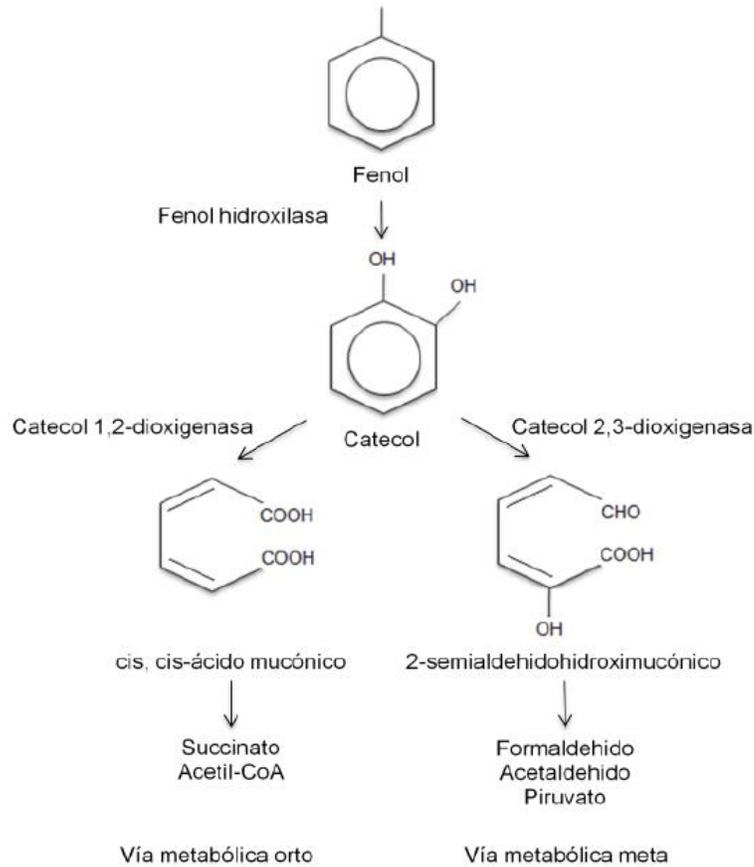
En lo que respecta a la vía orto, ésta es realizada por diversas bacterias, levaduras y hongos (Harwood y Parales, 1996). Sin embargo, a pesar de su amplia distribución taxonómica, sólo se le ha identificado en microorganismos del suelo, particularmente en grupos bacterianos asociados a plantas. Frecuentemente concurre en bacterias que presentan la vía meta codificada en plásmidos. Asimismo, existen variantes de esta ruta en las especies que degradan compuestos aromáticos clorados (Ramírez, 2005).

---

<sup>74</sup> Op cit Agarry. 223-232.

<sup>75</sup> Tziotziou, G., Teliou, M., Kaltsouni, V., Lyberatos, G. & Vayenas, D. (2005). Biological phenol removal using suspended growth and packed bed reactors. *Biochemical Engineering Journal*. 26. 65-71.

Figura 4. Vía metabólica para la biodegradación de fenol en condiciones aerobias



Fuente: Bajaj, M., Gallert, C., & Winter, J. (2008b).

**1.4.2 Productos empleados comercialmente para de biodegradación de Fenol.** El Instituto Colombiano de Petróleos (ICP) ha desarrollado un consorcio bacteriano reconocido con el nombre de Fenobiol, el cual ha demostrado altas eficiencias en la degradación de fenol, siendo sus principales características las siguientes:

- Fenobiol es una combinación de cepas microbianas preseleccionadas, no modificadas genéticamente, con gran capacidad para la degradación de hidrocarburos dispersos en tierra y aguas, las cuales han sido absorbidas sobre un soporte inerte. Fenobiol viene listo para su uso junto con el suplemento balanceado de nutrientes ECOBIOL-NUT.
- Su formulación es altamente concentrada en microorganismos adaptados y nutrientes químicos, inoculado en suelo o agua mejora la velocidad de remediación en áreas contaminadas con desechos petroquímicos, en las cuales un proceso natural toma mucho tiempo. El

tratamiento de remediación con Fenobiol genera productos no dañinos y sin riesgo al medio ambiente, no es tóxico, no es corrosivo ni inflamable<sup>76</sup>.

Las características del producto y sus condiciones de aplicación, se exponen en las tablas 4 y 5 respectivamente.

Tabla 4. Características del Producto.

<b>Característica</b>	<b>Descripción</b>
Composición	Cultivos bacterianos viables sobre soporte vegetal granular.
Concentración	2 billones de UFC/g
Apariencia	Polvo marrón de textura fina
Olor	Orgánico
pH	Neutro
Tiempo de vida	De 3 a 6 meses de almacenamiento en lugar fresco y seco
Presentación	Sólido (bulto)

Fuente: Instituto Colombiano de Petróleos (ICP) 2012

Tabla 5. Condiciones de aplicación

<b>Condición</b>	<b>Rango</b>	<b>Óptimo</b>
pH	6 - 9	7
Temperatura en °C	10 - 40	35
Oxígeno disuelto (ppm)	0,5 - 2	1

Fuente: Instituto Colombiano de Petróleos (ICP) 2012

**1.4.3 Experiencias exitosas en biodegradación aerobia de fenol.** Grosso *et al.*<sup>77</sup>, lograron eliminar más del 95% del fenol contenido en aguas de deshidratación de emulsiones inversas de hidrocarburos pesados, aguas de producción, aguas agrias y residuales de la refinería de Barrancabermeja (Colombia), en períodos de tiempo que no superaron las 24 h, trabajando en biorreactores aerobios por carga, semicontinuos y continuos a escala de laboratorio y piloto. Estos investigadores indican que la concentración inicial y el tipo de fenol tienen gran influencia sobre la eficiencia de biodegradación, ya que cuando las concentraciones son elevadas ( $> 437 \text{ mg.l}^{-1}$ ), los fenoles son reducidos

<sup>76</sup> Folleto comercial FENOBIOL. ICP 2012

<sup>77</sup>Grosso J., Díaz M., León G. Biodegradación en aguas residuales de la industria petrolera. Ciencia, Tecnología y Futuro. 1(1), 5-15, 1995.

rápidamente, mientras que a concentraciones bajas y en presencia de fenoles sustituidos, el proceso se hace más lento. También indican que 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.

Díaz A. *et al.*<sup>78</sup>, concluyen que las aguas de producción petroleras con concentraciones de fenoles totales entre  $1,40 \pm 0,27$  y  $19,36 \pm 2,02$  mg.l<sup>-1</sup>, pueden ser tratadas satisfactoriamente utilizando reactores biológicos del tipo RBS, pudiéndose obtener valores de degradación entre 82,8-96,8%. Sin embargo, es importante considerar el tipo de fenoles presentes en el efluente ya que el proceso se hace más lento cuando existen compuestos fenólicos complejos.

Así mismo, los mismos autores afirman que la eficiencia de la remoción de fenoles totales en los reactores RBS fue: APPL > APPM > APPP. Este comportamiento supone la presencia de compuestos fenólicos diferentes en los distintos tipos de aguas de producción, con variada resistencia a la degradación y metabolismo microbianos (aeróbico). Encontrando que el sistema de tratamiento aeróbico (reactores RBS) mostró ser efectivo para la remoción de la materia orgánica presente en las aguas de producción petroleras, considerando las condiciones operacionales descritas en este estudio.

Los tratamientos por vía biológica aparecen como una alternativa para el tratamiento de las aguas de producción. Los primeros estudios concernientes al tratamiento anaerobio de los efluentes de la industria química y petroquímica datan del comienzo de los años 70 y numerosos trabajos han sido publicados sobre la biodegradabilidad de diferentes compuestos presentes en la industria química y petroquímica<sup>79</sup>.

---

<sup>78</sup>DÍAZ A., RINCÓN N., MARÍN J., FERNÁNDEZ N. Degradación de fenoles totales mediante reactores SBR en aguas de producción petroleras. Universidad del Zulia Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Civil. Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Venezuela. 2003. p 6.

<sup>79</sup> Macarie, H., (2000) Overview of the application of anaerobic treatment to chemical and petrochemical wastewaters, *Water Sci. Tech.*, vol. 42, 5-6, 201-213.

En Venezuela se han realizado trabajos de investigación para el tratamiento de aguas de producción a escala de laboratorio utilizando tanto reactores anaerobios como aerobios, en donde según Díaz<sup>80</sup> se ha encontrado que en la mayoría de las veces, cuando se utiliza el proceso anaerobio solo, se requiere de un tratamiento posterior para la remoción de residuos orgánicos remanentes; haciéndose necesario el estudio de la alternativa del tratamiento aeróbico como sistema de pulimento de estas aguas de producción, luego del tratamiento anaerobio, con el fin de reducir las concentraciones de los mismos a los niveles permisibles de descargas a cuerpos de aguas.

“El tratamiento combinado anaerobio-aerobio es efectivo para reducir las concentraciones de DQO, Hidrocarburos Totales y Fenoles. Los porcentajes de remoción en el proceso global fueron mayores que la de los procesos anaerobio y aerobio por separado”<sup>81</sup>.

El tratamiento combinado anaerobio-aerobio reduce las concentraciones de DQO, Hidrocarburos Totales y fenoles a los límites permisibles de descargas a cuerpos de agua (Norma venezolana: DQO < 350 mg.l<sup>-1</sup>, Hidrocarburos totales < 20 mg.l<sup>-1</sup>, Fenoles < 0,50 mg.l<sup>-1</sup> Aceites y Grasas < 20 mg.l<sup>-1</sup>), a excepción de los aceites y las grasas que no cumplen con la norma. Por lo tanto, la combinación anaerobio-aerobio puede ser considerada una alternativa viable para el tratamiento biológico de las aguas de producción petrolera. Se recomienda utilizar un tratamiento adicional para remover los aceites y grasas que el sistema biológico no puede eliminar, además de la realización del estudio piloto para la alternativa de tratamiento<sup>82</sup>.

Ketchum<sup>83</sup> utilizó un RBS para tratar agua residual municipal, adaptándolo para maximizar la remoción de materia orgánica, sólidos suspendidos y nitrógeno. Después de un ciclo de 12 horas la concentración de DBO<sub>5</sub>, SST y N amoniacal

---

<sup>80</sup>Díaz Altamira (2003) Procédés copules- pré ozonation et traitement biologique aérobic en réacteur SBR- pour le traitement des eaux de production de l'extraction pétrolière. Thèse de Doctorat, Institut National des sciences appliquées de Toulouse (INSA), octobre 2003, n° d'ordre 701 pp. 1-189.

<sup>81</sup> RINCON N., BEHLING E., DÍAZ A. combinación de tratamientos anaerobio-aerobio de aguas de producción provenientes de la industria petrolera venezolana. Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (DISA), Escuela de Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería, La Universidad del Zulia. Venezuela. p 8.

<sup>82</sup> Ibit. p 8

<sup>83</sup> Ketchum L.H. Desing and physical features of batch reactors. Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 23.

presentó una disminución del 98, 90 y 89%, respectivamente, demostrando su alta eficiencia.

Mace y Mata<sup>84</sup>, manifiestan que en estudios recientes, algunos autores han tratado mezclas de lodos contaminados con diésel en reactores RBS, optimizando las condiciones de operación como son la concentración de SST, tiempo de retención, mezclado, etc. La tecnología de los reactores RBS también ha sido usada para la degradación de compuestos tóxicos, como en el tratamiento de aguas residuales que contienen compuestos fenólicos y BTX (benceno, tolueno y xileno) o TNT (trinitrotolueno) y RDX (Royal Demolition Explosive, 1,3,5 – trinitro -1,3,5 - triazina), nitroglicerina y residuos peligrosos.

## 1.5 REACTORES BIOLÓGICOS SECUENCIALES (RBS)

El objetivo del tratamiento de aguas residuales es la protección de la calidad de las aguas receptoras y el cumplimiento de la legislación aplicable para la mezcla resultante. Esto se logra reduciendo la DBO<sub>5</sub>, DQO, SST, nitrógeno, fósforo y los coliformes totales, entre otros parámetros. En la actualidad, existen diferentes configuraciones de plantas de tratamiento de efluentes por lodos activados, cada una con ventajas y desventajas bien definidas. “Los sistemas de tratamiento de aguas residuales más utilizados se dividen en dos grandes grupos, los sistemas de tratamiento continuo y los discontinuos”<sup>85</sup>.

Un reactor es un proceso secuencial de biomasa suspendida en el cual todas las etapas del tratamiento ocurren en el mismo tanque. Los procesos biológicos que utilizan reactores discontinuos de alimentación secuenciada son procesos que

---

<sup>84</sup> Mace S. y Mata A. J. Utilization of SBR technology for wastewater treatment: an overview, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 24.

<sup>85</sup> Bretti-Mandarano J.F. Sistema de tratamiento SBR, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 23.

contienen cultivos microbianos mixtos en suspensión, por lo que se denominan como procesos de lodos activados. Sin embargo, a diferencia del proceso de lodos activados clásico, el cual está orientado en relación al espacio, el proceso RBS se orienta respecto al tiempo, ya que tanto el flujo de influente como el volumen del reactor son variables, siguiendo una estrategia de funcionamiento previamente establecida.<sup>86</sup>

En su forma más simple, un sistema RBS está constituido por un recipiente que se llena con el agua residual durante un cierto período de tiempo el cual posteriormente funciona como un reactor discontinuo. Después del tratamiento requerido, la suspensión se decanta y el sobrenadante se elimina del recipiente. El ciclo de un sistema RBS se divide en cuatro períodos o fases: llenado, aireación o reacción, sedimentación y extracción o vaciado. La duración de cada una de las fases se determina con base en las características del agua residual a tratar y a los requerimientos de depuración del efluente.<sup>87</sup>

Durante cualquiera de las fases pueden llevarse a cabo varias funciones, dependiendo de los objetivos del tratamiento. Por ejemplo, y según Ketchum<sup>88</sup> en función de estos objetivos, el llenado puede ser estático, con agitación o aireado. El llenado estático produce una concentración de sustrato muy elevada al final de la etapa, mientras que el llenado con agitación, en presencia de nitratos, induce la desnitrificación y la subsecuente reducción de la demanda de oxígeno, así como las condiciones anóxicas o anaerobias necesarias para la remoción biológica del fósforo. Por último, el llenado aireado conlleva el inicio de las reacciones aerobias y una reducción del tiempo del ciclo y de la concentración del sustrato, la cual puede ser significativa en el tratamiento de compuestos biodegradables pero

---

<sup>86</sup> Buitrón G. Biodegradación de compuestos xénobiotiques par un procédé de type SBR. Tesis Doctoral, Institut National de Sciences Appliquées de Toulouse. Francia. 1993

<sup>87</sup> Ramírez C.I. Biodegradación de compuestos fenólicos en un reactor discontinuo de alimentación secuencial. Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 23.

<sup>88</sup> Ketchum L.H. Design and physical features of sequencing batch reactor, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 24.

tóxicos a altas concentraciones. Igualmente, en un sistema aerobio, la fase de reacción puede ser con agitación o con aireación.

En relación con lo propuesto por Ruíz *et al.*<sup>89</sup>, los ciclos de funcionamiento de un reactor RBS deben ser lo más frecuentes posible, siempre que cada fase se lleve a cabo según los requerimientos de depuración. Sin duda, una duración de la fase de reacción basada en el tiempo de degradación de la materia orgánica minimiza el tiempo necesario para completar el ciclo. Sin embargo, si durante la fase de reacción no está previsto un cierto período de carencia nutricional y por consiguiente de respiración endógena, la posibilidad de ocurrencia de bulking puede incrementarse<sup>90</sup>, al igual que el rendimiento de producción de biomasa. El modelado y posterior automatización de un proceso RBS permite encontrar la estrategia óptima de operación que cumpla con el doble objetivo de minimizar los tiempos de llenado y reacción y de maximizar la eficiencia del proceso. La posibilidad de controlar la concentración del contaminante dentro del reactor convierte a los procesos RBS en una alternativa interesante para el tratamiento de moléculas xenobióticas que, siendo biodegradables, por su toxicidad pueden impedir que dicha transformación se lleve a cabo.

## 1.6 ASPECTOS LEGALES

Debido a los problemas que ocasiona el fenol, tanto al hombre como a los diferentes ecosistemas, se han establecido diferentes normas, leyes y reglamentos sobre su uso, así como sobre el manejo y disposición de los residuos que lo contengan.

---

<sup>89</sup> Ruiz C., Torrijos M., Sousbie P., Lebrato-Martínez J. y Moletta R. The anaerobic SBR process: basic principles for desing and automation, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 24.

<sup>90</sup> Chiesa S.C., Irvine R.L. y Manning J.F. Fesast/famine growth environments and activate sludge population selection, Citado por GARCÍA J. Biodegradación del fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo México. 2007. P 24.

En el ámbito internacional, la EPA ha establecido una concentración límite de 1 mg.l<sup>-1</sup> para el agua potable de consumo diario; en el ámbito de protección a la vida acuática, el criterio de calidad es de 3.5 mg.l<sup>-1</sup>.<sup>91</sup>

Según el decreto 3930 de 2010 por el cual se reglamentan los usos del agua y residuos líquidos en Colombia, los límites máximos permisibles de descarga de fenol a diferentes cuerpos receptores de agua se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Límite máximo permisible de vertimiento de fenoles en fuentes hídricas.

Cuerpo receptor	Parámetro	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aguas de consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieren tratamiento convencional	Compuestos fenólicos	Fenol	mg.l <sup>-1</sup>	0.002
Aguas de consumo humano y uso doméstico que únicamente requieran desinfección	Compuestos fenólicos	Fenol	mg.l <sup>-1</sup>	0.002
Criterios de Calidad admisibles para lapreservación de flora y fauna en:	Agua fría dulce	Fenoles	mg.l <sup>-1</sup>	0.001
	Agua cálida dulce	Fenoles	mg.l <sup>-1</sup>	0.001
	Agua marina y de estuario	Fenoles	mg.l <sup>-1</sup>	0.001
Aguas subterráneas, considerando un suelo con contenido de arcilla entre (0-25,0) % y de materia orgánica entre (0 - 10,0)%.	Fenol	--	µg.l <sup>-1</sup>	1000
Aguas destinadas para fines recreativos	Compuestos fenólicos	Fenol	mg.l <sup>-1</sup>	0.002
Sistema de alcantarillado público	Compuestos fenólicos	Fenol	mg.l <sup>-1</sup>	0.200
Cuerpo de agua dulce	Compuestos fenólicos	Fenol	mg.l <sup>-1</sup>	0.200
Cuerpo de agua marina	Compuestos fenólicos	Fenol	mg.l <sup>-1</sup>	0.200

Por otro lado, en Italia, la Unión Europea acuerda que el límite de fenoles en agua potable y mineral es de 0.5 µg.L<sup>-1</sup>. El límite de emisiones de fenol en agua residual son de 0.5 mg.l<sup>-1</sup> para aguas de superficie y 1 mg.l<sup>-1</sup> para sistemas de alcantarillado.

<sup>91</sup> Op cit. ATSDR, 1998. P 127 – 133.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1 LOCALIZACIÓN

Las muestras de agua se tomaron del tanque de almacenamiento de crudo del CEC, localizado en la cuenca del valle medio del Magdalena, vereda el Colorado, corregimiento de Yarima, municipio San Vicente de Chucurí. Los análisis de laboratorio y el montaje experimental de cada RBS se realizaron en el Laboratorio Químico de Consultas Industriales de la UIS.

Figura 5. Ubicación geográfica del Campo escuela Colorado.



Fuente: Proyecto Campo Escuela, Convenio UIS – ECOPETROL S.A.

### 2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

**2.2.1 Selección de las muestras.** Las muestras de agua de producción petrolera se colectaron en los dos tanques de almacenamiento de crudo, del CEC, teniendo en cuenta que es en este sitio se encuentran los desemulsificadores, que permitieron separar en un alto porcentaje el agua del aceite. La muestra se tomó totalmente al azar.

**2.2.2 Toma de muestras de agua de producción.** Se colectaron aguas de producción de petróleo liviano (31,1 – 39,0 °API) en cuatro envases plásticos de 5L/cu, las que se transportaron al laboratorio, donde se mantuvieron 4 - 6 °C hasta su análisis inicial y el montaje de los RBS. Esta recolección se ejecutó siguiendo el siguiente protocolo:

Se dejaron salir los primeros 250 ml de emulsión evitando la posible contaminación de la muestra en el tubo. El producto que se obtuvo se caracterizó por ser una emulsión agua-hidrocarburo, que posteriormente se separó en el laboratorio.

Se colectó el agua de formación en envases de 5L de polietileno de alta densidad y se cerraron inmediatamente después del muestreo. Los recipientes se llenaron hasta el tope y colocó un tapón de goma para evitar cualquier tipo de fuga y minimizar el contacto de oxígeno con el agua.

**2.2.3 Inóculo microbiano.** El inóculo microbiano empleado ha sido desarrollado por el Instituto Colombiano de Petróleos (ICP), el que se constituye por una combinación de cepas microbianas preseleccionadas, no modificadas genéticamente, con gran capacidad para la degradación de hidrocarburos dispersos en tierra y aguas, conocidos con el nombre de Fenobiol.

Su formulación es altamente concentrada en microorganismos adaptados y nutrientes químicos. El tratamiento de remediación con Fenobiol genera productos no dañinos y sin riesgo al medio ambiente, no es tóxico, no es corrosivo ni inflamable.

La presentación del Fenobiol es en polvo e incorpora un suplemento balanceado de nutrientes (Ecobiol-nut), que garantiza una adecuada disponibilidad de

nutrientes para el desarrollo de las actividades metabólicas de los microorganismos.

**2.2.4 Descripción de las condiciones de estudio.** Las muestras se depositaron en doce Reactores Biológicos Secuenciales (RBS), todos en vidrio y de forma cilíndrica (vaso de precipitado), con una capacidad de 1 litro y un volumen de operación de 800 ml. Las muestras se asignaron en cuatro grupos de la siguiente forma:

- Grupo Experimental 1: Tres RBS inoculados con 240 ml de licor mezcla (Fenobiol 10% diluido en agua destilada 90%) y 560 ml de efluente (agua de producción).
- Grupo Experimental 2: Tres RBS inoculados con 240 ml de licor mezcla (Fenobiol 25% diluido en agua destilada 75%) y 560 ml de efluente (agua de producción).
- Grupo Experimental 3: Tres RBS inoculados con 240 ml de licor mezcla (Fenobiol 50% diluido en agua destilada 50%) y 560 ml de efluente (agua de producción).
- Grupo Control: Tres RBS con 800 ml de efluente (agua de producción).

El ciclo de operación de los reactores fué de 24 horas, en relación con lo propuesto por Busca *et al.*, 2008.

En síntesis, se propusieron tres tratamientos con diferentes concentraciones del licor mezcla (Fenobiol – agua destilada), en cada uno de ellos se desarrollaron 3 réplicas, manteniendo como control una muestra de agua de producción del CEC, la que se le mantuvo las mismas constantes de operación descritas en la tabla 7, entretanto, la tabla 8, expone la síntesis del diseño experimental.

Tabla 7. Constantes de operación del sistema

Parámetro	Unidad	Rango
Volumen del reactor RBS	ml	1.000
Volumen efectivo del reactor RBS	ml	800
Licor mezcla (Ecobiol – agua destilada)	ml	240
Efluente (agua de producción)	ml	560
Nivel de expansión	%	20 - 23
Tiempo de permanencia hidráulico	Horas	24
Tiempo de agitación	Horas	21
Tiempo de sedimentación	Horas	2
Tiempo para la toma de muestra	Horas	1
Temperatura de operación	°C	22 - 24
Salinidad del agua de producción	ppm	hasta 400.000
Revoluciones por minuto	rpm	100

Fuente: adaptado de Moreno - Andrade y Buitron 2004

Tabla 8. Diseño experimental

Licor mezcla Fenobiol - agua destilada (240 ml)	Reactor	Replicas
Tratamiento 1 10 : 90	RBS1-1	R1
	RBS 1-2	R2
	RBS 1-3	R3
Tratamiento 2 25 : 75	RBS 2-1	R4
	RBS 2-2	R5
	RBS 2-3	R6
Tratamiento 3 50 : 50	RBS 3-1	R7
	RBS 3-2	R8
	RBS 3-3	R9
control	RBS 4-1	R10
	RBS 4-2	R11
	RBS 4-3	R12

**2.2.5 Asignación.** A las muestras se les asignaron las tres condiciones experimentales, al igual que al grupo control, todo mediante aleatorización simple siguiendo el procedimiento descrito por Altman y Bland, 2006. Dado que no se requirió de estratificación de las condiciones, este procedimiento de aleatorización fue suficiente para eliminar sesgos en la asignación de las muestras.

**2.2.6 Medición basal (pretest).** Todos los procesos inherentes a la caracterización de las aguas de producción se ejecutaron en el Laboratorio

Químico de Consultas Industriales de la UIS. Los parámetros objeto de estudio y su método de determinación se desarrollaron siguiendo los lineamientos expuestos por Standard methods for the examination of water and wastewater, sintetizados en tabla 9.

Tabla 9. Variables y métodos de análisis

PARÁMETRO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Alcalinidad total	STANDARD METHODS 2320 B Titulación potenciométrica Ed. 20/1998
pH	STANDARD METHODS 4500 H+ B, Ed. 20/1998
Nitrógeno Total Kjeldahl	STANDARD METHODS 4500-org C, Semi-micro- Kjeldahl- 4500 NH <sub>3</sub> D, Ed. 20/1998
Ortofosfatos	STANDARD METHODS 4500-P E Ed. 20/1998
Fósforo total	STANDARD METHODS 4500 P B, E Ed. 20/1998
Fenoles	STANDARD METHODS 5530 B. Fotometría directa Ed. 20/1998.
Carbono total	STANDARD METHODS 5310 B Método de combustión a alta temperatura Ed. 20/1998.

**2.2.7 Condiciones de operación.** En el desarrollo experimental se mantuvieron como parámetros constantes de operación los recomendados por Andrade y Buitrón<sup>92</sup>, los que se describen en la tabla 7, y los establecidos por el ICP para la adecuada aplicación del Fenobiol (tabla 8). En el fondo de los reactores se ubicaron difusores de aire conectados a un compresor, garantizando una distribución uniforme del oxígeno en el reactor.

Teniendo en cuenta que el Fenobiol, en su presentación comercial incluye el suplemento balanceado de nutrientes ECOBIOL-NUT, en los reactores no se adicionó ningún tipo de fertilización adicional.

<sup>92</sup>MORENO-ANDRADE I., BUITRÓN G. Biodegradación Óptima de Compuestos Fenólicos en un Reactor Discontinuo Secuencial. Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (LIPATA), Instituto de Ingeniería, Unidad Académica-Campus Juriquilla. Universidad Nacional Autónoma de México. 2004. p 49-59

Tabla 10. Condiciones de operación Fenobiol

Condición	Rango	Óptimo
pH	6 - 9	7 ± 0,3
Temperatura en °C	10 - 40	35 ± 0,2
Oxígeno disuelto (ppm)	0,5 - 2	1 ± 0,3

Fuente: Instituto Colombiano de Petróleos (ICP) 2012

**2.2.8 Descripción de la intervención.** Las muestras reposaron por un día a temperatura ambiente en embudos de separación de 1 L, obteniendo así una eficiente distribución de fases. Una vez realizada la separación, se llevó el agua de producción petrolera a cada uno de los RBS, siguiendo los siguientes pasos:

- **Llenado.** El líquido tratado se suministró en forma uniforme, estableciendo un buen contacto con los microorganismos. Este período finalizó cuando se alcanzó el volumen de operación (800 ml). El proceso de aireación y agitación comenzó en este período.
- **Aireación o reacción.** En este período se produjeron todas las reacciones metabólicas. La duración de esta fase fue de 21 horas. El proceso de aireación se desarrolló incluyendo dos difusores de aire en el fondo del reactor, acompañado de un procedimiento de agitación a 100 rpm con un floculador marca VELP SCIENTIFICA, modelo JLT6, con adaptador electrónico, y un floculador Phipps & Badstirrer modelo 7790-400.
- **Sedimentación.** En esta fase se interrumpió la aireación por 30 minutos, (en 4 momentos cada 5 horas con 15 minutos), tiempo en que se preparó la toma de muestras, separando los sólidos por gravedad.
- **Extracción o vaciado.** Luego de pasada la sedimentación se dispuso de 15 minutos para tomar las muestras. Este período se caracterizó por la eliminación del efluente tratado, logrando excluir los sólidos flotantes. La toma de la muestra

se realizó sin perturbar los lodos sedimentados.

**2.2.9 Seguimiento (postest).** El método utilizado es descrito por Woolard e Irvine<sup>93</sup>, conocido como el método colorimétrico de la 4-aminoantipirina. A 2 ml de muestra centrifugada, se adicionaron 0.2 ml de solución de  $K_3Fe(CN)_6$  al 5% (m/v) en glicina 0.1 M. Se agitó y se dejó reaccionar por 5 minutos. Al cabo de este tiempo, se agregaron 2 ml de solución de 4-aminoantipirina al 0.25% (m/v) disuelta en solución tampón de glicina (preparada por disolución de 5.58 g de hidrocloreuro de glicina y de 3.75 g de glicina en 0.91 l de agua destilada, ajustando el pH a 9.7 con una solución de NaOH 6N para un volumen final de 1 l). La mezcla se agitó y se dejó reaccionar durante 20 minutos. La absorbancia a 506 nm se midió en un lapso de 30 minutos. La concentración de fenol de la muestra se obtuvo por comparación con una curva de calibración (0 – 25 mg.l<sup>-1</sup>). El método tiene un límite de detección de 0.0726 mg.l<sup>-1</sup> y un coeficiente de variación promedio de 1.06%.

**2.2.10 Análisis de datos.** Se realizaron tres análisis para determinar los resultados. En primer lugar se compararon las medias pre y postest mediante el Análisis de Varianza para medidas repetidas (ANOVA) estableciendo la significancia del cambio debido al experimento; en segundo lugar, se compararon las medias de la medida de seguimiento mediante el Análisis de Varianza de un factor, para establecer la significancia de las diferencias en los resultados del experimento, por último, se realizó un análisis conjunto mediante el Análisis de Covarianza (ANCOVA) para establecer el efecto total del experimento. Para puntualizar los resultados en función de la efectividad relativa de las condiciones experimentales se obtuvieron comparaciones Post Hoc para los análisis citados.

---

<sup>93</sup> Woolard C.R. e Irvine R.L. Treatment of hypersaline wastewater in the SBR. Water Res. 29 (4): 1159-1168. 1995

### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS DEL AGUA DE PRODUCCIÓN CAMPO ESCUELA COLORADO

Una vez desarrollados los procedimientos propuestos, los resultados de cada uno de los parámetros evaluados permitieron caracterizar las aguas de producción petrolera, provenientes del CEC, bajo los parámetros de interés para el estudio, los cuales se registran en la tabla 11. Resultados que demuestran que dichas no aguas contienen los nutrientes necesarios para soportar el proceso de biodegradación aerobia, así mismo se resalta que estas no cumple con los parámetros mínimos de calidad exigidos por la legislación colombiana, con relación al fenol, para poder ser vertida.

Tabla 11. Caracterización inicial aguas de producción petrolera CEC.

<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>
Salinidad (ppm CaCO <sub>3</sub> )	4,89 ± 0,2
T (° C)	22 ± 0,2
O <sub>2</sub> (mg.l <sup>-1</sup> )	4,46 ± 0,2
pH	7,02 ± 0,2
Alcalinidad Total (ml HCl 0,2942)	1,0 ± 0,2
Nitrógeno total (mg.l <sup>-1</sup> )	22,28 ± 0,2
Ortofosfatos (mg.l <sup>-1</sup> )	29,74 ± 0,2
Fosforo total (ml.l <sup>-1</sup> )	6,32 ± 0,2
Carbono total (ml.l <sup>-1</sup> )	354,5 ± 0,2
Conductividad (mls.cm <sup>-1</sup> )	29 ± 0,2
Solidos totales (g.l <sup>-1</sup> )	0,93 ± 0,2
Fenoles totales (mg.l <sup>-1</sup> )	5,33 ± 0,2

Los resultados evidencian la necesidad de introducir tecnologías apropiadas para tratar este tipo de aguas y así poder lograr posibilidades de tratamiento, reutilización o vertimiento, de tal manera, que se cumplan con los requisitos legales y su disposición en el medio no generen impactos negativos.

Se encontró que la salinidad que contiene el agua de producción del CEC es de 4,89 ppm  $\text{CaCO}_3$ , estando dentro del grado de tolerancia de los microorganismos a utilizar, teniendo en cuenta lo establecido por el ICP.

El oxígeno disuelto presente en las aguas de producción, registró valores de 4,46  $\text{mg.l}^{-1}$ , siendo este suficiente para iniciar el proceso de biodegradación. En cuanto al pH, su valor se estableció en 7,02 situación que no demandó correcciones.

La caracterización permitió constatar la no disponibilidad de nutrientes para el desarrollo adecuado de los microorganismos aerobios en el proceso de biodegradación, teniendo en cuenta lo expuesto por Speece en 1996, en donde se aceptan concentraciones de C : N y P de 500 : 5 : 1, respectivamente, encontrando una relación de 56 : 3,5 : 1., situación que fue corregida teniendo en cuenta que el producto incorpora una dosificación balanceada de estos nutrientes.

En relación con los fenoles totales, se estableció su concentración en 5,33  $\text{mg.l}^{-1}$ , siendo este valor claramente superior al establecido por la norma colombiana, por lo que su tratamiento es indiscutible.

La concentración de fenoles totales encontradas en las Aguas de Producción Petrolera del CEC, son significativamente mayores a las reportadas por Grosso *et al.* (1995) para aguas de producción de la industria colombiana, quienes establecieron concentraciones de fenol entre 0,7 y 2,5  $\text{mg.l}^{-1}$ .

De la misma manera, la concentración de fenol, en las aguas estudiadas supera los reportes presentados por A. Díaz *et al.* (2005) en la industria Venezolana, para el petróleo mediano  $1,40 \pm 0,27$  y pesado  $2,70 \pm 0,04$ , pero significativamente inferior a la del petróleo liviano, las que son reportadas en  $19,36 \pm 2,02$ ; igualmente supera los registrados presentados por Frei re *et al.* (2001), con valores de  $2,70 \pm 0,04 \text{ mg.l}^{-1}$ , en la industria Brasileira.

### 3.2 COMPORTAMIENTO VARIABLES DE CONTROL

Las variables de control del estudio se relacionaron directamente con la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto. En relación con la temperatura, y con apoyo del sistema de aire acondicionado del laboratorio, se mantuvo constante en  $24,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5$  durante la operación de los RBS.

**3.2.1 Oxígeno disuelto (OD).** La concentración inicial de OD, permitió iniciar satisfactoriamente el proceso diseñado en el modelo experimental propuesto.

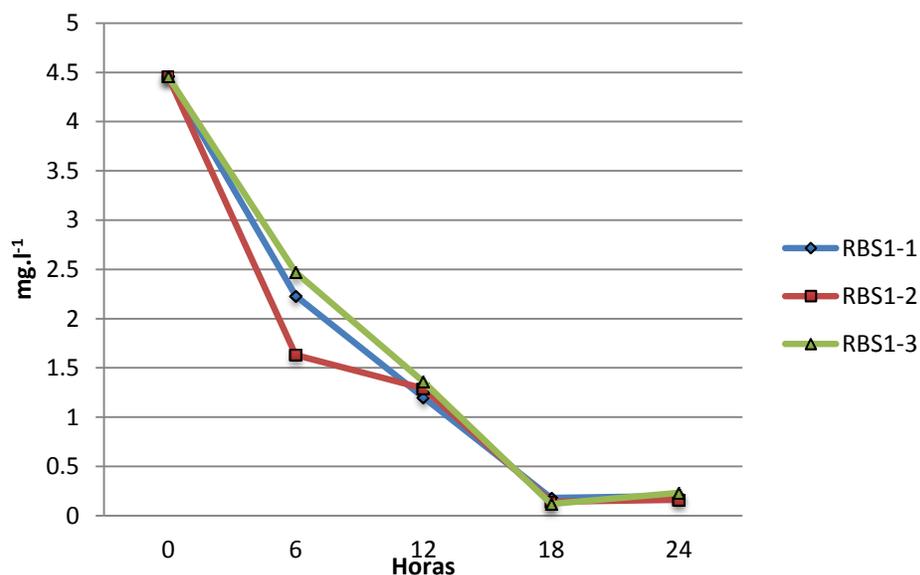
Tabla 12. Valores oxígeno disuelto ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) en proceso de biodegradación aerobia

Reactor	Periodo de operación en horas				
	0	6	12	18	24
RBS1-1	4,46	2,23	1,2	0,18	0,2
RBS1-2	4,46	1,63	1,29	0,14	0,16
RBS1-3	4,46	2,47	1,36	0,12	0,23
RBS2-1	4,46	1,03	0,23	0,12	0,14
RBS2-2	4,46	1,04	0,17	0,10	0,13
RBS2-3	4,46	1,02	0,12	0,12	0,15
RBS3-1	4,46	0,96	0,14	0,11	0,13
RBS3-2	4,46	0,92	0,11	0,11	0,14
RBS3-3	4,46	0,86	0,12	0,11	0,13
RBS4-1	4,46	7,36	7,38	7,46	7,51
RBS4-2	4,46	7,27	7,38	7,17	7,33
RBS4-3	4,46	7,20	7,36	7,05	7,28

El comportamiento del oxígeno disuelto durante el ensayo se representa en la tabla 12., la cual expone claramente el consumo de oxígeno derivado de la actividad metabólica del consorcio microbiano, lo que permite inferir que existió un crecimiento microbiano en cada uno de los reactores.

Observando el comportamiento del oxígeno disuelto en los RBS – 1, (con una concentración del 10% de Fenobiol, según diseño experimental), en cada una de las réplicas se evidencia el consumo de oxígeno, el que se mantiene en condiciones óptimas para la operación del sistema propuesto hasta 18 horas después de iniciar el proceso, momento a partir del cual el oxígeno presenta valores deficitarios, inferiores a  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ .

Figura 6. Comportamiento oxígeno disuelto RBS – 1.



En cuanto a los grupos experimentales identificados como reactores SBR – 2, y SBR – 3, (con sus respectivas replicas), con concentraciones del 25% de Fenobiol y 75% de agua destilada, y del 50% de Fenobiol y 50% de agua destilada, en la conformación del licor mezcla, respectivamente, tan solo mantienen condiciones de operación aceptables durante las primeras 12 horas, periodo en donde el nivel

mínimo de oxígeno llega hasta  $0,13 \text{ mg.l}^{-1}$  siendo este un rango crítico durante el proceso aerobio.

Figura 7. Comportamiento oxígeno disuelto RBS – 2.

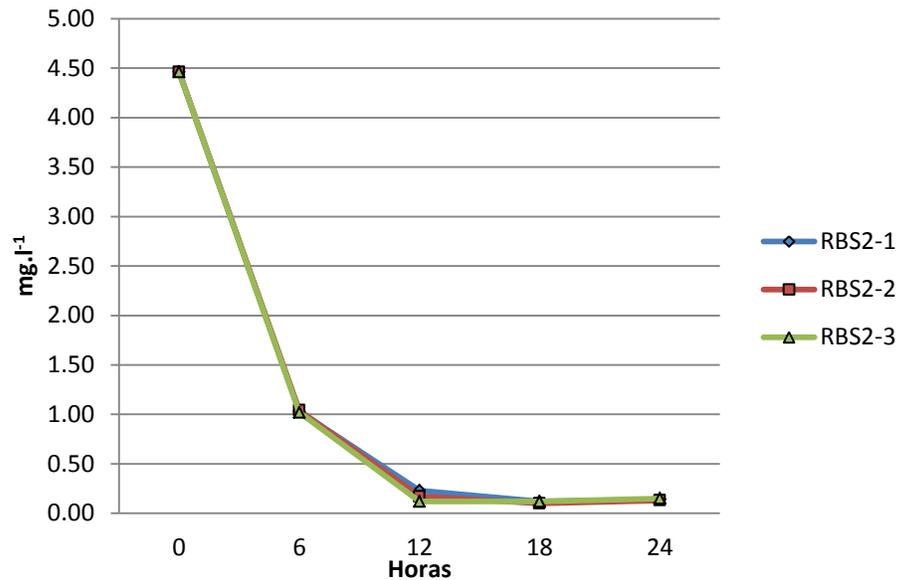
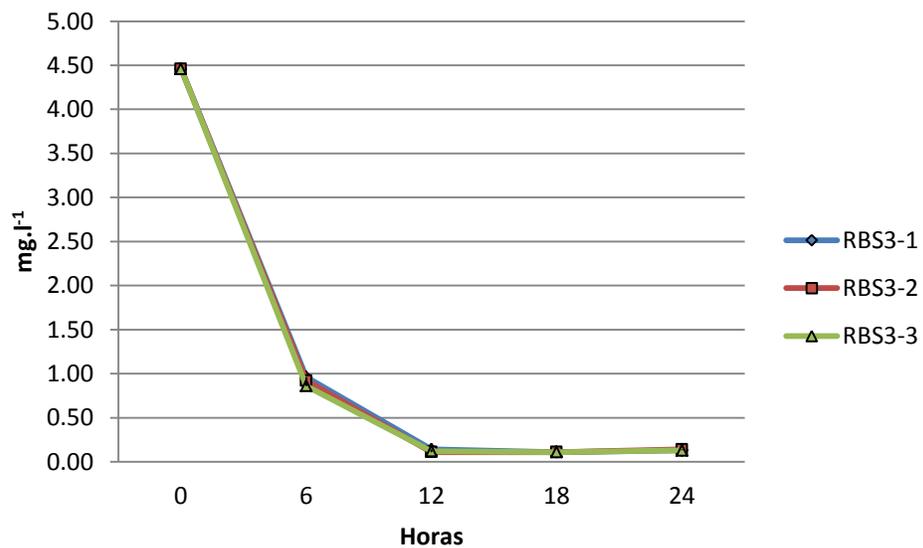


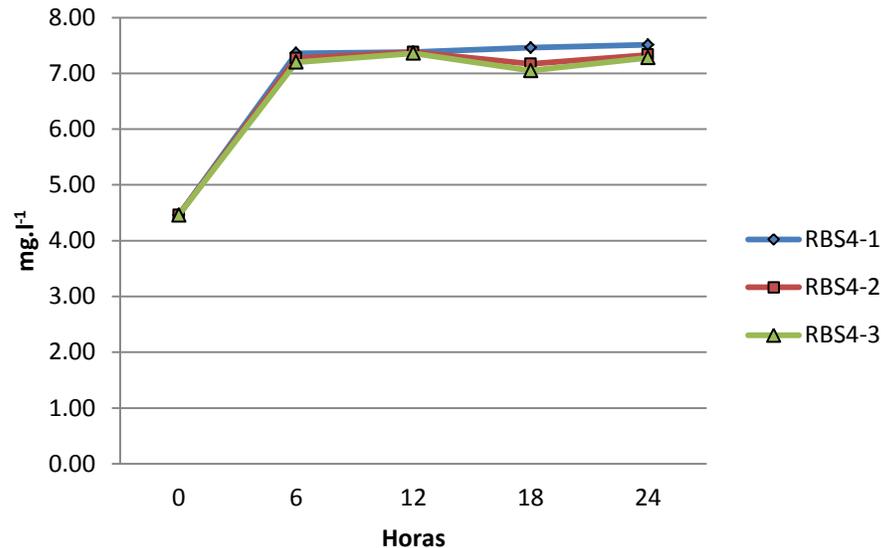
Figura 8. Comportamiento oxígeno disuelto RBS – 3.



Entretanto el grupo de control, conformado exclusivamente por agua de producción e identificado como RBS – 4, y sus respectivas réplicas, evidencian, que el sistema de oxigenación incorporado al sistema, aporta en promedio 2,91

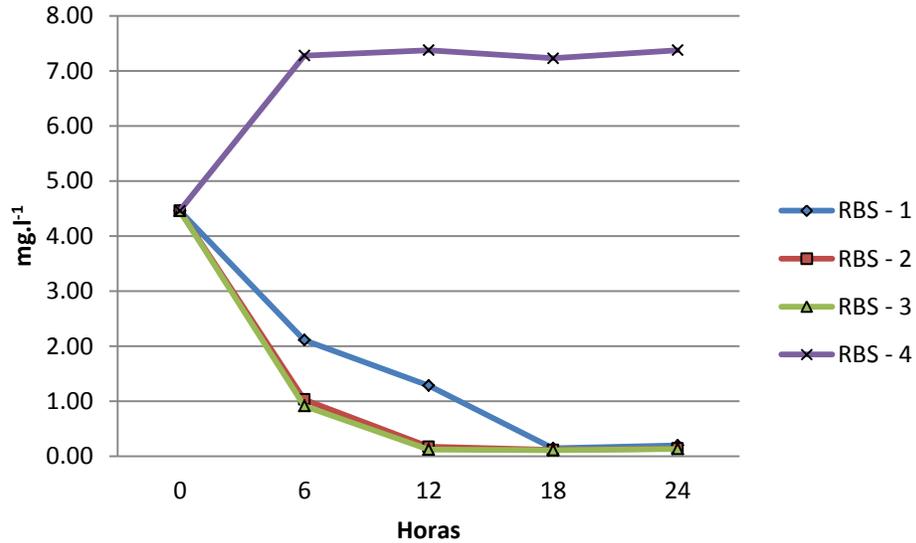
mg.l<sup>-1</sup> de oxígeno disuelto, llevando su concentración a niveles cercanos a la saturación en el grupo de control.

Figura 9. Comportamiento oxígeno disuelto grupo de control RBS – 4.



En síntesis, el comportamiento del oxígeno disuelto en el diseño experimental se representa en la figura 10, en donde se evidencia claramente que la tendencia, en el reactor 1, es favorable durante las 12 primeras horas de reacción, momento en que su concentración sigue descendiendo hasta la hora 18, instante a partir del cual su propensión no registra variaciones significativas con las presentadas por los reactores 2 y 3, en los que su conducta es muy similar entre sí, mostrando déficits a partir de la doceava hora. Entretanto, en el reactor identificado como grupo de control RBS - 4, el OD mantuvo una fuerte tendencia de crecimiento hasta la hora 12, momento a partir del cual su concentración se estabiliza en un rango entre 7,28 y 7,51 mg.l<sup>-1</sup>, confirmando el funcionamiento del sistema de inyección de aire y que su descenso en los reactores 1, 2 y 3, se debe al desarrollo de funciones metabólicas del consorcio microbiano que formo parte del ensayo.

Figura 10. Comportamiento de oxígeno disuelto.



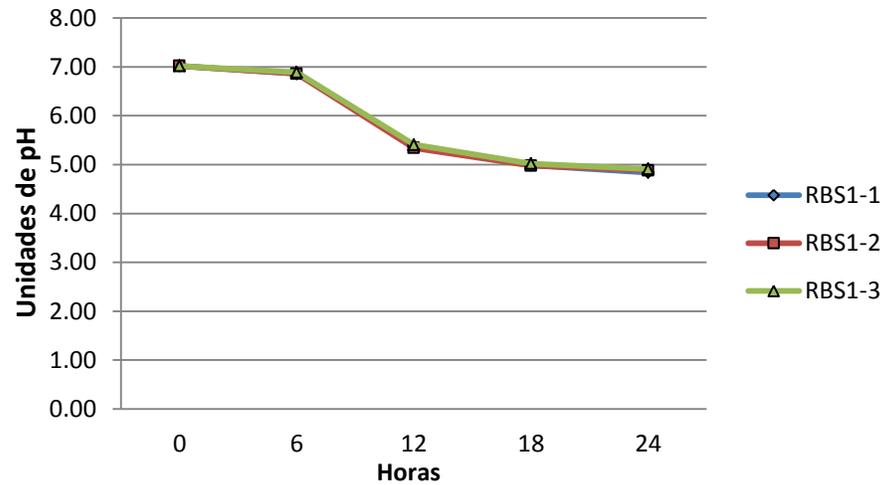
**3.2.2 pH.** Las condiciones de pH de las aguas de producción (7,02) permitieron el inicio del ensayo sin requerir algún tipo de corrección, y su comportamiento se representa en la tabla 13.

Tabla 13. Comportamiento pH

Reactor	Periodo de operación en horas				
	0	6	12	18	24
RBS1-1	7,02	6,86	5,39	4,99	4,84
RBS1-2	7,02	6,86	5,34	4,98	4,88
RBS1-3	7,02	6,89	5,41	5,02	4,91
RBS2-1	7,02	6,45	5,51	4,92	4,93
RBS2-2	7,02	6,45	5,42	5,00	4,94
RBS2-3	7,02	6,42	5,49	4,87	4,82
RBS3-1	7,02	6,21	5,67	5,00	5,02
RBS3-2	7,02	6,25	5,69	4,98	5,03
RBS3-3	7,02	6,26	5,68	5,06	5,05
RBS4-1	7,02	8,17	8,16	8,17	8,15
RBS4-2	7,02	8,16	8,15	8,16	8,16
RBS4-3	7,02	8,14	8,14	8,15	8,15

En los reactores del grupo experimental 1, (figura 11) mostraron un descenso del pH, especialmente a partir de la doceava hora de reacción, en donde este desciende de forma acelerada, llevándolo a concentraciones ácidas.

Figura 11. Comportamiento pH RBS - 1



Las figuras 12 y 13 representan el comportamiento del pH en los grupos experimentales 2 y 3, los que muestran una tendencia de reducción en donde  $R^2$  es superior a 0,9, evidenciando la linealidad de los datos y una diferencia estadísticamente poco significativa. Pasando de niveles neutros a niveles ácidos inferiores a 5.

Figura 12. Comportamiento pH RBS – 2

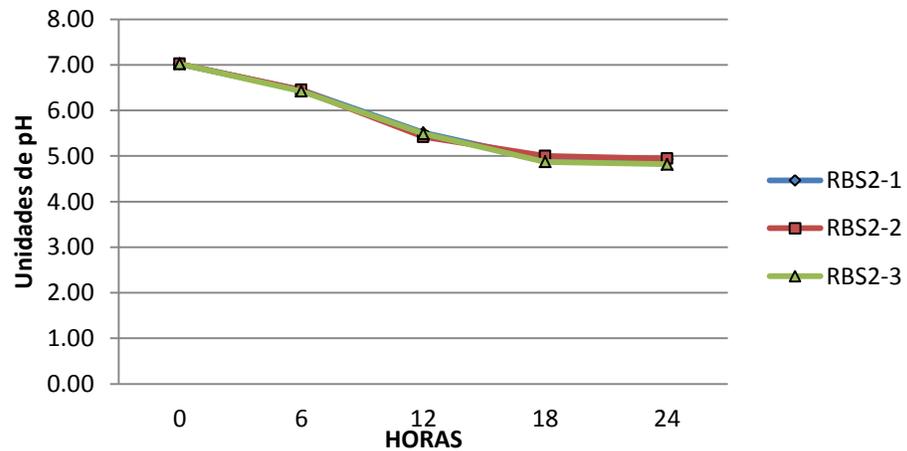
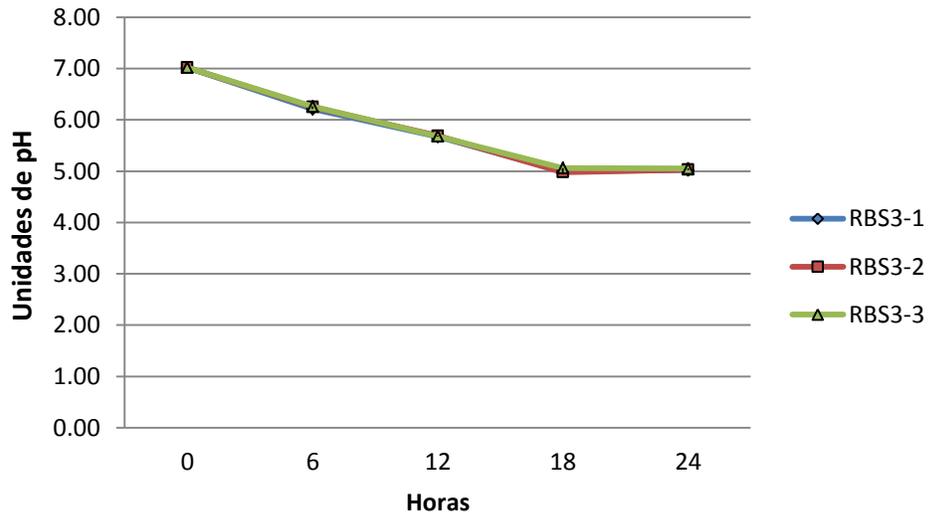
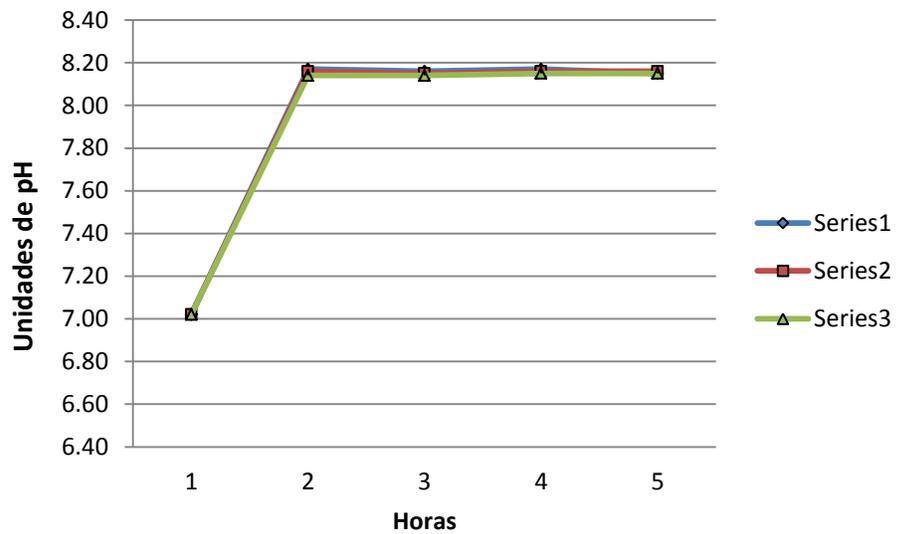


Figura 13. Comportamiento pH RBS – 3



El grupo de control (RBS - 4), a diferencia de los 3 primeros grupos experimentales, registra un incremento en los valores de pH a partir de las 6 horas de reacción, ubicándolos en un pequeño rango entre 8,14 a 8,16.

Figura 14. Comportamiento pH RBS - 4

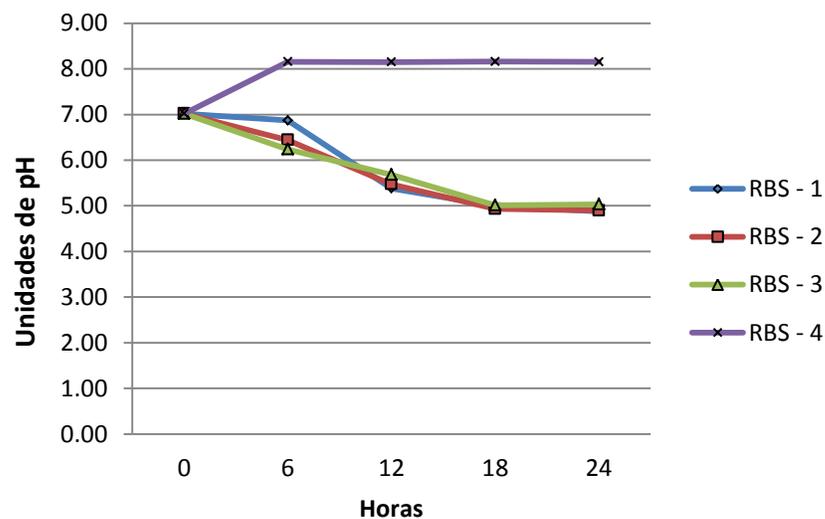


La figura 15 muestra el comportamiento del pH en cada grupo experimental, observándose como se dividen las tendencias entre el grupo de control, con una tendencia alcalina, y los grupos experimentales 1, 2 y 3, con una tendencia claramente ácida.

El comportamiento de las dos tendencias, se explica, teniendo en cuenta que en los grupos experimentales se están desarrollando una serie de rutas metabólicas (Orto y meta), que involucraron consumo de oxígeno y nutrientes, las cuales se caracterizan por presentar reacciones de oxidación catalizada por el citocromo P450 2E1, y por reacciones de conjugación, que en ultimas generan iones hidrogeniones, que incrementa la acidez del medio.

Entretanto la incorporación constante de oxígeno en el grupo de control, expuesto a una temperatura de 24,5°C genera reacciones, que inducen al aumento del pH.

Figura 15. Comportamiento de pH.



### 3.3 BIODEGRADACIÓN DE FENOLES TOTALES

**3.3.1 Montaje y operación del modelo experimental.** El montaje del modelo experimental propuesto se presenta en la figura 16, en donde se observa la instalación de un proceso discontinuo de doce grupos experimentales en línea, bajo las mismas condiciones de operación, a saber: temperatura 24,5 °C, pH 7,0, aporte de oxígeno 3 mg.l<sup>-1</sup> y 100 rpm.

Figura 16. Montaje modelo experimental



Durante el ejercicio, se observaron variaciones físicas en cada uno de los reactores, en donde además del color, se evidenciaron diferentes porcentajes de expansión del material procesado, destacando que el grupo experimental 1 (10% de consorcio microbiano en la composición del licor mezcla) presento expansiones superiores al 20 %, la cual se caracterizaba por ser una espuma blanca de baja densidad.

De igual forma, los grupos experimentales 2 y 3, registraron su proceso de expansión, con las mismas características, menos en su volumen, ya que en

éstos, no alcanzaron volúmenes superiores al 20%, estando acorde con lo expuesto por Moreno - Andrade y Buitrón 2004.

Figura 17. Proceso de expansión grupo experimental 1 (RBS – 1).

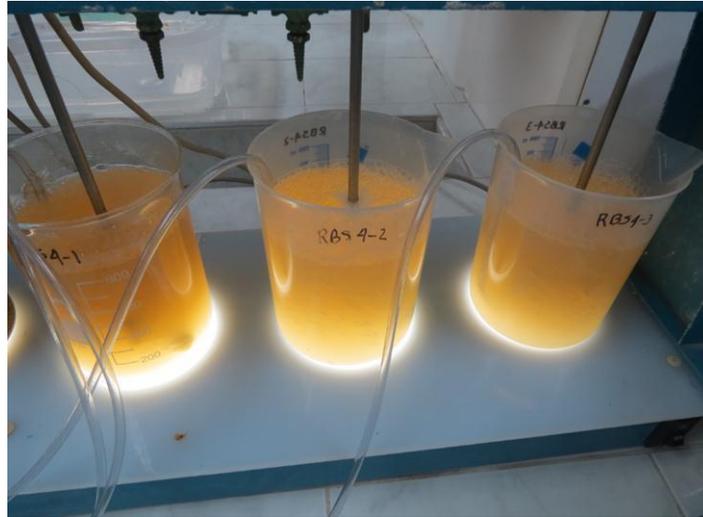


Figura 18. Proceso de expansión grupo experimental 2 y 3.



Entretanto, y como era de esperar, el grupo experimental 4 (control), no presentó ningún tipo de expansión, teniendo en cuenta que en él, no se incorporaron microorganismos.

Figura 19. Proceso de expansión grupo experimental 4 (control).



En términos generales, y al igual que las variaciones registradas en el pH y el OD, en los tres primeros grupos experimentales, el proceso de expansión se asocia directamente al proceso metabólico microbiano, específicamente con el crecimiento poblacional y el consumo de nutrientes y la biodegradación de los fenoles totales, entre otros.

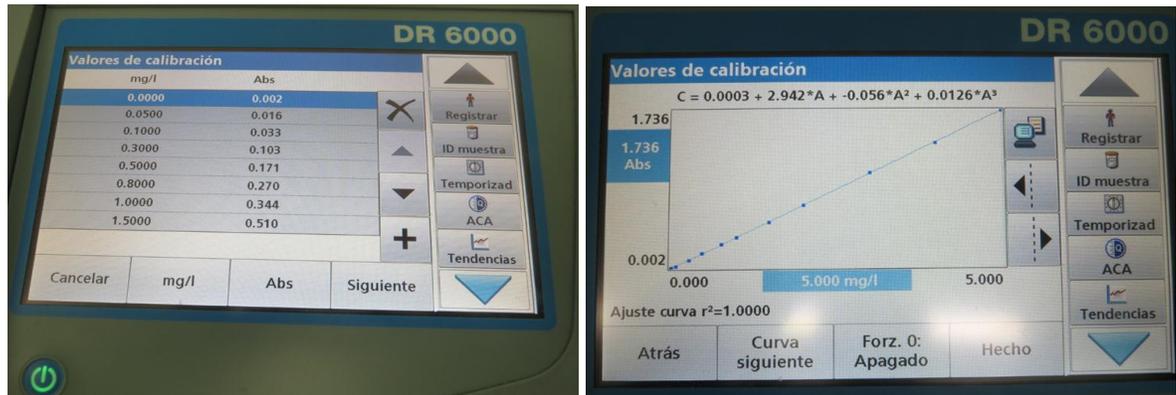
**3.3.2 Preparación y toma de la muestra.** Se siguió el protocolo colorimétrico de la 4-aminoantipirina propuesto por Woolard e Irvine (1995), tomando muestras de 100 ml cada 6 horas, por un periodo total de 24 horas, para un total de 4 muestras por ensayo. La figura 21, ejemplifica las características de las muestras tomadas.

Figura 20. Muestras aguas de producción producto del biotratamiento



Una vez desarrollado el protocolo, al que se le incorporaron procesos de destilación validados por el Laboratorio de Consultas Industriales de la UIS, y desarrollando la curva de calibración, se obtuvieron resultados con un límite de detección de  $0.0726 \text{ mg.l}^{-1}$  y un coeficiente de variación medio de 1.06%.

Figura 21. Datos y curva de calibración espectrofotómetro.



De esta forma se procedió a analizar cada una de las muestras obtenidas del modelo experimental propuesto, algunas de estas se exponen en la figura 22, en donde se presume que aquellas muestras con las tonalidades naranjas más intensas son las que registran mayores contenidos de fenol.

Figura 22. Muestras depuradas aguas de producción



**3.3.3 Biodegradación de fenoles totales.** La tabla 14 expone las variaciones de las concentraciones de fenoles totales durante el biotratamiento de las aguas de producción petrolera del CEC.

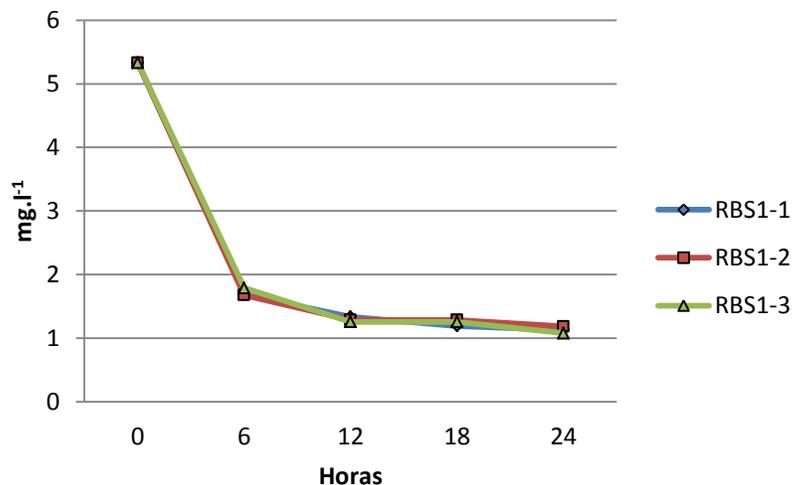
Tabla 14. Biodegradación aerobia fenoles totales en aguas de producción petrolera ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

Reactor	Periodo de operación en horas				
	0	6	12	18	24
RBS1-1	5,33	1,688	1,34	1,194	1,134
RBS1-2	5,33	1,678	1,29	1,288	1,186
RBS1-3	5,33	1,792	1,26	1,258	1,082
RBS2-1	5,33	1,49	1,04	0,78	0,81
RBS2-2	5,33	1,51	0,99	0,79	0,72
RBS2-3	5,33	1,52	1,03	0,83	0,77
RBS3-1	5,33	1,24	0,97	0,79	0,71
RBS3-2	5,33	1,24	0,92	0,81	0,73
RBS3-3	5,33	1,28	1,04	0,99	0,74
RBS4-1	5,33	4,70	4,64	4,62	4,55
RBS4-2	5,33	4,85	4,63	4,60	4,58
RBS4-3	5,33	4,86	4,65	4,62	4,56

Los datos en la tabla 12 registran una concentración de fenoles totales de 5,33  $\text{mg.l}^{-1}$ , condición inicial para cada uno de los RBS, observando un sustancial aumento de la capacidad biodegradadora en relación, con las concentraciones de salida que presentó el sistema.

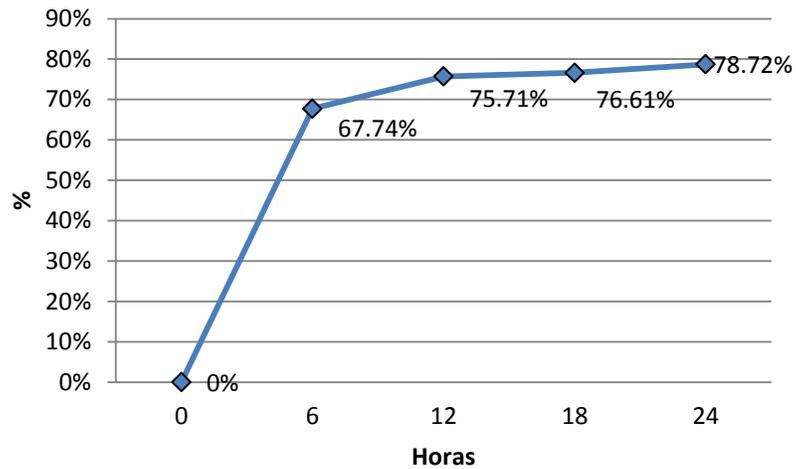
El comportamiento específico de los fenoles totales dentro del grupo experimental 1 (RBS – 1) se visualiza en la figura 23, en donde se observa una fuerte actividad biodegradadora en las primeras 6 horas de operación del sistema, pasando de 5,33  $\text{mg.l}^{-1}$  a 1,72  $\text{mg.l}^{-1}$  en promedio, situación que se repite en cada replica, encontrando que en su comportamiento no existen variaciones significativas. A partir de la sexta hora de tratamiento, la acción biodegradadora se mantiene pero con una curva tendencial con menor agresividad, pasando de 1,72  $\text{mg.l}^{-1}$  a 1,13  $\text{mg.l}^{-1}$  en 18 horas.

Figura 23. Biodegradación aerobia fenoles totales RBS - 1



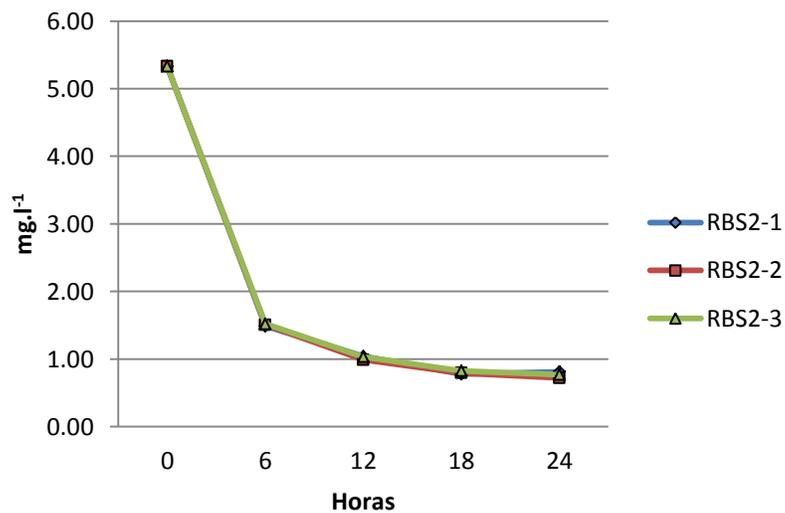
Con estos datos se calculó el porcentaje de remoción de los fenoles totales, empleando para ello la metodología estándar sugerida por la APHA, (1985), estableciendo para los RBS – 1, una biodegradación de los fenoles totales del 67,74% en las primeras 6 horas, hasta llegar al 78,72% en la hora 24 de tratamiento, la figura 24, representa tal comportamiento.

Figura 24. % Biodegradación de fenoles totales en RBS - 1



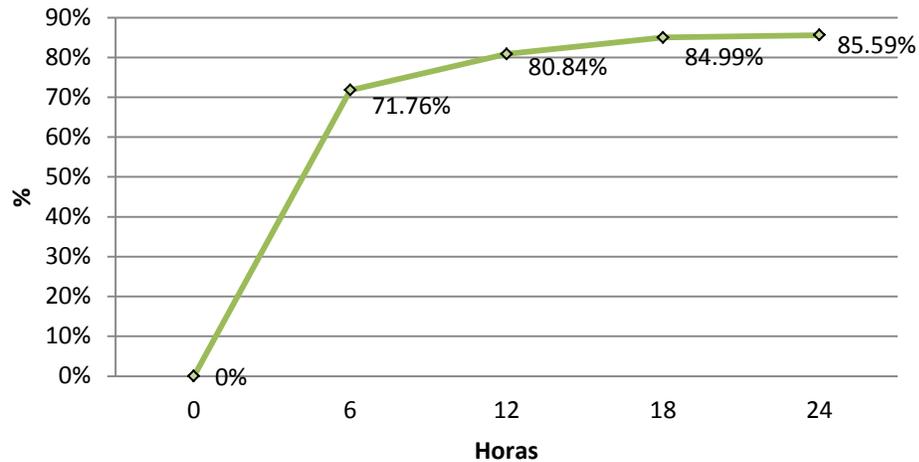
Los resultados presentados en los grupos experimentales 2 (RBS-2) y 3 (RBS-3), al igual que el grupo experimental 1 (RBS - 1), registraron su principal actividad biodegradadora durante las primeras 6 horas de operación del sistema, encontrando que para el grupo 2, la concentración de fenoles totales se redujo de  $5,33 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $1,51 \text{ mg.l}^{-1}$ , para llegar a  $0,77 \text{ mg.l}^{-1}$  al finalizar el proceso (ver figura 25), destacando que los resultados de cada replica no registran variaciones significativas.

Figura 25. Biodegradación aerobia fenoles totales RBS - 2



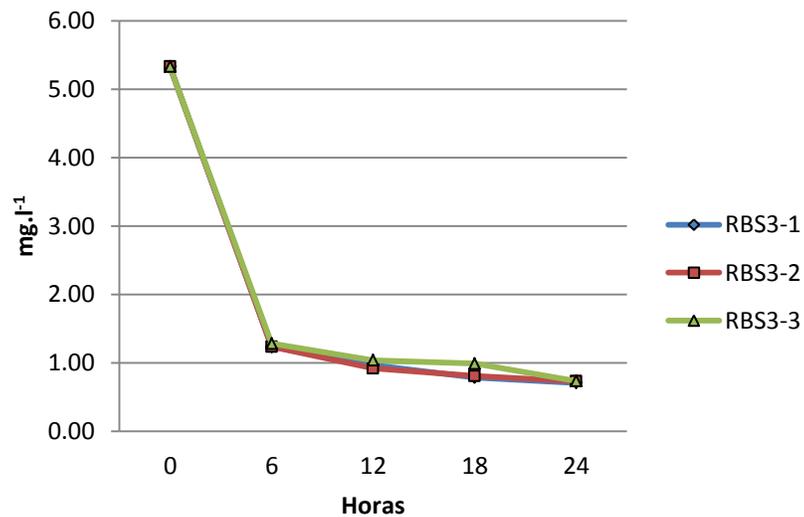
En este sentido se ha establecido el porcentaje total de biodegradación de fenoles totales en 85,59% para el grupo experimental 2.

Figura 26. % Biodegradación de fenoles totales en RBS - 2



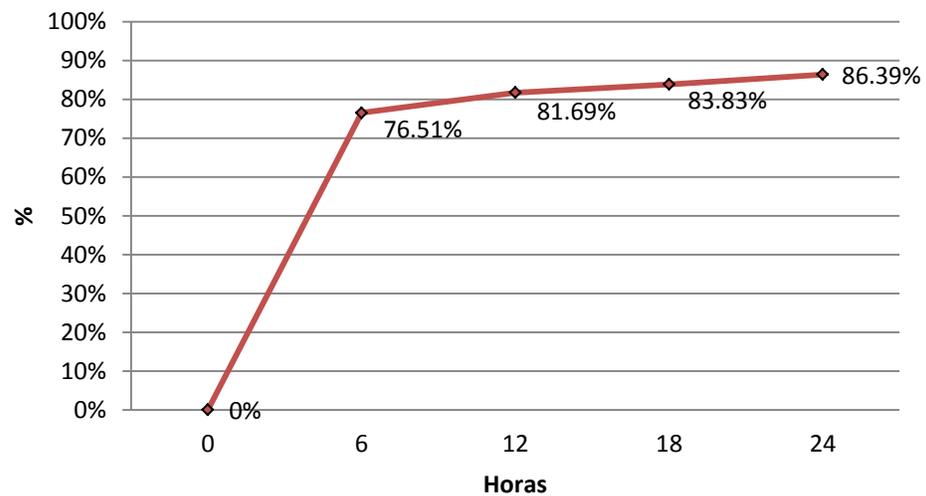
Entretanto, la biodegradación de fenoles totales registrada en los reactores biológicos secuenciales, que conforman el grupo experimenta 3, mostraron la mayor acción degradadora, llegando hasta un nivel de  $0,73 \text{ mg.l}^{-1}$  al finalizar el proceso.

Figura 27. Biodegradación aerobia fenoles totales RBS - 3



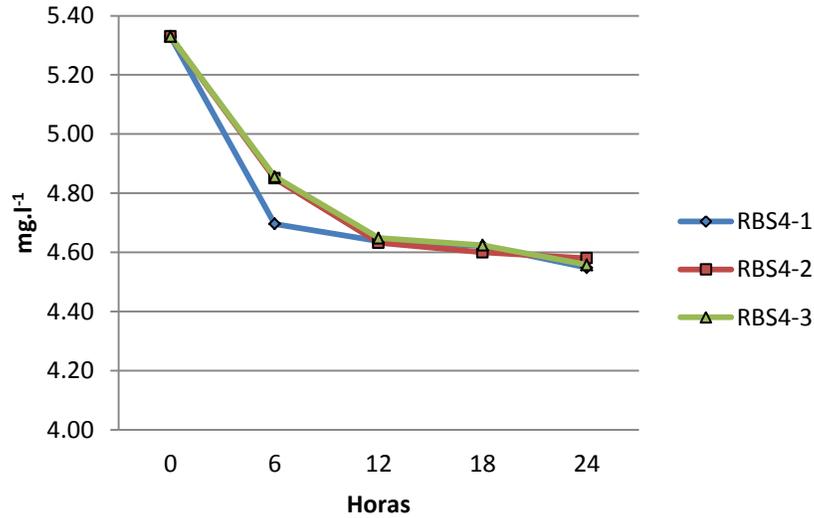
Analizando el porcentaje de biodegradación en el grupo experimental 4, se establece claramente, que la dosificación de los 240 ml de licor mezcla, conformada por con el 50% del pull microbiano y 50 % de agua destilada, logra la mayor biodegradación de los fenoles totales presentes en el agua de producción petrolera del CEC, cuya línea tendencial es muy similar a los grupos experimentales 1 y 2, presentando la mayor eficiencia durante las primeras 6 horas, logrando un porcentaje de remoción del 76,51%, llegando al 86,39% al finalizar el ensayo (24 horas).

Figura 28. % Biodegradación de fenoles totales en RBS – 3



El comportamiento del grupo de control registra una disminución acelerada, aunque menos intensa, de fenoles totales contenidos en el agua de producción petrolera del CEC, esta disminución fue de  $0,77 \text{ mg.l}^{-1}$  durante todo el proceso, y se relacionan directamente a pérdidas asociadas a la volatilidad del fenol. Estas pérdidas equivalen al 14,41% del total del fenol contenido en las muestras de las aguas analizadas (ver figura 29).

Figura 29. Perdidas fenoles totales grupo de control RBS - 4



En términos generales la mayor biodegradación se registró en el grupo experimental 3, con remociones del 86,9%, que equivalen a 4,6 mg.l<sup>-1</sup>, seguidos de los RBS -2, con el 85,59%, vale aclarar 4,56 mg.l<sup>-1</sup>, dejando en último lugar a grupo experimental 1, con un 4,2 mg.l<sup>-1</sup> biodegradados, que equivalen al 78,72% (ver figuras 30 y 31).

Figura 30. Biodegradación aerobia de fenoles totales

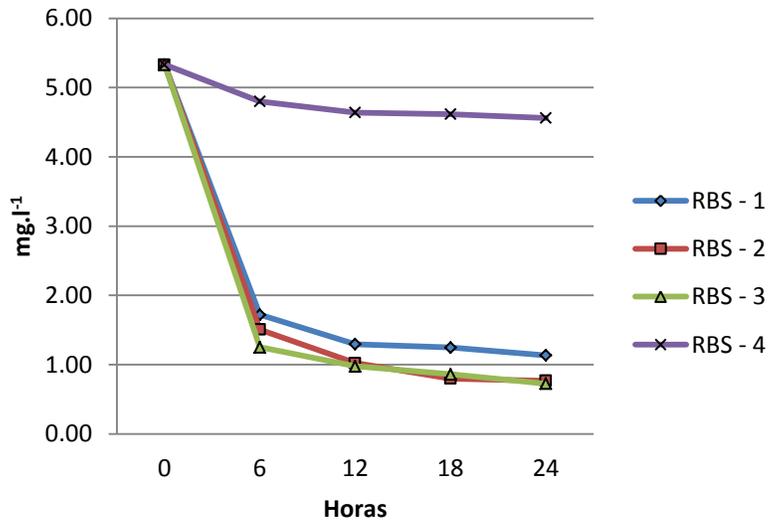
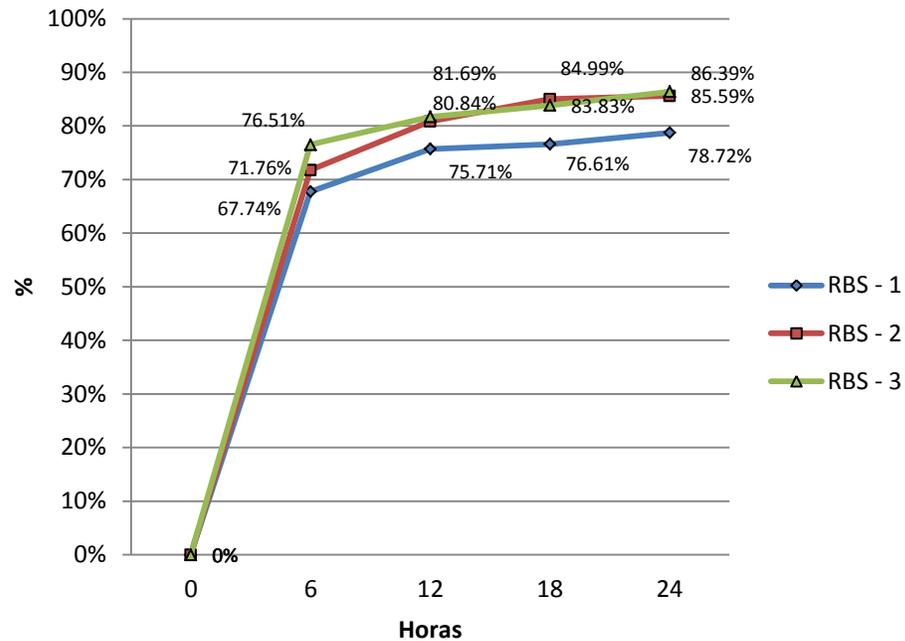


Figura 31. % Biodegradación de fenoles totales



De otra parte, con los datos obtenidos se desarrolló el modelo lineal general multivariante de medidas repetidas, con el ánimo de corroborar los análisis bivariados al considerar toda la información en simultánea, en un análisis multivariado.

Para poder analizar los datos con el modelo lineal general se cumplieron con los requisitos que permiten evaluar los contrastes multivariados, obteniendo valores significativos para los dos parámetros del modelo (intercepto y grupo), encontrando que los datos pueden ser analizados a través de este modelo (ver tabla 15).

Adicionalmente la tabla 16, expone los valores iniciales para la prueba de hipótesis de los contrastes entre los valores de la variable de asignación a grupo, para cada una de las variables dependientes.

Tabla 15. Contrastes multivariados<sup>a</sup>

Efecto	Valor	F	GI de la hipótesis	GI del error	Sig.	Efecto	Valor
Entre sujetos	Intercepto	Traza de Pillai	1.000	549411.983 <sup>b</sup>	3.000	6.000	.000
		Lambda de Wilks	.000	549411.983 <sup>b</sup>	3.000	6.000	.000
		Traza de Hotelling	274705.991	549411.983 <sup>b</sup>	3.000	6.000	.000
		Raíz mayor de Roy	274705.991	549411.983 <sup>b</sup>	3.000	6.000	.000
	grupo	Traza de Pillai	1.976	5.149	9.000	24.000	.001
		Lambda de Wilks	.000	191.011	9.000	14.753	.000
		Traza de Hotelling	5636.181	2922.464	9.000	14.000	.000
		Raíz mayor de Roy	5618.295	14982.121 <sup>c</sup>	3.000	8.000	.000

a. Diseño: intersección + grupo

Tabla 16. Matriz SCPC inter-sujetos\*

			Oxigeno	Ph	Fenoles
Hipótesis	Intersección	Oxigeno	413.805	998.442	360.063
		Ph	998.442	2409.074	868.772
		Fenoles	360.063	868.772	313.301
	grupo	Oxigeno	342.462	132.164	133.139
		Ph	132.164	51.341	51.268
		Fenoles	133.139	51.268	51.820
Error	Oxigeno	2.202	.090	-.064	
	Ph	.090	.012	.001	
	Fenoles	-.064	.001	.046	

\*Basado en la suma de cuadrados tipo IV

El análisis de contrastes para la variable oxígeno disuelto, muestra diferencias significativas al 95% respecto al grupo control por un valor de 5,678 (IC95% 5,236 – 6,12) en la concentración 10 – 90 (RBS – 1); y diferenciar por un valor de 0,593 (IC95% 0,152 – 1,035) en la concentración 25 – 75. La concentración 50 -50 (RBS – 3) no muestra diferencia significativa.

Tabla 17. Prueba de hipótesis para los contrastes de oxígeno disuelto

<b>Contraste</b>		<b>Concentración licor mezcla</b>		
		<b>10-90</b>	<b>25-75</b>	<b>50-50</b>
<b>simple grupo<sup>a</sup></b>				
Diferencia (Estimado - Hipotetizado)		5.678	.593	-.023
Error típ.		.192	.192	.192
Sig.		.000	.015	.909
Intervalo de confianza al 95	Límite inferior	.152	.152	-.464
% para la diferencia	Límite superior	6.120	1.035	.419

En relación con el comportamiento del pH, durante el periodo experimental, se establece que solo se observan diferencias significativas, con respecto al control en las concentraciones 10 – 90 por un valor de 2,131 (IC95% 2,098 – 2,164), y la concentración 50 -50 por un valor de -0,045 (IC95% -0.078 - -0.012).

Tabla 18. Prueba de hipótesis para los contrastes de pH

<b>Contraste</b>		<b>Concentración licor mezcla</b>		
		<b>10-90</b>	<b>25-75</b>	<b>50-50</b>
<b>simple grupo<sup>a</sup></b>				
Diferencia (Estimado - Hipotetizado)		2.131	.031	-.045
Error típ.		.014	.014	.014
Sig.		.000	.059	.013
Intervalo de confianza al 95	Límite inferior	2.098	-.002	-.078
% para la diferencia	Límite superior	2.164	.064	-.012

La tabla 19, registra el comportamiento de la concentración de la variable fenoles totales, encontrando que se presenta diferencias significativas en dos de los tres ensayos, frente al grupo control, en donde el grupo 10 -90 reporta un valor de 2.252 (IC95% 2.189 – 2.316), entretanto, el grupo 25 – 75, presenta un valor de 0.316 (IC95% 0.252 – 0.380). La concentración 50 – 50 no muestra diferencias significativas.

Tabla 19. Prueba de hipótesis para los contrastes de fenoles totales

Contraste	Concentración licor mezcla			
	10-90	25-75	50-50	
<b>simple grupo<sup>a</sup></b>				
Diferencia (Estimado - Hipotetizado)	2.252	.316	.056	
Error típ.	.028	.028	.028	
Sig.	.000	.000	.078	
Intervalo de confianza al 95				
% para la diferencia	Límite inferior	2.189	.252	-0.008
	Límite superior	2.316	.380	.120

Una vez realizada los análisis de varianzas, se corroboran los hallazgos con análisis post hoc, para la variable fenoles totales encontrándose que hay diferencias significativas entre todas las diferentes concentraciones de licor mezcla, excepto para las concentraciones 25 – 75 y 50 – 50, arrojando una diferencia de medias de 0.0559, con una significancia de 0.256. Información complementaria del mismo análisis está relacionada en la tabla 20.

Tabla 20. Pruebas post hoc. Comparaciones múltiples

Medida	(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
						Límite inferior	Límite superior	
Fenoles DHS de Tukey	<b>0-0</b>	10-90	1.9365 <sup>*</sup>	.02759	.000	1.8482	2.0249	
		25-75	2.1965 <sup>*</sup>	.02759	.000	2.1082	2.2849	
		50-50	2.2524 <sup>*</sup>	.02759	.000	2.1640	2.3408	
		.00	-1.9365 <sup>*</sup>	.02759	.000	-2.0249	-1.8482	
	<b>10-90</b>	25-75	.2600 <sup>*</sup>	.02759	.000	.1716	.3484	
		50-50	.3159 <sup>*</sup>	.02759	.000	.2275	.4042	
		.00	-2.1965 <sup>*</sup>	.02759	.000	-2.2849	-2.1082	
	<b>25-75</b>	10-90	-.2600 <sup>*</sup>	.02759	.000	-.3484	-.1716	
		50-50	.0559	.02759	.256	-.0325	.1442	
		.00	-2.2524 <sup>*</sup>	.02759	.000	-2.3408	-2.1640	
		<b>50-50</b>	10-90	-.3159 <sup>*</sup>	.02759	.000	-.4042	-.2275
			25-75	-.0559	.02759	.256	-.1442	.0325

Basadas en la medias observadas. El término error es la media cuadrática (error = 0,001). L\* La diferencia entre medias es significativa al nivel 0,05

El análisis de subconjuntos homogéneos sugiere que la falta de significancia observada en la tabla 19, para la concentración 50 – 50 y su falta de diferencia significativa con respecto a la concentración 25 – 75 (RBS – 2) exclusivamente se debe a que estas dos concentraciones no son dos grupos estadísticamente significativos, agregándolos en un solo subconjunto, tal como lo muestra la tabla 21.

Tabla 21. Sub-conjuntos homogéneos, fenoles totales

	grupo	N	Subconjunto		
			1	2	3
Tukey B <sup>a,b,c</sup>	25-75	3	1.6291		
	50-50	3	1.6849		
	10-90	3		1.9449	
	.00	3			3.8815

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos, basados en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) – 0,055

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,00, b. Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. Nop se garantizan los niveles de erro tipo I. c. Alfa = 0,05

## CONCLUSIONES

Las características iniciales de las aguas de producción petrolera del Campo Escuela Colorado permitieron establecer que éstas no cuentan con la disponibilidad de nutrientes requerida para el desarrollo adecuado de los microorganismos aerobios presentes en el proceso de biodegradación, teniendo en cuenta lo expuesto por Speece en 1996, en donde se aceptan concentraciones de DQO : N y P de 500 : 5 : 1, respectivamente, encontrando tan solo una relación de 56 : 3,5 : 1., situación que demanda de una aplicación adicional y balanceada de nutrientes para el adecuado desarrollo de la actividad biológica.

Los valores iniciales de las variables: salinidad, alcalinidad, oxígeno disuelto y pH, posibilitan la implementación de microorganismos especializados en la biodegradación de fenoles totales, dentro de reactores biológicos secuenciales, pero se hace preciso incorporar sistemas de aireación eficientes que puedan garantizar un suministro de oxígeno disuelto igual o mayor a  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ , así como realizar correcciones de pH en tiempo real que permitan mantenerlo en un rango entre 6 y 9, todo esto con el ánimo de aumentar la eficiencia del proceso biológico.

La concentración de fenoles totales ( $5,33 \text{ mg.l}^{-1} \pm 0,2$ ) encontradas en las Aguas de Producción Petrolera del Campo Escuela Colorado, son significativamente mayores a las reportadas por Grosso *et al.* (1995) para aguas de producción de la industria colombiana, quienes establecieron concentraciones de fenol entre 0,7 y  $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ; concentración que supera ampliamente los valores admitidos tanto por la legislación nacional como internacional, para su vertimiento o uso directo; aun así, la concentración inicial del compuesto tóxico objeto de estudio no superó valores que sean inhibitorios para los microorganismos.

Los resultados de la caracterización inicial de las Aguas de producción Petrolera evidencian la necesidad de introducir tecnologías apropiadas para tratar este tipo de aguas y así poder lograr posibilidades de tratamiento, reutilización o vertimiento, de tal manera, que se cumplan con los requisitos legales y su disposición en el medio no generen impactos negativos.

El diseño experimental propuesto presentó una disminución de la capacidad biodegradadora de los fenoles totales en relación con el tiempo, esto evidencia la inexistencia de compuestos fenólicos complejos en las aguas de producción petrolera del Campo Escuela Colorado, teniendo en cuenta que son fácilmente biodegradables y que se constituyen en una fuente de carbono de fácil asimilación por el consorcio microbiano empleado.

El comportamiento mostrado por las medias marginales estimadas de los fenoles totales que constituyen las aguas de producción petrolera del CEC, evidencian la biodegradación del compuesto, encontrando que los mayores porcentajes de biodegradación se registraron en los reactores biológicos secuenciales que conformaron los grupos experimentales 2 y 3, (vale decir, constituidos con un licor mezcla de 25% de Fenobiol – 75% agua destilada y 50 de Fenobiol – 50% agua destilada respectivamente), encontrado que estadísticamente la biodegradación desarrollada en cada uno de ellos, no presentan variaciones significativas, por tanto, se considera que el proceso más eficiente se presentó en el grupo experimental 2, en donde se reducen significativamente los volúmenes de microorganismos a aplicar y por ende los costos del biotratamiento.

Los resultados del ensayo, fueron inferiores a los reportados por Grosso *et al.* (1995), quienes lograron eliminar más del 95% del fenol contenido en aguas de deshidratación de emulsiones inversas de hidrocarburos pesados, aguas de producción, aguas agrias y residuales de la refinería de Barrancabermeja (Colombia), en períodos que no superaron las 24 h, trabajando en bioreactores

aerobios por carga, semicontinuos y continuos a escala de laboratorio y planta piloto. Estos investigadores indican que la concentración inicial y el tipo de fenol tienen gran influencia sobre la eficiencia de biodegradación, ya que cuando las concentraciones son elevadas ( $> 437 \text{ mg.l}^{-1}$ ), los fenoles son reducidos rápidamente, mientras que a concentraciones bajas y en presencia de fenoles sustituidos, el proceso se hace más lento.

En términos generales la implementación de un sistema aerobio tipo RBS posibilita la biodegradación de los fenoles totales presentes en las aguas de producción del CEC.

## BIBLIOGRAFÍA

AGARRY, S. & SOLOMON, B. (2008). Kinetics of batch microbial degradation of phenols by indigenous *Pseudomonas fluorescense*. Int. J. Environ. Sci. Tech. 5(2). 223-232.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxicological Profile for Phenol. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Unites States (2008).

AMBUJOM, S. (2001). Studies on composition and stability of a large membered bacterial consortium degrading phenol. Microbiol. Res. 156. 293-301.

AMBUJOM, S. & MANILAL, V. (1995). Phenol degradation by a stable aerobic consortium and its bacterial isolates. Biotechnology letters. 17(4). 443-448.

ARUTCHELVAN, V., KANAKASABAI, V., ELANGO VAN, R., NAGARAJAN, S. & MURALIKRISHNAN, V. (2006). Kinetics of high strength phenol degradation using *Bacillus brevis*. Journal of Hazardous Materials. B129. 216-222.

ASOCIACIÓN REGIONAL DE EMPRESAS DEL PETRÓLEO Y GAS NATURAL EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE (ARPEL). Guía para la disposición y tratamiento del agua producida. Uruguay. p 120.

ANNACHHATRE, A. P., & GHEEWALA, S. H. (1996). Biodegradation of chlorinated phenolic compounds. *Biotechnology Advances*. 14 (1). 35-56.

ATSDR. Toxicological profile for phenol. Agency for toxic substances and disease registry, U.S. Department of health and human services. Atlanta. P 127 – 133.

BASF Chemical Emergency Medical Guidelines. (2009). Phenol (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH).Code: E014-007.

BAZIN, B., BORSSE, É., AND SOMMER, F., 1997a, Chemistry of oil-fields brines in relation to diagenesis of reservoirs 1. Use of mineral stability fields to reconstruct in situ water composition. Example of the Mahakam basin: *Marine and Petroleum Geology*, v. 14, No. 5, p. 481-495.

BRENNER A., CHOZICK R., IRVINE R. Treatment of a high-strength mixed phenolic waste in a SBR. *Wat Environ Res*. 64 (2), 128-133, 1992.

BUCKLEY, J. S., AND MORROW, N. R., 1991, An overview of crude oil adhesion phenomena, in Toulhoat, H., and Lecourtier, J., eds., *Physical chemistry of colloids and interfaces in oil production*. Editions Techni, Paris, p. 39-75.

Buitrón G. Biodegradación de compuestos xénobiotiques par un procédé de type SBR. Tesis Doctoral, Institut National de Sciences Appliquées de Toulouse. Francia. 1993

BUSCA, G., BERARDINELLI, S., RESINI, C. & ARRIGHI, L. (2008). Review Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments. *Journal of Hazardous Materials*. 160.265-288.

CASE L. C., 1955, Origin and current usage of the term, "connate water": *American Association of Petroleum Geologists, Bulletin* 39, p. 1879–1882.

CAREY, F. *Organic Chemistry*. 4<sup>a</sup> ed. ED. McGraw-hill. USA. 2000

Consejería de Sanidad, Dirección General de Salud Pública, Servicio de Sanidad Ambiental. Riesgo químico - accidentes graves Fenol. Región de Murcia: Europa. (2007).

CORDOVA, S., DAMS, R., CORDOVA, E., RADETSKI, M., CORRÊA, A., & RADETSKI, C. (2009). Remediation of phenol-contaminated soil by a bacterial consortium and *Acinetobacter calcoaceticus* isolated from an industrial wastewater treatment plant. *Journal of Hazardous Materials*. 164. 61-66.

DÍAZ ALTAMIRA (2003) Procédés copules- pré ozonation et traitement biologique aérobie en réacteur SBR- pour le traitement des eaux de production de l'extraction pétrolière. Thèse de Doctorat, Institut National des sciences appliquées de Toulouse (INSA), octobre 2003, n° d'ordre 701 pp. 1-189.

DÍAZ A., RINCÓN N., MARÍN J., FERNÁNDEZ N. Degradación de fenoles totales mediante reactores SBR en aguas de producción petroleras. Universidad del Zulia Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Civil. Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Venezuela. 2003. p 6.

DREVER, J., 1997, The geochemistry of natural waters: surface and groundwater environments, Third Edition, New Jersey, Prentice Hall Ed, p. 235-351.

DWORKING, S. I., AND LAND, L. S., 1996, The origin of aqueous sulfate in Frio pore fluids and its implication for the origin of oil-field brines: Applied Geochemistry, v. 11, p. 403-408.

GAVRIELI, I., STARENSKY, A., SPIRO, B., AIZENSHAT, Z., AND NIELSEN, H., 1995, Mechanism of sulfate removal from subsurface chloride brines: Heletz-Kokhav oilfields, Israel: Geochimica et Cosmochimica Acta, v. 59, p. 3525-3533.

GROSSO J., DÍAZ M., LEÓN G. Biodegradación en aguas residuales de la industria petrolera. Ciencia, Tecnología y Futuro. 1(1), 5-15, 1995.

HANOR, J. S., 1987, Origin and migration of subsurface sedimentary brines, Short Course 21, (SEMP) Society for Sedimentary Geology, Tulsa, OK, p. 36-74.

HERNÁNDEZ, C. A., ORTUÑO, M. E., Y JUÁREZ, A. L. (2002), Salinidad en los acuíferos de la Sonda de Campeche, datos no publicados, Reporte Interno, PEMEX.

HERZOG, H. J., AND DRAKE, E. M., 1998, CO<sub>2</sub> capture, reuse, and sequestration technologies for mitigating global climate change, in Proceedings of the 23th international technology conference on coal utilization and fuel systems. Clearwater, FL, p. 615-626.

HITCHON, B., 1996, Rapid evaluation of the hydrogeochemistry of a sedimentary basin using only 'standard' formation water analysis: example from the canadian portion of the Williston basin: Applied Geochemistry, v. 11, p. 789-795.

Institute for Health and Consumer Protection (IHCP).European Union Risk Assessment Report. PHENOL. CAS No: 108-95-2. EINECS No: 203-632-7. European Communities. Italy (2006).

International Programme on Chemical Safety. Health and Safety Guide No.88, Phenol, Health and Safety, Guide. World Health Organization. Geneva. (1994).

KERRY M ST. PE, JAY MEANS, MATT SCHLENKER, SEERI COURTNEY. Fate and Effects of Produced Water Impacts to Low Energy, Brackish Water Systems in Southeast Louisiana: A Project Summary, Louisiana Department of Environmental Quality, Water Pollution Control Division, Lockport, Louisiana, 70374.

KHARAKA, Y. K., AND HANOR, J. S., 2004, Deep fluids in the continents: I. Sedimentary basins, in Drever, J. I., Holland, H. D., and Turekian, K. K., eds., Treatise on geochemistry, v. 5, Surface and groundwater weathering and soils, Elsevier, p. 499-540.

KHARAKA, Y. K., AND THORSEN, J. J., 1992, Stable isotope geochemistry and origin of water in sedimentary basins, in Clauer, N., and Chaudhuri, S., eds., Isotope signatures and sedimentary records, Berlin, Springer, p. 411-466.

KUMARAN, P., & PARUCHURI, L. Kinetics of phenol biotransformation. *Wat. Res.* 31(1). 11-22(1997).

LAND, L. S., EUSTICE, R. A., MACK, L. E., AND HORITA, J., 1995, Reactivity of evaporates during burial: an example from the Jurassic of Alabama: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 59, p. 3765-3778.

LANGMUIR, D., 1997, *Aqueous environmental geochemistry*, First Edition, New Jersey, Prentice Hall Inc, p. 245-287.

LOVLEY, D.R. Y LONERGAN, D.J. Anaerobic Oxidation of tolueno p-cresol and phenol by the Dissimilatory Iron-Reducing Organism GS-15. *Appl. Environ. Microbiology*. 56. 1858-1865, 1990.

MACARIE, H., (2000) Overview of the application of anaerobic treatment to chemical and petrochemical wastewaters, *Water Sci. Tech.*, vol. 42, 5-6, 201-213.

MACHEL, H. G., 2001, Bacterial and thermochemical sulfate reduction in diagenetic settings: old and new insights: *Sedimentary Geology*, v. 140, p. 143-175.

MENDEZ B., Geoquímica e isotopía de aguas de formación (salmueras petroleras) de campos mesozoicos de la cuenca del sureste de México: implicación en su origen, evolución e interacción agua-roca en yacimientos petroleros. Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico 2007. p 36.

MONTENEGRO J. evaluación de la disminución de concentración de fenol en agua sintética por medio de dos consorcios bacterianos nativos, aerobio y anaerobio facultativo, a nivel de laboratorio, para su aplicación futura en la biorremediación de efluentes textiles. Ecuador. 2010. P 85

MUÑOZ A., TORRES E. evaluación técnica de las estrategias de levantamiento artificial implementadas en campos maduros. Diseño de una herramienta software

de selección. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2007. p 191 – 196.

PATTERSON J.W. Wastewater treatment technology. Ann Arbor Science publishers. Ann Arbor. Mich. 1995.

RABALAIS N., MEANS J., BOESCH D. Fate and Effects of produced Water Discharges in Coastal Environments. Louisiana Universities Marine Consortium, Chauvin, Louisiana, 70344. Presented at the First International Symposium on Oil and Gas Exploration and Production Waster Management Practices, September 10-13, 1990, New Orleans, Louisiana, Sponsored by U.S. EPA.

RINCON N., BEHLING E., DÍAZ A. combinación de tratamientos anaerobio-aerobio de aguas de producción provenientes de la industria petrolera Venezolana. Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (DISA), Escuela de Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería, La Universidad del Zulia. Venezuela. p 8.

RINCÓN N, CHACÍN E., MARÍN J., TORRIJOS M., MOLETTA M. AND FERNÁNDEZ N. (2003) Anaerobic biodegradability of water deparated from extracted crude oil, *Environmental Technology*, Vol. 24. 963-970.

RODRÍGUEZ M. Fenton and UV-vis based advanced oxidation processes in wastewater treatmen: Degradation, mineralization and biodegradability enhancement. Tesis doctoral, Universidad de Barcelona. España. Disponible en :

[http://www.tdx.cesca.es/TESIS\\_UB/AVAILABLE/TDX-0718103-15659/TOL208.pdf](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0718103-15659/TOL208.pdf)

STUMM, W., AND MORGAN, J. J., 1996, Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters, Third edition, New York, John Wiley and sons, p. 275-315.

TAIZ, LINCOLN T., ZEIGER E. Secondary Metabolites and Plant Defense. Plant Physiology, Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.

TZIOTZIOS, G., TELIOU, M., KALTSOUNI, V., LYBERATOS, G. & VAYENAS, D. (2005). Biological phenol removal using suspended growth and packed bed reactors. Biochemical Engineering Journal. 26. 65-71.

WADE, L.G. Química Orgánica. 2<sup>a</sup> ed. Ed. Prentice-Hall- USA. 2002. p 65-82

WHITE, C. M., STRAZISAR, B. R., GRANITE, E. J., HOFFMAN, J. S., AND PENNLIN, H. W., 2003, 2003 critical review: separation and capture of CO<sub>2</sub> from large stationary sources and sequestration in geological formations-coalbeds and deep saline aquifers: Journal of Air and Waste Management Association v. 53, p. 645-715.

WHO. Phenol environmental health criteria 161. World Health organization. Disponible En : [www.inchem.org](http://www.inchem.org)

World Health Organization. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 161. Phenol. Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc161.htm> (1994).

WORDEN, R. H., 1996, Controls of halogen concentrations in sedimentary formation waters: *Mineralogical Magazine*, v. 60, p. 259-274.

YOONG E., LANT P. Biodegradation of high strength phenolic wastewater using SBR. *Wat Sci Technol.* 43 (3), 299-306, 2001.