



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**DESARROLLO DE UN MODELO
MATEMÁTICO Y DE SIMULACIÓN DEL
PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE
FENOL EN AGUAS RESIDUALES DE
REFINERÍAS DE PETRÓLEO**

2009

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TITULO

**DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO Y DE SIMULACIÓN DEL PROCESO
DE BIOTRANSFORMACIÓN DE FENOL EN AGUAS RESIDUALES DE REFINERÍAS
DE PETRÓLEO.**

MARÍA ANGÉLICA MARTÍNEZ MENDOZA
ESTUDIANTE DE MAESTRÍA EN INGENIERÍA
ÉNFASIS EN INGENIERÍA QUÍMICA

DIRECTOR
DR. RODRIGO TORRES SAEZ
Profesor Escuela de Química

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
FACULTAD FISICOQUÍMICA
BUCARAMANGA

2009

TABLA DE CONTENIDO

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	4
OBJETIVOS	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 Fenol	8
2.2 Tratamiento de compuestos fenólicos	10
2.2.1 Tratamientos biológicos	12
2.3 Crecimiento microbiano	16
2.3.1 Cinética de crecimiento	17
2.3.2 Curva de crecimiento	20
2.3.3 Factores físicos y químicos que influyen en el crecimiento bacteriano	23
2.3.4 Presencia de multi-sustratos y/o compuestos inhibidores	29
2.4 Modelamiento y simulación de procesos biológicos	30
3. METODOLOGÍA	33
3.1 Etapas de desarrollo	34
3.2 Nomenclatura	37
3.3 Descripción global de cada uno de los sistemas de estudio	38
3.4 Modelo matemático	40
3.5 Modelo cinético	42
3.6 Diseño experimental	44
3.6.1 Determinación de parámetros cinéticos	44
3.6.2 Diseño experimental para las pruebas de validación del modelo matemático	46
4. RESULTADOS DEL MODELO MATEMÁTICO	48
4.1 Determinación del efecto de concentración de fenol inicial en la biodegradación de fenol	48
4.2 Determinación de parámetros cinéticos	50
4.3 Determinación de los efectos del ph y el oxígeno disuelto (O.D)	52
4.3.1 ph	52
4.3.2 Oxígeno disuelto (O.D)	54
4.3.2.1 Cálculo de la concentración de saturación de OD.	54

4.3.2.2 Prueba experimental para determinar la importancia de la presencia de Oxígeno disuelto en el proceso biológico	55
4.3.2.3 Definición de la oferta de aire de los sistemas de aireación para los sistemas de remoción de fenol de Barrancabermeja	56
4.4 Evaluación de compuestos inhibitorios: Amonio, Sulfuro e Hidrocarburo (HC).	58
4.5 Determinación del efecto de las variables: demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO) en el proceso de biodegradación de fenol.	61
4.5.1 Análisis de biodegradabilidad del agua de tratamiento a partir de la DBO y DQO	65
4.6 Modelos de simulación	67
4.7 Análisis de sensibilidad	71
4.7.1 Sensibilidad paramétrica	71
4.7.2 Sensibilidad de variables	75
5. VALIDACIÓN DE LOS MODELOS	85
5.1 Software	85
5.2 Pruebas de validación del modelo	89
6. CONCLUSIONES	98
7. RECOMENDACIONES	100
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
9. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS	109

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del fenol	9
Figura 2. Técnicas comunes en el tratamiento de compuestos orgánicos	11
Figura 3. Ruta metabólica típica de biotransformación de fenol por <i>Pseudomonas</i> .	13
Figura 4. Curva típica de crecimiento bacteriano.	21
Figura 5. Efecto del pH sobre μ_M . Curva típica a) Hongos b) Bacterias.	24
Figura 6. Efecto de la temperatura sobre μ_M para un microorganismo mesófilo.	24
Figura 7. Análisis de biodegradabilidad del agua residual a partir de la relación de la DBO y DQO.	29
Figura 8. Diagrama global de la metodología y principales etapas de desarrollo.	33
Figura 9. Cinética de biodegradación de fenol a escala laboratorio. Perfil de fenol y microorganismos durante el tiempo de prueba (24 horas). $S_0=37\text{ppm}$. Inyección de oxígeno.	48
Figura 10. Perfiles de fenol para cinéticas de biodegradación modo batch a escala laboratorio a partir de diferentes concentraciones iniciales de fenol.	49
Figura 11. Dependencia de la velocidad específica de crecimiento (μ) con la concentración inicial de fenol (S_0).	52
Figura 12A. Perfiles de porcentajes de biodegradación de fenol a partir de un pool de <i>Seudomonas putida</i> con diferentes pH iniciales.	53
Figura 12B. Curva de un modelo típico enzimático para pH. Datos experimentales para las cinéticas con diferentes pH iniciales.	53
Figura 13. Evaluación del efecto del suministro de oxígeno inyectado al bio-reactor. Perfiles de concentración de fenol en las corrientes de entrada y salida del bio-reactor piloto en una prueba en continuo. Tiempo de residencia hidráulico= 18 h.	56
Figura 14. Perfiles de porcentajes de biodegradación de fenol a partir de un pool de <i>Pseudomonas putida</i> en presencia de diferentes concentraciones de amonio inicial. Rango 1- 1383 ppm	59
Figura 15. Perfiles del porcentajes de biodegradación de fenol a partir de un pool de <i>Pseudomonas putida</i> en presencia de diferentes concentraciones de sulfuro inicial.	59
Figura 16. Perfiles típicos de DBO y DQO en una cinética de biodegradación de fenol modo batch a escala laboratorio. Tiempo de prueba 24 horas. Matriz real, $S_0=37\text{ppm}$.	62

Inyección de oxígeno.

Figura 17. Cinética en continuo a escala piloto, perfiles de cada variable para la entrada y salida del bio-reactor. (a) Perfiles de fenol (b) Perfil de oxígeno disuelto y perfiles de pH (c) Perfiles para la DBO y DQO. Tiempo de prueba:140 horas; Matriz real; Tiempo residencia: 18 h; Inyección de oxígeno. 63

Figura 18. Cinética en continuo a escala piloto, Perfiles de DBO para la entrada y salida del bio-reactor, perfil de salida experimental comparado con el perfil simulado (a) TRH: 18 horas (b) TRH: 12 horas. (c) Perfiles para la DBO y DQO. Inyección de oxígeno. 64

Figura 19. Análisis de biodegradabilidad del agua residual a partir de la relación DQO/DBO, de cinéticas en continuo a escala piloto para tres tiempos de residencia: 18,12 y 8 horas. 66

Figura 20. Variación del parámetro K_s 73

Figura 21. Variación del parámetro μ_{max} 73

Figura 22. Variación del parámetro K_f 74

Figura 23. Efecto de la variación de la concentración inicial de fenol sobre la biodegradación de fenol 76

Figura 24. Efecto de la variación de la concentración inicial de fenol en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario. 76

Figura 25. Efecto de la variación de la concentración inicial de biomasa sobre la remoción de fenol. 77

Figura 26. Efecto de la variación de la concentración inicial de biomasa en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario. 77

Figura 27. Efecto de la variación de la concentración inicial de sulfuro sobre la remoción de fenol 78

Figura 28. Efecto de la variación de la concentración inicial de sulfuro en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario. 78

Figura 29. Efecto de la variación de la concentración inicial de amonio sobre la remoción de fenol. 79

Figura 30. Efecto de la variación de la concentración de amonio inicial en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario. 79

Figura 31. Efecto de la variación de del pH inicial sobre la remoción de fenol. 80

Figura 32. Efecto de la variación del pH inicial en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario. 80

Figura 33. Efecto de la variación del flujo volumétrico de tratamiento sobre la remoción de fenol para el sistema GRB.	81
Figura 34. Porcentaje de remoción de fenol versus concentración de fenol y biomasa inicial	82
Figura 35. Porcentaje de remoción de fenol versus concentración de fenol inicial y número de boquillas en funcionamiento	83
Figura 36. Diagrama de fase del efecto de la concentración de biomasa y boquillas sobre la remoción de fenol.	83
Figura 37. Diagrama de fase del efecto de la concentración de biomasa y boquillas sobre la remoción de fenol.	84
Figura 38. Ventana de bienvenida_Software EcoBioSystem	85
Figura 39. Ventanas principales del software EcoBioSystem. (a) ventana escenario (b) Ventana de caracterización del afluente (c) Ventana de vectores de valores (d) Ventana resultados graficados (e) Ventana resultados tabulados.	88
Figura 40. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala piloto. TRH=18 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 144 horas.	90
Figura 41. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala piloto. TRH=12 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 120 horas.	91
Figura 42. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=18 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 126 horas.	93
Figura 43. Prueba de validación en la 4008 sistema en continuo. TRH=18 horas Tiempo de prueba=126 horas	93
Figura 44. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=12 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 146 horas.	94
Figura 45. Prueba de validación en la 4008 sistema en continuo. TRH=12 horas Tiempo de prueba=126 horas.	94
Figura 46. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=18 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 146 horas.	95
Figura 47. Perfiles de pH. TRH=18 horas Tiempo de prueba=146 horas.	95
Figura 48. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REA TRH=12 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 146 horas.	96
Figura 49. Perfiles de pH. TRH=12 horas Tiempo de prueba=146 horas	96

Figura 50. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=7,5 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 50 horas. 97

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Niveles típicos de concentración de fenol en aguas residuales de algunas industrias.	13
Tabla 2. Ventajas y desventajas de los procesos aerobios y anaerobios	14
Tabla 3. Resumen de constantes cinéticas para biodegradación de fenol (Ec. Haldane)	20
Tabla 4. Nomenclatura	37
Tabla 5A. Descripción de los bio-reactores de cada sistema: GRB y Planta piloto	38
Tabla 5B. Descripción de las principales corrientes del bio-reactor de la refinería de Barrancabermeja	39
Tabla 6. Concentraciones de fenol y tiempos de monitoreo para la evaluación de la concentración inicial de fenol en el proceso de biodegradación.	44
Tabla 7. Variables a ser monitoreadas en el proceso de biodegradación de fenol con diferentes concentraciones iniciales de fenol.	45
Tabla 8. Concentraciones de fenol y tiempos de monitoreo para la evaluación de la concentración inicial de fenol en el proceso de biodegradación.	45
Tabla 9. Valores de estudio para el TRH y la inyección de oxígeno al sistema.	46
Tabla 10. Variables monitoreadas en la validación del proceso continuo de biodegradación de fenol en aguas residuales.	47
Tabla 11. Parámetros cinéticos del modelo de Monod y Haldane para el proceso de biodegradación de fenol usando un pool de <i>Pseudomonas putida</i> .	51
Tabla 12. Descripción del sistema de aireación para GRB	57
Tabla 13. Diagramas flujo-nivel de los modelos de simulación desarrollados.	69

PLANTEAMIENTO Y DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO DEL PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE FENOL EN AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES DE REFINERIAS DE PETRÒLEO*

María Angélica Martínez Mendoza **

Palabras claves: Biodegradación, fenol, tratamiento biológico, modelamiento, simulación.

Resumen

El presente trabajo consistió en el estudio y planteamiento de un modelo matemático del proceso en continuo de biodegradación de fenol que toma parte en el tratamiento de aguas residuales industriales de las principales refinerías de la empresa ECOPETROL, donde el agua residual, proveniente de los diferentes efluentes de procesos, es sometida a un proceso biológico utilizando un pool de *Pseudomonas putida*.

En el estudio se realizó la determinación y evaluación de los principales fenómenos y variables del proceso y se planteó un modelo matemático global que describe la biodegradación de fenol; Para la cinética de crecimiento celular se utilizó la ecuación de Haldane. Este estudio incluyó la determinación de los parámetros cinéticos, la determinación del efecto de algunos compuestos inhibitorios presentes en las aguas de tratamiento y la evaluación de condiciones operacionales como pH y suministro de oxígeno.

El conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias simultáneas obtenidas a partir del planteamiento del modelo matemático, fue resuelto mediante el método de diferenciación numérica Runge-Kutta de cuarto orden, utilizando Matlab 6.5. En paralelo, se diseñó una aplicación software, como herramienta metodológica. El desarrollo del modelo permitió evaluar la influencia de las diferentes variables tenidas en cuenta, e identificar aquellas que intervienen de una mejor forma en la eficiencia del proceso, lo cual ha permitido evaluar oportunidades de mejoramiento del proceso actual de remoción de compuestos fenólicos de aguas residuales industriales.

* Proyecto de Postgrado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas, Escuela de Ingeniería Química Director: Rodrigo Torres Sáez.

KINETIC MODELLING AND DYNAMIC SIMULATION OF PHENOL BIODEGRADATION OF PETROLEUM REFINERY EFFLUENTS IN COLOMBIA*

María Angélica Martínez Mendoza **

Keywords: Phenol biodegradation, Numeric Simulation, Haldane, wastewater.

Phenol biodegradation process has been widely studied with different types of microorganisms. Within the microorganisms able to degrade phenol, include anaerobic and aerobic bacteria, especially from the *Pseudomonas* sp. genera.

Phenol biodegradation is a process which is competitively inhibited by high phenol concentrations, where Haldane kinetic model is frequently used to describe microbial growth. The kinetic modelling and dynamic simulation give us an effective tool to predict system behavior of phenol biodegradation processes, establish mathematical correlations and develop control systems for many process variables in the improvement of the biodegradation process.

In this work, we develop a mathematical model in a continuous operation mode. The phenol biodegradation process was studied in the industrial complex from the petroleum refinery of the city of Barrancabermeja, Colombia. The kinetic model includes a Haldane microbial growth model for phenol biodegradation and the effect of different environmental variables such oxygen variation, inhibitors such as ammonia and hydrogen sulphide, among others. Mass and energy balances were developed for ammonia, hydrogen sulphide, oxygen supply, biomass, phenol and hydrogen ions in a continuous culture mode. Moreover, the kinetic parameters were determined from the operation data at lab, pilot and industrial scale. The bioprocess was dynamically simulated by means of simultaneous ordinary differential equations through system correlations. Furthermore, mathematical equations were solved by numerical methods and using finite differences through MatLab 6.5 Software. Finally, the simulation runs were validated with experimental data obtained from the phenol biodegradation process in the petroleum refinery waste-water plant.

* Proyecto de Postgrado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas, Escuela de Ingeniería Química Director: Rodrigo Torres Sáez.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Últimamente, se ha generado un gran interés por el cuidado del medio ambiente y la mitigación de los efectos de la contaminación ambiental generados por la actividad industrial. Entre las actividades que generan compuestos de mayor poder contaminante para el medio ambiente y toxicidad para los ecosistemas se encuentran aquellas que llevan a cabo procesos petroquímicos. Así por ejemplo, las aguas residuales provenientes de los procesos de refinación de petróleo contienen compuestos fenólicos, que por su toxicidad, generan problemas en los ecosistemas donde son vertidos, incluso a muy bajas concentraciones (< 1 ppm). Es por ello que estas aguas deben ser tratadas, antes de ser vertidas a los cuerpos de agua receptores. Para el tratamiento de aguas contaminadas con compuestos fenólicos se pueden hacer uso de tecnologías de tratamiento químico y biológico. Sin embargo, desde un punto de vista técnico-económico resulta más factible el uso de tecnologías de tratamiento biológico. Estos bio-procesos se conocen indistintamente como biodegradación o biorremediación. En estos sistemas de tratamiento, un grupo de microorganismos – normalmente un consorcio de ellos, denominado “pool”- puede biodegradar los contaminantes orgánicos presentes en diferentes tipos de matrices, tales como; suelo, agua, o incluso aire.

El proceso de biodegradación de fenol ha sido ampliamente estudiado, y se cuenta con abundante información de este bioproceso en la literatura científica. Se ha encontrado que existen grupos de bacterias, generalmente aerobias - del género *Pseudomonas sp*- capaces de adaptarse y degradar compuestos aromáticos, tales como el fenol, el cual lo utilizan como fuente principal de carbono y energía.

En este marco, y como parte de su política ambiental, la empresa Colombiana de Petróleos, ECOPETROL, a través del Instituto Colombiano del Petróleo, ha desarrollado un proceso biológico para el tratamiento de las aguas residuales de las refinerías de Barrancabermeja (GCB) y Cartagena de Indias (GRC), utilizando para ello un consorcio bacteriano altamente especializado en la biotransformación de compuestos fenólicos. No obstante, en el último tiempo ha surgido la necesidad de optimizar el proceso de biodegradación del fenol debido a dos aspectos: primero, la necesidad de cumplir con las nuevas normas de regulación ambiental de vertimientos (especialmente en lo que se refiere a las concentraciones mínimas de fenol permitidas en los efluentes, 0.2 ppm), y segundo, por las condiciones actuales de procesamiento de petróleo, las cuales generan grandes volúmenes de agua de proceso que deben ser tratadas en las plantas de tratamiento de efluentes de refinación de petróleo.

Debido a la complejidad intrínseca que presenta el proceso de biodegradación de fenol, el cual es afectado por una gran variedad de variables y condiciones ambientales, es necesario desarrollar una aproximación del bio-proceso a partir del modelamiento y la dinámica de sistemas, para lograr una mejor comprensión del fenómeno global, así como de los fenómenos individuales identificados

La descripción del crecimiento microbiano y la cinética de biodegradación de sustratos, comúnmente el fenol, ha sido el objetivo principal en numerosos estudios, por lo que la generación de modelos cinéticos que describan la cinética de crecimiento celular, permiten entender el proceso de biodegradación microbiana así como establecer modelos de diseño de los reactores para el tratamiento biológico de diferentes compuestos.

Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo, plantear y desarrollar un modelo matemático no-estructurado, que describa mediante las principales variables, el proceso de biodegradación de fenol de la línea de tratamiento de las aguas residuales industriales de la refinería de Barrancabermeja.

El modelo contiene una ecuación cinética que describe el proceso biológico de degradación de fenol y todas aquellas variables del sistema que afectan la cinética de biodegradación, como presencia y concentración de inhibidores, temperatura, pH, concentración de oxígeno, etc. El desarrollo del modelo matemático pretende lograr una mayor comprensión del bio-proceso y una aproximación descriptiva del proceso de biotransformación de fenol en aguas residuales industriales de la empresa petrolera.

JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Teniendo en cuenta que el metabolismo de un compuesto en una mezcla compleja de sustratos, se ve afectado por los otros constituyentes presentes en ella, es preciso entender cuales son los efectos e interrelaciones de cada uno de dichos componentes sobre el metabolismo celular. Para ello se debe considerar el papel metabólico que cada compuesto (por ej. un contaminante) juega en el proceso de biodegradación microbiana, y así elucidar las razones para que se reduzca la velocidad y eficiencia del proceso de biodegradación de fenol. Entre estos componentes se encuentran: inhibición competitiva de sustratos y/o productos de reacción, concentración de oxígeno disuelto, condiciones de pH y temperatura, entre otros. El entendimiento de las interrelaciones mencionadas se logra mediante la estructuración de modelos matemáticos que simulen el proceso de biodegradación. En consecuencia, es necesario que se establezcan modelos de predicción del proceso de biodegradación de fenol en las refinerías, de tal forma, que a corto plazo, se produzcan acciones concretas de mejoramiento que permitan una mayor eficiencia del proceso de biodegradación de fenol.

Con el desarrollo de este proyecto se pretende contar con una herramienta metodológica que permita predecir el proceso de biodegradación de fenol de las refinería de Barrancabermeja (GCB), de tal forma que sea posible predecir eventos que perturben el sistema biológico, principalmente a través de cambios en las condiciones operacionales (situaciones comunes que se presentan en operación industrial) del sistema de biodegradación. De esta forma, se podrán tomar las medidas necesarias para mitigar el impacto ambiental causado por operacionales fuera de los rangos de diseño.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Modelar y simular el proceso continuo de biodegradación de fenol de forma no-estructurada al proceso de remoción de fenol en las aguas residuales industriales de la refinería de Barrancabermeja (GCB).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Plantear y desarrollar un modelo matemático del bioproceso mediante ecuaciones diferenciales ordinarias simples a partir de las principales variables.
- Establecer un modelo cinético para la biodegradación de fenol, determinar los parámetros cinéticos y evaluar los efectos de los principales compuestos inhibitorios del bio-proceso, identificados en las aguas residuales industriales de la refinería, de forma experimental.
- Evaluar el efecto de variables de operación como pH, oxígeno inyectado, tiempo de retención hidráulico y determinar las mejores condiciones de operación del proceso de biodegradación mediante la simulación del mismo. Redactar mejor esta frase
- Validar el modelo a escala piloto e industrial de tal forma que el modelo matemático desarrollado, para el proceso continuo de biodegradación de fenol en aguas residuales, permita la interacción virtual con el bio-proceso bajo diferentes escenarios de operación.

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de los residuos contaminantes y sustancias tóxicas liberados en las aguas residuales de algunas industrias producen efectos nocivos en el medio ambiente. Las aguas residuales provenientes de los procesos de refinación de petróleo, pueden contener compuestos fenólicos, que por su toxicidad generan problemas en los ecosistemas acuáticos, por lo que estas aguas deben ser tratadas antes de vertirse a los cuerpos de agua receptores.

Algunos métodos conocidos para el tratamiento de estos residuos incluyen métodos químicos y biológicos, tales como biodegradación, adsorción con carbón activado, adsorción con resinas, oxidación química, oxidación catalítica, extracción con solventes, fotooxidación catalítica, extracción e incineración, entre otros]. El tratamiento de estos compuestos orgánicos implica, por lo general, tratamiento biológico, donde un grupo de microorganismos previamente seleccionados y bajo condiciones adecuadas logra biodegradar estos compuestos.

El proceso de biodegradación de fenol ha sido ampliamente estudiado, se ha encontrado que existen grupos de bacterias, generalmente aerobias, capaces de adaptarse y de degradar compuestos aromáticos, siendo el fenol uno de los compuestos más comunes como principal fuente de carbono y energía.

El proceso de biodegradación del fenol en refinerías es un proceso bastante complejo, el cual puede ser considerado como un sistema que es afectado por una serie de variables y condiciones ambientales inherentes al bioproceso.

La simulación surge como una de las herramientas más utilizadas hoy en día para predecir comportamientos de diferentes sistemas. En el presente trabajo el conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias simultáneas obtenidas a partir del planteamiento del modelo matemático, son resueltas mediante diferencias finitas utilizando Matlab 6.5.

El planteamiento de un modelo matemático y la determinación de un modelo cinético para el proceso de biodegradación de fenol se evaluó mediante la relación entre la velocidad específica de crecimiento celular y la concentración de fenol, para lo cual se usó el modelo cinético propuesto por Haldane, uno de los modelos frecuentemente utilizados para describir la degradación de este tipo de compuestos aromáticos en un amplio rango de concentración inicial. A partir del planteamiento del modelo matemático se determinaron los parámetros cinéticos y se evaluaron los efectos de componentes relevantes en el proceso de biodegradación de fenol tales como Amonio, Sulfuro e Hidrocarburo presentes en las corrientes de agua de tratamiento. Los resultados obtenidos permitieron tener una visión general del proceso y establecer correlaciones entre las variables tenidas en cuenta en el modelamiento del proceso de biodegradación de fenol.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El aumento de los residuos contaminantes y sustancias tóxicas liberados en las aguas residuales de algunas industrias producen efectos nocivos en el medio ambiente (Alexander, 1981). Hoy en día, la preservación del medio ambiente se ha convertido en una cuestión clave a nivel mundial, ya que con frecuencia está vinculado a la calidad de vida. Además, los impactos de la contaminación han dado lugar a una intensa investigación científica. La remoción de los compuestos contaminantes de los efluentes industriales ha incentivado la investigación en diferentes campos y el aumento de la concientización sobre el medio ambiente, en los países desarrollados y en desarrollo, ha puesto en marcha más estudios sobre las posibles soluciones para el tratamiento de estos compuestos.

Las aguas residuales industriales provenientes de los procesos de refinación de petróleo, pueden contener compuestos fenólicos, que por su toxicidad generan problemas en los ecosistemas acuáticos (Keith, 1976; Parkhurst *et al.*, 1979). De acuerdo con Prasad y Ellis (1978), los fenoles y sus derivados son los contaminantes más frecuentemente encontrados en ríos, efluentes industriales y vertederos de aguas. Es por esta razón, que estos efluentes deben ser tratados antes ser vertidos a los cuerpos de agua receptores (Metcalf y Eddy, 1977; Bayles J. y Ollis D., 1986; Watson I.A *et al.*, 2005; Ojumu T.V *et al.*, 2005; Alagappan G y Cowan R.M, 2004; Kumar A. *et al.*, 2004; Afzal M. *et al.*, 2007).

2.1 Fenol

El petróleo en su estado natural es una mezcla de compuestos orgánicos de estructura variada y de pesos moleculares diferentes. En general, es posible

agrupar los constituyentes del petróleo en cuatro grupos orgánicos: saturados, aromáticos, resinas (quirolinas, sulfóxidos y amidas) y asfáltenos (fenol, ácidos grasos, cetonas y esterés) (Colwell y Walker, 1977). El fenol es un producto químico industrial utilizado ampliamente en la industria farmacéutica, refinerías, manufacturas de resina, plásticos, explosivos y herbicidas y que por tanto puede estar presente en sus aguas residuales (Lenke *et al.*, 1992; Marvin-Sikkena y De Bont, 1994; Yang *et al.*, 1998).

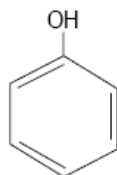


Figura 1. Estructura química del fenol (Fuente:

El fenol presenta alta solubilidad en agua, baja presión de vapor a temperatura ambiente y su presencia produce en el agua características de olor, sabor y color desagradables; La presencia de fenol en agua de consumo o aguas de irrigación representa un alto peligro para la salud de humanos, animales, plantas y microorganismos (Shailubhai, 1986; Salonen *et al.*, 1989; Sharma *et al.*, 1997). El fenol presenta alta toxicidad en los sistemas acuáticos desde muy bajas concentraciones; Dosis exposición máxima: 5mg/l y dosis letal: 1.5mg (Seetharam y Saville, 2003). Es fácilmente absorbido a través de la piel, o las mucosas. Su acción corrosiva mata las terminaciones nerviosas. El hígado, los pulmones y la mucosa gastrointestinal constituyen los sitios más importantes del metabolismo fenólico (OMS, 1994).

El fenol es fácilmente biodegradable en aguas naturales, mientras la concentración no sea tan alta para causar inhibición. Han sido reportados degradaciones de fenol en un tiempo inferior a un día para aguas de lagos (Rubin y Alexander, 1983) y para ríos, entre 2 y 4 días, dependiendo la

temperatura (Ludzack y Ettinger, 1960). El fenol y sus derivados son algunos de los componentes más tóxicos presentes en las aguas residuales industriales (Watanabe *et al.*, 1996b; Peters *et al.*, 1997) y comúnmente en los efluentes de las aguas industriales de las refinerías de petróleo (Pfeffer, 1979).

El fenol es clasificado como un contaminante con prioridad de tratamiento, por su alta toxicidad y su amplia difusión de sucesos en el medio ambiente. Actualmente es clasificado por la EPA como químico persistente y bioacumulativo.

En cuanto a vertimientos líquidos, en Colombia, el artículo 74-decreto 1594 del 26 de Junio de 1984 reglamenta que la concentración para el control de la carga en el caso de compuestos fenólicos, fenol, es de 0.2 mg/l.

En la tabla 1. se muestran los niveles de concentración de fenol en aguas residuales de algunas industrias.

2.2 Tratamiento de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos llegan a los cursos de agua como efluentes de algunas industrias, tales como las de plásticos, fibras sintéticas, refinerías de petróleo, detergentes, pesticidas, pinturas, farmacéuticas, etc.

Algunos métodos conocidos para el tratamiento de estos residuos incluyen tanto métodos físico-químicos como biológicos, entre los que se cuentan la biodegradación, adsorción con carbón activado, adsorción con resinas, oxidación química, oxidación catalítica, extracción con solventes, fotooxidación catalítica, extracción e incineración, entre otros (Figura 2) (Metcalf y Eddy, 1997; Bayles J. y Ollis D., 1986; Howard P. *et al.*, 1985)

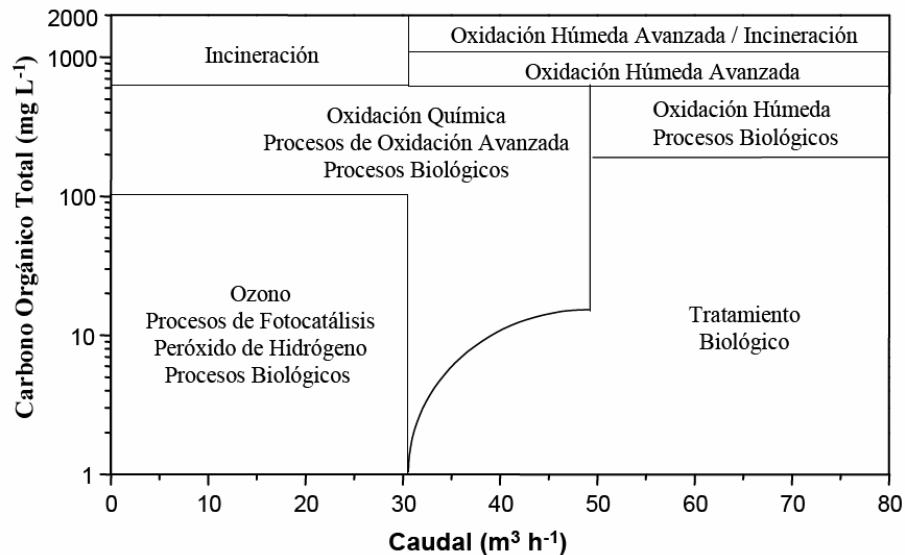


Figura 2. Técnicas comunes en el tratamiento de compuestos orgánicos. Fuente: Ref. 23

El fenol es un compuesto tóxico para los microorganismos, pero también es una fuente de carbono y energía para la biomasa aclimatada. Una ruta típica para metabolizar un compuesto aromático es dihidroxilar el anillo de benceno para formar un derivado de catecol- y luego generar la apertura del anillo bencénico por oxidación (Figura 3). El tratamiento biológico de aguas residuales fenólicas es especialmente recomendable ya que permite degradar dichas sustancias generando productos finales inocuos. La mayoría de los estudios realizados sobre la biodegradación de fenol se han llevado a cabo en cultivos puros y mixtos de microorganismos bajo condiciones de esterilidad (Pawloswsky U. y J.A Howell, 1973; Hill G.A y C.N Robinson, 1975; Livingston y H.A Chase, 1989; Szetela R.W y T.Z Winnicki, 1981; Tang W.T y L.S Fan 1987; Monteiro A. *et al.*, 2000; Reardon K.F *et al.*, 2002; Ojumu T.V *et al.*, 2005; Kumar A. *et al.*, 2005; kumaran P. y Paruchuri L., 1997). La obtención de parámetros cinéticos y estequiométricos correspondientes a la degradación biológica de los compuestos presentes en las aguas residuales industriales,

resulta necesaria para el adecuado diseño y operación de los sistemas de biotratamientos.

2.2.1 Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos consisten en la degradación de compuestos orgánicos a partir de un grupo de microorganismos, generalmente un consorcio de ellos, llamado comúnmente “pool”, el cual es previamente seleccionado y bajo condiciones adecuadas, logra biodegradar estos compuestos contaminantes. Se han llevado a cabo numerosos estudios sobre tratamientos biológicos para la remoción de diferentes compuestos orgánicos, con el fin de encontrar alternativas de remoción de los contaminantes presentes en diferentes afluentes y a su vez encontrar opciones de mejoramiento de los procesos de tratamiento existentes (Kumaran *et al.*, 1996; Ojumu T.V *et al.*, 2004; Peyton *et al.*, 2002; Feikenhauer *et al.*, 2001; Lapara y Allegan, 1998).

Tabla 1. Niveles típicos de concentración de fenol en aguas residuales de algunas industrias.

Fuente: Ref. 55

Selected industry	Phenol concentration (mg L ⁻¹)	Reference
Phenol production	3,000-4000	Godjevargova <i>et al.</i> , 2003
Pulp and paper	33.1-40	Peralta-Zamora <i>et al.</i> , 1998; Minussi <i>et al.</i> , 1998
Textile	12.3	Kunz <i>et al.</i> , 2001
Olive oil mill	3000-10,000	Klibanov <i>et al.</i> , 1983; Borja <i>et al.</i> , 1992; Hamdi, 1992; Martinez-Neito <i>et al.</i> , 1992; Knupp <i>et al.</i> , 1996; Robards and Ryan, 1998
Coal conversion plant	4-4780	Parkhurst <i>et al.</i> , 1979
Shale oil wastewater	4.5	Hawthorne and Sievers, 1984
Ash-heap water (oil shale)	500	Kahru <i>et al.</i> , 1998
Phenolic resins production	1200->10,000	Patterson, 1985; Kavitha and Palanivelu, 2004
Methyl violet and cumene-phenol production	310-660	Kanekar <i>et al.</i> , 1999
Chemical specialities-manufacturing	0.01-0.30	Jungclaus <i>et al.</i> , 1978
Petroleum oil refinery	33.5	Pfeffer, 1979

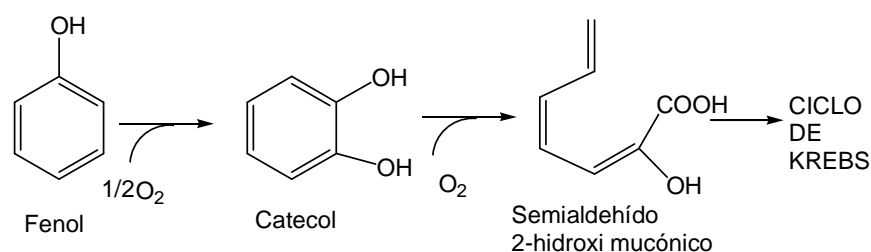


Figura 3. Ruta metabólica típica de biotransformación de fenol por *Pseudomonas*.

Los procesos biológicos se clasifican de acuerdo con la cantidad de oxígeno disuelto disponible en el sistema de tratamiento: procesos aerobios, anaerobios y facultativos. Los procesos biológicos que se dan en presencia de oxígeno se denominan aerobios, mientras que aquellos que se llevan a cabo con ausencia de oxígeno disuelto se denominan anaerobios. Existen también procesos facultativos, en los que los organismos responsables pueden funcionar en presencia o ausencia de oxígeno disuelto (Metcalf y Eddy, 1977; Bayles J. y Ollis D., 1986).

Tabla 2. Ventajas y desventajas de los procesos aerobios y anaerobios

PARÁMETRO	AEROBIOS	ANAEROBIOS
Energía	Alto	Bajo
% Eliminación	> 95 %	60-90 %
Producción de fangos	Alta	Baja
Estabilidad	Moderada-alta	Baja-moderada
Puesta en marcha	2-4 semanas	2-4 meses
Generación de olores	Menor	Mayor
Alcalinidad	Baja	Alta
Generación de biogás	No	Sí
Presencia de nutrientes	Puede ser alta	Baja

La mayoría de los procesos de tratamiento biológico son procesos aerobios, principalmente debido a las ventajas que estos procesos presentan frente a los anaerobios. Sin embargo, se utilizan también los tratamientos anaerobios, ya que juegan un papel importante en la degradación de contaminantes orgánicos. En la Tabla 2 se indican las ventajas y desventajas de estos procesos.

Los procesos biológicos se pueden dividir, a su vez, en sistemas de cultivo en suspensión, en sistemas de cultivo fijo, o en sistemas resultantes de la combinación de ambos. Los procesos de cultivo en suspensión pueden definirse como los procesos de tratamiento biológico en los que los microorganismos convierten materia orgánica u otros constituyentes del agua residual en gases y biomasa celular, manteniéndose en suspensión dentro del líquido. En los

procesos de cultivo o biopelícula fija, los microorganismos que realizan la bioconversión están inmovilizados a un medio inerte diseñado especialmente para cumplir con esta función (Metcalf y Eddy, 1977; Bayles J. y Ollis D., 1986).

El tratamiento biológico es una solución práctica y económica para tratar aguas residuales industriales que contienen sustancias orgánicas biodegradables, mediante el uso de diferentes poblaciones de microorganismos. Sobre esto, han sido reportados algunos trabajos que evalúan varios métodos y concluyen ventajas de los tratamientos biológicos frente a los tratamientos físicos y químicos, en gran parte por sus bajos costos y menor impacto sobre el medio ambiente (Head, 1998; Edington, 1994).

Se ha encontrado que existen grupos de bacterias, generalmente aerobias, capaces de adaptarse y de degradar compuestos aromáticos tales como el fenol, el cual lo usan como principal fuente de carbono y energía para su crecimiento microbiano. Las especies frecuentemente utilizadas para ello son bacterias del género *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Rhomobacterium*, *Azobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus alkaligenes*, *arthobacter*, *Mycobacterium*, *Aeromonas*, *Nocardia* y *Lophomonas* (Reardon *et al.*, 2000; Ojumu T.V *et al.*, 2005; Alagappan G y Cowan R.M, 2004; Peyton B.M *et al.*, 2002; Magbanua B.S *et al.*, 1994; Orupold K. *et al.*, 2001; Onysko K.A *et al.*, 2000; Feikenhauer *et al.*, 2001; Afzal M. *et al.*, 2007; Santos P.M y Sá-Carrera I. 2007).

El tratamiento biológico de compuestos fenólicos no es un proceso sencillo, debido a la propiedad del fenol de ser en sí mismo un sustrato tóxico para los microorganismos. El efecto inhibitorio sobre el crecimiento celular es producido generalmente a partir de concentraciones del orden de los 100 ppm.

Los límites del proceso biológico son determinados por la adaptación de la biomasa celular para degradar fenol y a la variabilidad de las concentraciones de las aguas residuales. Buitron *et al.* (2002) estudiaron algunos

microorganismos capaces de biodegradar fenol y encontraron cuatro tipos de bacterias capaces de biotransformar este tipo de compuestos, tales como: *Aeromonas sp*, *Pseudomonas sp*, *Flavomonas oryzihabitans* y *Chryseomonas luteola*. No obstante, se han reportado muchas otras especies de microorganismos capaces de biotransformar fenol. A su vez, *Alexieva et al.* (2004) demostraron que el microorganismo *T. cutaneum R57* presenta muy buenas propiedades para la degradación de fenol; En su trabajo, son especificadas y usadas para sus estudios, dos especies de bacterias: *Rhodococci spp* y la *Pseudomonas putida*, presentando esta última un mayor potencial de degradación de fenol. Los resultados obtenidos en estudios de diferentes especies para biodegradación de fenol son similares, por esta razón esta especie es muy frecuentemente utilizada en la biodegradación de fenol (*Kumar et al.*, 2004; *Reardon et al.*, 2000; *Ojumu et al.*, 2004; *Seker et al.*, 1996; *Monteiro et al.*, 2000; *Bracho et al.*, 2004].

En cuanto a la utilización de cultivos puros o mixtos, la opinión está dividida, en cuyo caso se discute ampliamente la eficiencia en la degradación de compuestos fenólicos para ambos casos. Como ejemplo, *Annadurai et al.* (2004), en uno de sus estudios realiza un estudio comparativo entre varios tipos de cultivo, su trabajo concluye que los cultivos mixtos tienen un mejor desempeño que lo observado para cultivos puros.

2.3 Crecimiento microbiano

Cuando se siembran microorganismos en un medio de cultivo apropiado, los microorganismos comienzan a dividirse activamente empleando los nutrientes que les aporta el medio de cultivo para generar nuevos microorganismos. Este proceso continúa hasta que algún nutriente del medio de cultivo se agota (sustrato limitante) y el crecimiento se detiene. También puede detenerse el

crecimiento por acumulación de alguna sustancia inhibidora formada por los mismos microorganismos (Metcalf y Eddy, 1977; Bayles J. y Ollis D., 1986).

Hay dos aspectos claramente diferenciables que hacen al crecimiento microbiano: uno estequiométrico, por el cual la concentración final de microorganismos obtenidos dependerá de la concentración y composición del medio de cultivo, y el otro cinético, el que dirá con qué velocidad se lleva a cabo el proceso.

2.3.1 Cinética de crecimiento

Debido a la naturaleza autocatalítica del crecimiento microbiano, es lógico suponer que la concentración de microorganismos, X , influye en la velocidad con que aumenta la población, r_x así:

$$r_x = \mu X \quad (1)$$

En esta ecuación, μ es la velocidad específica de crecimiento, la cual para un tipo de microorganismo dado, depende principalmente de la composición y concentración del medio de cultivo, presencia de inhibidores, temperatura y pH.

La relación entre la velocidad específica de crecimiento celular de una población de microorganismos y su relación con la concentración de sustrato es una valiosa herramienta en biotecnología. La idea de cinética de crecimiento microbiano ha sido dominada por un modelo empírico originalmente propuesto por Monod (1942). Este modelo introduce el concepto de un crecimiento celular limitado por el sustrato. Esta ecuación ha sido ampliamente utilizada para describir la degradación de contaminantes orgánicos en sistemas acuáticos (Kumaran et al., 1996); La versatilidad de la ecuación de Monod es atribuida a su habilidad para describir con gran precisión algunos sistemas biológicos siguiendo cinéticas de primer orden. La ecuación de Monod (ecuación 2), sin embargo, es criticada por las desviaciones de la velocidad específica de

crecimiento a bajas y altas concentraciones de sustrato (Shishido y Toda, 1996).

$$\mu = \mu_M \frac{S}{K_S + S} \quad (2)$$

Donde S es la concentración de sustrato limitante, μ_M es la velocidad de crecimiento específica máxima, y K_S se conoce como constante de saturación.

Cuando un sustrato inhibe su propia biodegradación, la cinética de Monod llega a no describir muy bien el proceso. Sin embargo, algunos modelos corrigen la inhibición del sustrato a partir de la ecuación de Monod con la introducción de una constante de inhibición. Entre ellos, la ecuación de Haldane (ecuación 3) es la más frecuentemente utilizada, resultando ser una muy buena representación de los datos experimentales obtenidos en los estudios mencionados sobre biodegradación de compuestos aromáticos tales como fenol, tolueno y benceno (Kumar *et al.*, 2004; Kumaran *et al.*, 1996; Marrot *et al.*, 2006; Arutchelvan *et al.*, 2005; Tziotzios G. *et al.*, 2007; Yan Jiang *et al.*, 2007).

$$\mu = \mu_M \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_I}} \quad (3)$$

Donde S es la concentración de sustrato limitante, μ_M es la velocidad de crecimiento específica máxima, K_S se conoce como constante de saturación y K_I corresponde a la constante de inhibición para el sustrato.

Existe información sobre la inhibición causada por algunos sustratos, con especiales referencias sobre el fenol, como uno de los compuestos más comunes en estudio de biodegradación de compuestos aromáticos. El efecto de la concentración inicial de fenol, la inhibición natural del fenol a altas concentraciones y la cinética de crecimiento de cultivos puros y mixtos a partir de fenol, ha sido estudiada por numerosos autores, que describen por varios modelos, las anteriores variables en el proceso de degradación, para el caso particular de remoción de fenol (Livingstone y Chase, 1989; Pawlowsky y

Howell, 1973; Seker *et al.*, 1997; Yang y Humphrey, 1975; Kumar *et al.*, 2004; Tziotzios G. *et al.*, 2007; Saravanan P. *et al.*, 2008; Ozlem Tepe y Aarhus Y. Durson, 2007; Yan Jiang *et al.*, 2007; Tziotzios G. *et al.*, 2007; Afzal M. *et al.*, 2007). Aunque algunos de los modelos utilizados en estos trabajos son empíricos, describen satisfactoriamente los datos obtenidos experimentalmente.

Pawlowsky y Howell (1973) observaron diferencias no significativas entre cinco modelos de inhibición propuestos en su estudio. Yang y Humphrey (1975) reportan estudios similares para comparar la ecuación de Haldane con otros dos modelos propuestos, y describir la degradación de fenol a partir de *Pseudomonas putida* y *Trichosporon cutaneum*. En la mayoría de los trabajos reportados, el segundo parámetro de la ecuación de Haldane (K_i) fue reportado como la mejor representación de los datos experimentales en la degradación de fenol a partir de un cultivo mixto.

Ojamu *et al.* (2004) compararon dos tipos de especies de *Pseudomonas* para la biodegradación de fenol en un reactor batch: *P. aeruginosa* y *P. fluorescens*. El fenol fue degradado por las dos especies, sin embargo, la especie *P. aeruginosa* degradó completamente el fenol en 60 horas, mientras que la otra tomó 84 horas. Este trabajo reporta el estudio comparativo de estas dos especies, en el cual los parámetros cinéticos fueron determinados para ambas especies a partir de la ecuación de Haldane. Monteiro *et al.* (2000) reportan el estudio de la biodegradación del fenol a partir de *Pseudomonas putida* DSM548 en un reactor batch; En su trabajo determinaron los parámetros cinéticos siguiendo una cinética de Haldane, y los resultados incluyen un estudio comparativo de las constantes cinéticas con trabajos reportados de biodegradación de fenol a partir de cultivos puros y mixtos. En la tabla 3 se incluyen los parámetros cinéticos reportados para estudios de biodegradación de fenol a partir de cultivos mixtos y/o puros.

Tabla 3. Resumen de constantes cinéticas para biodegradación de fenol (Ec. Haldane)

<i>Cultivo</i>	$\mu_M(h^{-1})$	<i>K_s</i> (mg·l ⁻¹)	<i>K_i</i> (mg·l ⁻¹)	<i>T</i> (°C)	<i>pH</i>	<i>Ref.</i>
Mixto I	0.260	25.4	173	28	6.6	Pawloswsky U. y Howell J.A (1973)
Mixto II	0.223	5.86	934.5	28	6.6	Pawloswsky U. y Howell J.A (1973)
Mixto	0.418	2.9	370	30	6.8	Livingston y H.A Chase (1989)
Mixto	0.326	19.2	229.3	20	6.8	Szetela R.W y Winnicki T.Z (1981)
Mixto	0.365	10.95	113	23	7.0	Tang W.T y Fan L.S (1987)
Mixto	0.542	36.2	145.0	-	-	Kumaran P. <i>et al</i> (1997)
<i>Pseudomonas putida</i> (MTCC 1194)	0.305	36.33	129.79	-	-	Kumar A. <i>et al</i> (2005)
<i>Pseudomonas p.</i> (DSM 548)	0.567	2.39	106.0	30	6	Yang R.D y Humphrey A.E (1975)
<i>Pseudomonas p.</i> (DSM 548)	0.436	6.19	54.1	26	6.8-6.3	Monteiro A. <i>et al</i> (2000)
<i>Pseudomonas</i> (DSM 50222)	0.534	< 1	470	30	6.7-6.2	Hill G.A y Robinson C.N (1975)

2.3.2 Curva de crecimiento. La curva del crecimiento bacteriano resulta de la representación gráfica de la determinación periódica del número de células viables por mililitro que existen en un líquido inoculado con células microbianas provenientes de un cultivo que ha crecido previamente hasta la saturación.

Dicha curva se divide en cuatro fases, como se representa en la figura 4.

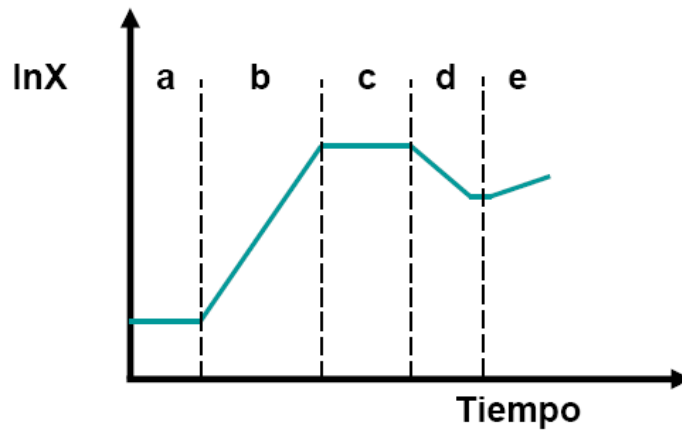


Figura 4. Curva típica de crecimiento bacteriano. Fuente: Ref. 41

FASE LAG O DE REZAGO Este periodo consiste en la adaptación de las células microbianas a su nuevo ambiente. En esta fase, las células microbianas se encuentran empobrecidas en cuanto a metabolitos y enzimas, esto debido a las condiciones desfavorables que representaba el cultivo previo. Por lo anterior, en este lapso de tiempo se forman las enzimas y los metabolitos intermedios hasta alcanzar las concentraciones necesarias para reiniciar el crecimiento. Este periodo se puede prolongar en el caso de que el medio de cultivo previo y las condiciones actuales resulten tan diferentes que las células sean genéticamente incapaces de sobrevivir, por lo que sólo unas cuantas mutantes podrán subsistir, y obviamente se requerirá más tiempo para que éstas se multipliquen lo suficiente y sea notorio el aumento de células.

FASE EXPONENCIAL Como el nombre lo indica, en esta fase las células se encuentran en un estado de crecimiento sostenido. Se sintetiza nuevo material celular a una tasa constante, pero éste material es en sí catalítico y la masa aumenta de manera exponencial. Lo anterior continúa hasta que uno o más nutrientes se agoten, o hasta que se acumule tal cantidad de metabolitos tóxicos que se inhiba el crecimiento.

Durante el crecimiento exponencial, la tasa de crecimiento de las células (medida en gramos de biomasa producida por hora), cuando el crecimiento no es limitado por los nutrientes, se puede obtener multiplicando la constante de la tasa de crecimiento (μ) por la concentración de biomasa. La constante de la tasa de crecimiento es la tasa a la cual las células producen más células, y el valor que esta toma se interpreta como los gramos de biomasa producidos por cada gramo de biomasa preexistente creados en una hora.

El crecimiento se denomina exponencial porque la biomasa se incrementa exponencialmente con respecto al tiempo. De lo anterior se deriva que, si graficamos el logaritmo de la concentración de la biomasa (o celular) en función del tiempo, como ocurre en la curva del crecimiento, obtendremos una línea recta como representación de esta fase.

FASE ESTACIONARIA Ante el agotamiento de nutrientes en el medio o la acumulación de metabolitos tóxicos, el crecimiento cesa por completo. No obstante, por lo general en esta fase se puede observar recambio celular, lo cual se debe a que, aunque existe una pérdida lenta de células por muerte, dicha pérdida se compensa exactamente por la formación de nuevas células a través de crecimiento y división. Así, la cifra de células viables se mantiene constante, aunque en realidad en el conteo aumente poco a poco el número de células, si se cuentan también las muertas. La duración de esta fase depende de la naturaleza del microorganismo y de las condiciones del medio.

FASE DE DECLINACIÓN O MUERTE CELULAR Esta fase, también conocida como fase de muerte, representa el decremento de células debido al aumento progresivo de la tasa de mortalidad, la misma que tarde o temprano alcanza un valor sostenido.

Por lo general, una vez que la mayoría de las células ha muerto, la tasa de mortalidad disminuye bruscamente, por lo que un número pequeño de

sobrevivientes pueden persistir en cultivo por meses o años. Dicha persistencia puede deberse a que las células consiguen crecer gracias a los nutrientes liberados por las células que mueren.

2.3.3 Factores físicos y químicos que influyen en el crecimiento bacteriano.

- **Temperatura:** Cada microorganismo tiene una temperatura de crecimiento adecuada. Si se considera la variación de la velocidad de crecimiento en función de la temperatura de cultivo (figura 6), se puede observar una temperatura mínima por debajo de la cual no hay crecimiento; a temperaturas mayores se produce un incremento lineal de la velocidad de crecimiento con la temperatura de cultivo hasta que se alcanza la temperatura óptima a la que la velocidad es máxima. Por encima de esta temperatura óptima, la velocidad de crecimiento decae bruscamente y se produce la muerte celular (Metcalf y Eddy, 1977; Bayles J. y Ollis D., 1986).

El aumento de la velocidad de crecimiento con la temperatura se debe al incremento generalizado de la velocidad de las reacciones enzimáticas con la temperatura. Se denomina coeficiente de temperatura a la relación entre el incremento de la velocidad de crecimiento y el de temperatura. La falta de crecimiento a temperaturas bajas se debe a la reducción de la velocidad de las reacciones bioquímicas y al cambio de estado de los lípidos de la membrana celular que pasan de ser fluidos a cristalinos, impidiendo el funcionamiento de la membrana celular (Metcalf y Eddy, 1977; Bayles J. y Ollis D., 1986).

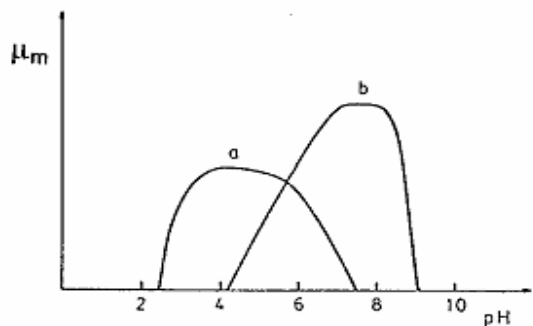


Figura 5. Efecto del pH sobre μ_m . Curva típica a) Hongos b) Bacterias.

Fuente: Ref. 41

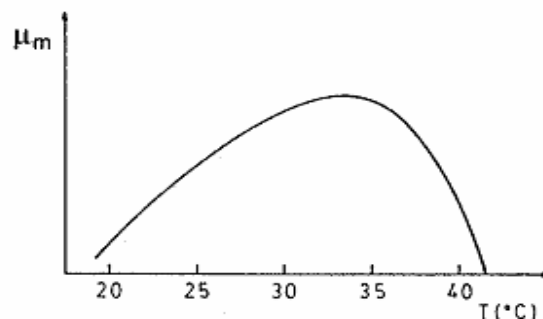


Figura 6. Efecto de la temperatura sobre μ_m para un microorganismo mesófilo.

Fuente: Ref. 41

- **pH:** Es un parámetro crítico en el crecimiento de microorganismos ya que cada tipo de microorganismo tiene un rango de pH en el que puede vivir adecuadamente, fuera de este rango el crecimiento es inhibido o puede ocurrir muerte celular (figura 5) (Metcalf y Eddy, 1977; Bayles J. y Ollis D., 1986).

El proceso de biodegradación de fenol es un proceso complejo, el cual puede ser considerado como un sistema que es afectado por una serie de variables y condiciones ambientales inherentes al bioproceso. Se han reportado estudios sobre el efecto de algunas variables físico-químicas en el estudio de biodegradación de compuestos aromáticos a partir de grupos específicos de microorganismos (Alagappan y Cowan, 2003). Se han desarrollado también estudios sobre los efectos de la temperatura y el pH (Onysko *et al.*, 2000; Kalyuzhnyi, 1996; Siano, 1999; Rosso *et al.*, 1994; Ballesteros M. *et al.*, 2007; Weijian Cai, *et al.*, 2007). Algunos autores reportan temperaturas óptimas y rangos de pH adecuados para llevar a cabo el proceso de biodegradación, tanto para microorganismos inmovilizados como para cultivos suspendidos. Cheng *et al.* (2005) determinaron una temperatura óptima de 30°C y dos diferentes valores de pH óptimo: 6.8 para cultivos inmovilizados y 8.0 para cultivos libres. Onysko *et al.* (2000) estudiaron el efecto de la temperatura sobre

el crecimiento celular en la biodegradación de fenol, utilizando un cultivo de *Pseudomonas putida* Q5 en el rango de 10-25°C. Los resultados muestran correlaciones de cada uno de los parámetros cinéticos de la ecuación de Haldane con la temperatura.

Otro parámetro importante en los procesos aerobios de biodegradación en aguas contaminadas con fenol lo constituye el oxígeno disuelto en el bio-reactor. Así por ejemplo, Murugesan y Ceja (2004) determinaron una correlación para el coeficiente de transferencia de masa de oxígeno en el proceso de biodegradación de fenol a partir de *Pseudomonas pictorum* (NCIM 2077). Se han reportado algunos trabajos similares sobre los coeficientes de transferencia de masa de oxígeno y las limitaciones en el oxígeno disponible en tratamientos biológicos aerobios (Melo *et al.*, 2004; Ozbek y Gayik, 2000; Gillot *et al.*, 2005; Galaction *et al.*, 2004; Alagappan y Cowan, 2003; Galíndez-Mayer J. *et al.*, 2007)

- **DBO** La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) se define usualmente como la cantidad de oxígeno que requieren las bacterias durante la estabilización de la materia orgánica susceptible de descomposición, en condiciones aeróbicas. La prueba de DBO se utiliza para determinar el poder contaminante de los residuos domésticos e industriales, en términos de la cantidad de oxígeno que requieren si son descargados a las corrientes naturales de agua en las que existen condiciones aeróbicas. Esta prueba es una de las más importantes en las operaciones de control de la contaminación de las corrientes. También tiene gran importancia para establecer los criterios de regulación, y para realizar estudios que evalúan la capacidad de purificación de cuerpos de agua receptores.

Los estudios de la cinética de las reacciones de la DBO han establecido que, para la mayoría de los fines prácticos, son reacciones típicas de “primer orden”,

es decir que la velocidad de la reacción es proporcional a la cantidad de la materia oxidable restante en cualquier momento, a medida que es modificada por la población de organismos activos. Una vez que la población de organismos ha alcanzado el nivel en el que sólo ocurren ligeras variaciones, la velocidad de la reacción es controlada por la cantidad de alimento disponible, y se puede expresar de la siguiente manera:

$$\frac{-dc}{dt} = K * C \quad (4).$$

C= DBO remanente en el agua para el tiempo t, (mg/l)

K= constante de reacción de DBO de primer orden (h^{-1})

t= tiempo de reacción (h)

dc/dt= tasa de cambio de DBO dentro del reactor.

El balance de masa para DBO, en un reactor biológico de mezcla completa y flujo continuo, esta dado por la ecuación (5):

Acumulación= Afluente – Efluente – Desaparición

$$\frac{Vd[DBO]}{dt} = F_0[DBO]_0 - F[DBO] - Vr \quad (5)$$

Para una tasa de remoción de DBO de primer orden se satisface la ecuación (6):

$$r = k[DBO] \quad (6)$$

Reemplazando en la ecuación (5) se obtiene la ecuación (7):

$$\frac{d[DBO]}{dt} = [DBO]_0 \left(\frac{F_0}{V} \right) - [DBO] \left(\frac{F}{V} \right) + K[DBO] \quad (7)$$

Donde:

V= volumen del reactor (l)

$(DBO)_o$ = DBO del afluente (ppm)

(DBO) = DBO efluente (ppm)

T = tiempo de reacción (h)

F = Flujo volumétrico (l/h)

K = constante de reacción de DBO de primer orden (h^{-1})

Para condiciones de estado permanente, concentración del efluente constante, se satisface $d(DBO)/dt = 0$. Por tanto,

$$(DBO)_o \left(\frac{F_o}{V} \right) - (DBO) \left(\frac{F}{V} \right) + K(DBO) = 0 \quad (8)$$

$$(DBO)_o = (DBO) \left(1 + K \frac{V}{F} \right) \quad (9)$$

Definiendo $\Phi = (V/F)$ = tiempo de retención hidráulico.

$$(DBO) = \frac{(DBO)_o}{1 + K\theta} \quad (10)$$

Esta ecuación es el modelo cinético clásico de primer orden para reactores de flujo continuo y mezcla completa, aunque en la práctica estos reactores no existen, se aproximan a este modelo los tanques, circulares o cuadrados, donde el contenido del reactor se mezcla uniforme y continuamente.

- **DQO** La demanda química de oxígeno (DQO) se usa para medir el oxígeno equivalente a la materia orgánica oxidable químicamente mediante un agente químico oxidante fuerte, por lo general dicromato de potasio, en un medio ácido y a alta temperatura.

La DQO es útil como parámetro de concentración orgánica en aguas residuales industriales o municipales tóxicas a la vida biológica. En general, se espera que la DQO sea aproximadamente igual a la DBO última; pero, especialmente en

aguas residuales industriales, existen factores que hacen que dicha afirmación no se cumpla.

Dichos factores son:

- ✓ Muchos compuestos orgánicos oxidables por Dicromato no son oxidables biológicamente.
- ✓ Ciertos compuestos inorgánicos como los sulfuros, sulfitos, tiosulfatos, nitritos y hierro ferroso son oxidados por dicromato e introducen una DQO inorgánica en el resultado del ensayo.
- ✓ La DBO está sujeta a error cuando se usan simientes bacteriales no aclimatados adecuadamente al residuo.
- ✓ Ciertos compuestos orgánicos como los hidrocarburos aromáticos y la piridina no son oxidados por el dicromato.

Una curva típica para el análisis de biodegradabilidad del agua residual a partir de los parámetros de DBO y DQO, se muestra en la figura (7) la cual ha sido adaptada para los valores promedios reportados en la PTAR de interés.

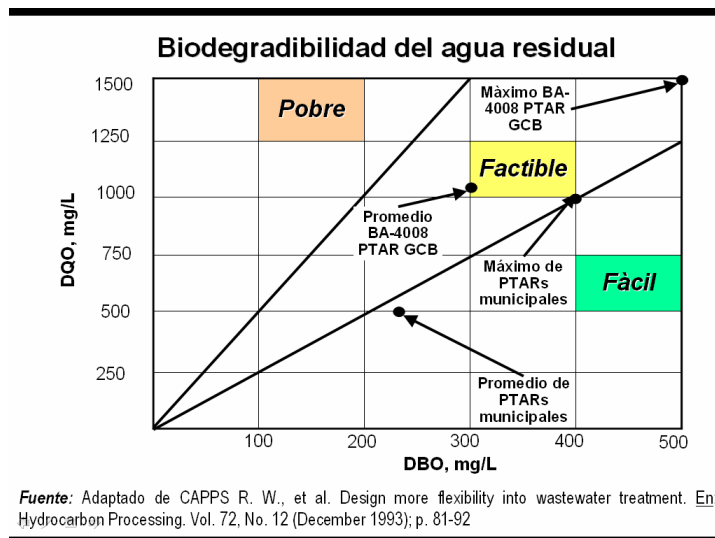


Figura 7. Análisis de biodegradabilidad del agua residual a partir de la relación de la DBO y DQO. **Fuente:** Adaptado de CAPPS R.W et al. Design more flexibility into wastewater treatment. Hydrocarbon Processing. Vol. 72 No 12 (Diciembre 1993). Pág. 82.

2.3.4 Presencia de multi-sustratos y/o compuestos inhibidores

Las aguas residuales industriales son caracterizadas por la presencia de mezclas complejas de compuestos químicos. Esta mezcla de contaminantes puede contener no solo componentes orgánicos sino que también sustancias inorgánicas tales como metales pesados. En estudios de biodegradación existen algunos trabajos dedicados a entender la biodegradación de varios sustratos, entre ellos el fenol, donde se evalúa el efecto de otros componentes presentes en la biodegradación de este compuesto (Wang *et al.*, 1996; Jiang Yan *et al.*, 2006; Afzal M. *et al.*, 2007) y las interacciones entre algunos de estos sustratos (Alvarez y Vogel, 1991; Harbin *et al.*, 1989 y Reardon *et al.*, 2000; Folson *et al.*, 1990; Orupold *et al.*, 2000, Amor *et al.*, 2000; Abuhamed *et al.*, 2003; Bielefeldt A.R y Stensel H.D, 1999; Ballesteros M. *et al.*, 2007; Galíndez-Mayer J. *et al.*, 2007; Ramakrishnan A y Kumar S.G, 2007).

Algunos de los estudios mencionan que los parámetros determinados para la degradación del sustrato principal no son suficientes para describir el fenómeno observado en la degradación de mezclas. En el caso de presencia de multi-sustratos (benceno, tolueno, xileno, fenol), el efecto de la presencia de otro(s) componente(s) puede ser positiva (Álvarez y Vogel, 1991; Schmidt y Alexander, 1985); o negativa por presentarse inhibición competitiva (Arbin *et al.*, 1989; Chang *et al.*, 1993; Coudar *et al.*, 1999; Haller y Finn, 1999), toxicidad (Haigler *et al.*, 1992), o por la formación de compuestos intermedios tóxicos a partir de enzimas no especificadas (Bartels *et al.*, 1984; Klecka y Gibson, 1981).

Harbin *et al.* (1989) observaron la inhibición de sustratos y estimaron las interacciones durante la degradación aerobia de mezclas de benceno, tolueno y o-xileno. Cuando el tolueno o el xileno fueron degradados en presencia de benceno, se notó una estimulación en la degradación del tolueno y el xileno por los microorganismos. Cuando el xileno y el tolueno estaban presentes al mismo tiempo, se observó inhibición en la degradación del benceno. Reardan K.F *et al.* (2000) observaron en su estudio sobre la cinética de biodegradación de benceno, tolueno y fenol, la influencia en la biodegradación de uno en presencia del otro. Mientras el tolueno inhibe fuertemente la biodegradación del benceno y el fenol, este último no afecta significativamente la degradación de los otros. Similares resultados fueron observados con mezclas de benceno, tolueno y p-xileno (Álvarez y Vogel, 1991; Bielefeldt A.R y Stensel H.D, 1999).

2.4 Modelamiento y simulación de procesos biológicos

Con el fin de evaluar la importancia de las variables en los procesos de biodegradación de componentes aromáticos, se han llevado a cabo el desarrollo de diferentes modelos matemáticos y de simulación de este tipo de

procesos; Los trabajos reportados incluyen la determinación de un modelo cinético y la obtención vía experimental de los parámetros cinéticos, la relación de algunas variables con el proceso de biodegradación y la validación de estos modelos que se ajustan a los diferentes sistemas específicos de estudio (Watson *et al.*, 2005; Schmidt *et al.*, 1985; Cruickshank *et al.*, 2000; Jungblut *et al.*, 1997; Ebenhoh y Berthe-Corti, 2000; Si-Jing Wang y Kai-Chee Loh, 1999).

Algunos trabajos reportados muestran resultados de modelamiento de sistemas específicos de tratamiento biológico para remoción de fenol, en sistemas de operación en batch y continuo (Vázquez-Rodríguez *et al.*, 2005; Nuhoglu y Yalcin, 2004; Cheng *et al.*, 2005; Tzu-Yang Hsien y Yen-Hui Lin, 2005; Annadurai G. *et al.*, 2007).

Vázquez-Rodríguez *et al.* (2005) construyeron un modelo de biodegradación de fenol, el cual se desarrolla en dos etapas; En la primera, el fenol se considera biodegradado por una fracción de la biomasa total con generación de metabolitos intermediarios, y en la segunda etapa, por el resto de la biomasa celular. El modelo propuesto describe adecuadamente los perfiles de degradación del fenol y de crecimiento celular a varias condiciones iniciales. Este modelo dinámico fue propuesto para ser usado como herramienta predictiva en el diseño de estrategias de mejora y control de tratamientos biológicos de compuestos fenólicos en aguas residuales.

Annadurai G. *et al.*, (2007) desarrollan un modelo matemático para evaluar el efecto del medio de cultivo y las interacciones sobre la biodegradación de fenol. Annadurai G. *et al.* determinaron que la biodegradación de fenol, a partir de *Pseudomonas putida* (ATCC 31800), es dependiente del pH. Para el análisis de los datos experimentales fue utilizado modelos de regresión polinomial de segundo orden.

Galíndez-Mayer J. *et al.* (2007) reportan en su trabajo, la biodegradación

continua de fenol y 4-clorofenol y evalúan los efectos hidrodinámicos y las características en la transferencia de oxígeno en un reactor de lecho fluidizado. Vidya K.S. *et al.*, (2007) reportan el estudio en continuo de biodegradación de fenol usando células inmovilizadas y evaluando el efecto de la velocidad de dilución y la concentración inicial de fenol.

La presente propuesta se enmarca dentro de la determinación de un modelo matemático y de simulación del proceso industrial de biodegradación de fenol a partir del consorcio microbiano ya obtenido (Grosso, J.L. y Díaz M.P, 1995) buscando con ello una descripción del proceso y una herramienta predictiva en el diseño de estrategias de mejoramiento del proceso actual.

3. METODOLOGIA

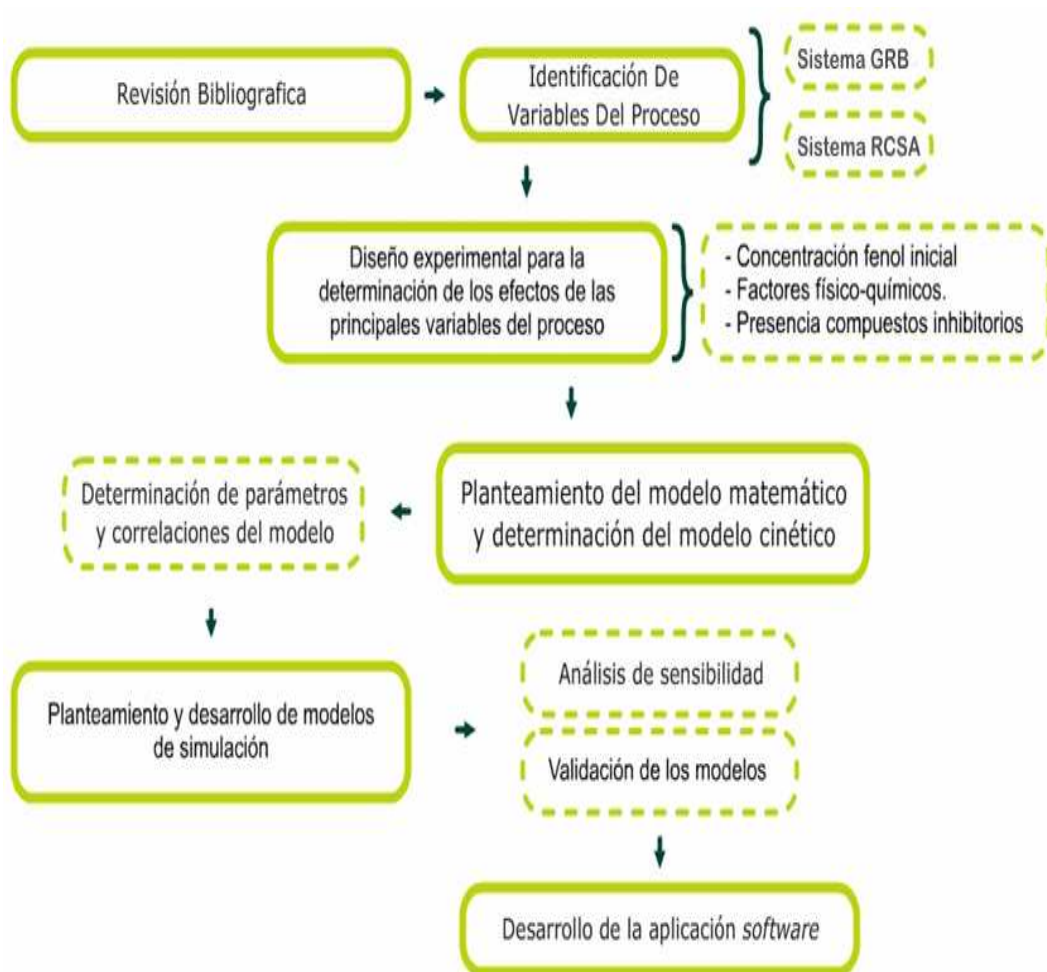


Figura 8. Diagrama de flujo global de la metodología y principales etapas de desarrollo del trabajo de tesis

3.1 ETAPAS DE DESARROLLO

El diseño de experimentos para el análisis de cada una de las variables del bio-proceso fue revisado y aprobado por el ente financiador y fue desarrollado por personal especializado en el Instituto Colombiano del petróleo y en la refinería de Barrancabermeja. Las pruebas (toma de muestras y análisis de laboratorio) en continuo para la validación del modelo matemático a escala piloto e industrial fueron realizadas en la refinería de Barrancabermeja por personal de ECOPETROL.

PRIMERA ETAPA

- Revisión bibliográfica.
- Análisis preliminar de datos experimentales, registros y monitoreos del proceso de biodegradación de fenol, en continuo y en batch, realizados por el Instituto Colombiano de petróleo y la refinería de Barrancabermeja.
- Análisis general del sistema de operación.
- Determinación de variables involucradas: concentración de fenol en el afluente, oxígeno disuelto en el bio-reactor, tiempo de retención hidráulico, presencia de compuestos inhibitorios (amonio, sulfuro e hidrocarburo), pH.
- Planteamiento de balances de materia y energía correspondientes.
- Determinación de un modelo cinético e identificación de los parámetros cinéticos

SEGUNDA ETAPA

- Análisis de las cinéticas a escala laboratorio realizadas en la refinería de Barrancabermeja bajo diferentes concentraciones iniciales de fenol.

- Análisis específico del sistema, efectos de la presencia de compuestos inhibitorios: sulfuro, amonio e hidrocarburo.
- Diseño experimental para evaluar los efectos de compuestos inhibitorios.
- Determinación de los parámetros cinéticos a partir de resultados experimentales.

TERCERA ETAPA

- Desarrollo de los primeros modelos de simulación.
- Planteamiento de correlaciones a partir del tratamiento de datos.
- Planteamiento y desarrollo de nuevos modelos que representen de manera más precisa el proceso real por medio de la adición de variables secundarias.

CUARTA ETAPA

- Análisis de los resultados obtenidos de las pruebas experimentales para determinación de efectos de pH, Sulfuros, Amonio e hidrocarburo.
- Tratamiento de datos, correlaciones, modificación del modelo cinético.
- Integración y acoplamiento de nuevos modelos de simulación.

QUINTA ETAPA

- Simulación del escenario modelo y simulación de varios escenarios posibles.
- Diseño experimental para la validación del modelo matemático.
- Diseño y desarrollo de un software, como herramienta metodológica.
- Desarrollo de análisis de sensibilidad paramétrica.
- Desarrollo de análisis de sensibilidad de variables en 2D y 3D para el análisis de las variables respuesta: tiempo alcanzado hasta alcanzar un estado estable en el sistema y porcentaje de remoción de fenol obtenido.
- Integración y acoplamiento de nuevos modelos de simulación.

SEXTA ETAPA

- Desarrollo de las pruebas de validación para la refinería de Barrancabermeja a escala piloto y a escala industrial.
- Introducción de las variables DBO y DQO en el modelo matemático.
- Verificación de parámetros cinéticos y constantes del modelo matemático.
- Actualización de la aplicación software desarrollada a partir de la determinación de nuevas necesidades y sugerencias de los usuarios potenciales.

3.2 NOMENCLATURA

Tabla 4. Nomenclatura

		Unidades
Fo	Flujo de entrada	(m ³ h ⁻¹)
F	Flujo de salida	(m ³ h ⁻¹)
X	Concentración de biomasa	(mg l ⁻¹)
X _o	Concentración inicial de biomasa	(mg l ⁻¹)
S	Concentración de fenol	(mg l ⁻¹)
S _o	Concentración inicial de fenol	(mg l ⁻¹)
[H ₂ S]	Concentración de sulfuro	(mg l ⁻¹)
[NH ₃]	Concentración de amonio	(mg l ⁻¹)
[HC]	Concentración de hidrocarburo	(mg l ⁻¹)
[H ₃ O ⁺]	Concentración de hidrogeniones	(mg l ⁻¹)
[O ₂]	Concentración de oxígeno disuelto	(mg l ⁻¹)
T	Temperatura	(°C)
Cp	Capacidad calorífica	(kcal °C ⁻¹)
ρ _m	Densidad fase líquida	(kg (m ³) ⁻¹)
U	Coefficiente global transferencia calor	(Kcal m ² h ⁻¹ °C ⁻¹)
YΔ	Coefficiente de generación de calor	(g células Kcal ⁻¹)
K _{La}	Coefficiente transferencia de oxígeno	(h ⁻¹)
Y _{x/i}	Coefficientes de rendimiento para cada componente i.	(mg mg ⁻¹)
C*	Concentración de saturación de O ₂	(mg l ⁻¹)
Parámetros cinéticos:		
μ _M	Velocidad específica máxima de crecimiento	(h ⁻¹)
K _s	Constante de saturación media	(mg l ⁻¹)
K _{is}	Constantes de inhibición para el fenol.	(mg l ⁻¹)
K _{iH}	Constantes de inhibición para el sulfuro.	(mg l ⁻¹)
K _{iN}	Constantes de inhibición para el amonio.	(mg l ⁻¹)
K _{iHC}	Constantes de inhibición para el hidrocarburo.	(mg l ⁻¹)
K _{O2}	Constante saturación media de Oxígeno.	(mg l ⁻¹)

3.3 DESCRIPCIÓN GLOBAL DE CADA UNO DE LOS SISTEMAS DE ESTUDIO

Tabla 5A. Descripción de los bio-reactores de cada sistema: GRB y Planta piloto

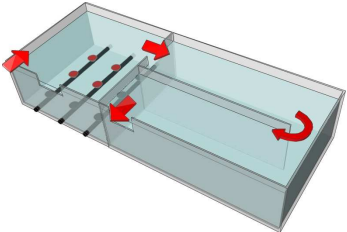
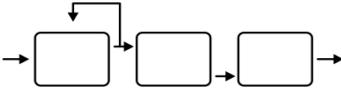
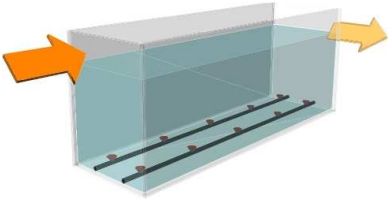
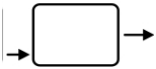
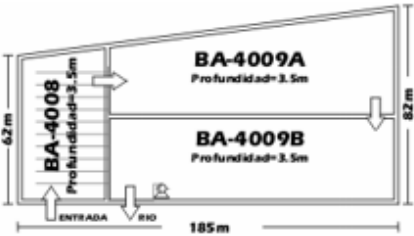
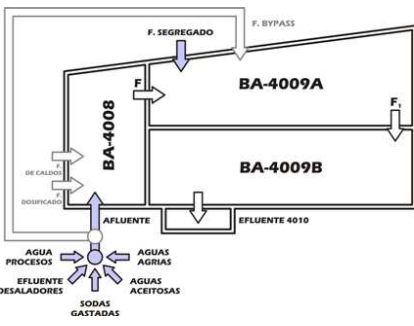
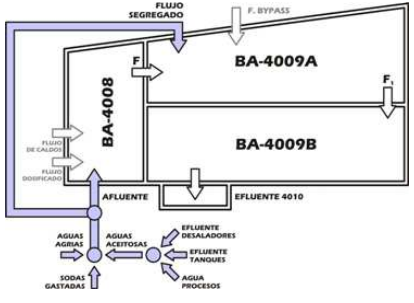
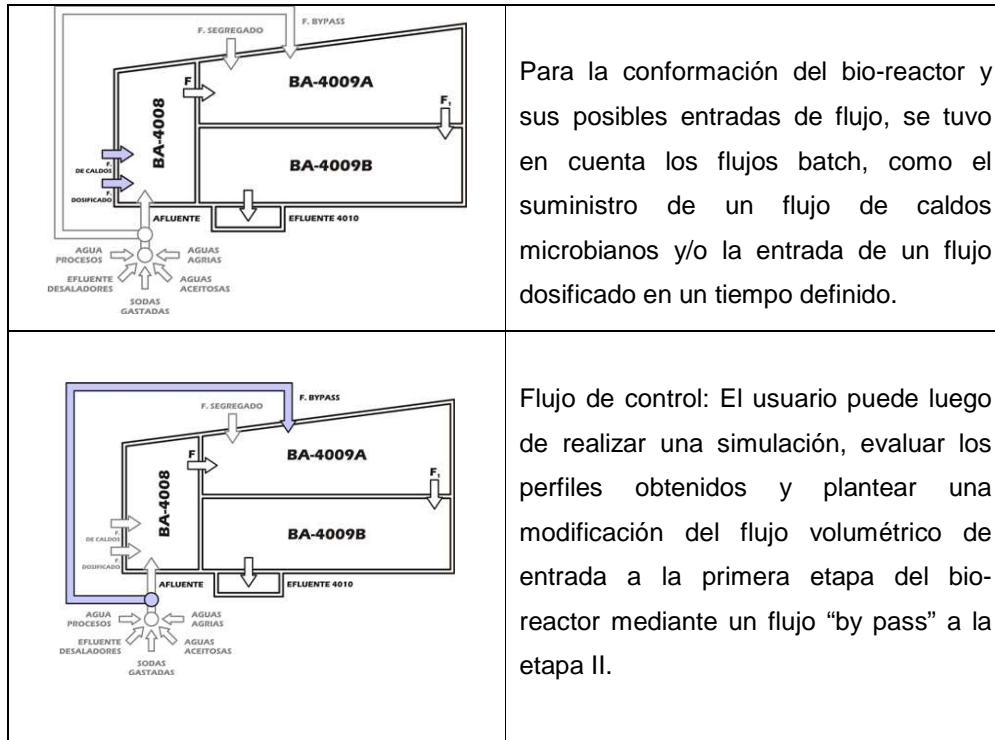
BIO-REACTOR	ESQUEMA DEL MODELO	DESCRIPCIÓN
 <p>Esquema bio-reactor GRB: 4008 y 4009A-B</p>	 <p>Tres (3) bio-reactores en serie.</p>	<p>-Sistema en continuo. -Tanque agitado. -Biomasa suspendida.</p> <p>-Primera etapa con inyección de aire atmosférico a través del flujo de recirculación.</p> <p>-Flujo aprox. de tratamiento: 24.500 m³/día.</p>
 <p>Esquema bio-reactor planta piloto U 4080-(4081C)</p>	 <p>Una (1) etapa</p>	<p>Sistema en batch o en continuo.</p> <p>-Adecuación del flujo de entrada y salida. (Tiempo de residencia)</p> <p>-Inyección de aire.</p>

Tabla 5B. Descripción de las principales corrientes del bio-reactor de la refinería de Barrancabermeja

Configuración Bio-reactor GRB	Descripción específica
	<p>Bio-reactor GRB, tres etapas. Afluente: BA-4008. Efluente: BA-4009B.</p> <p>Flujo volumétrico promedio: 4500 gpm Tiempo Retención Hidráulico (TRH) TRH_BA-4008=7.5 h TRH_BA 4009A=15 h TRH_BA 4009B=14.3 h</p>
	<p>Bio-reactor GRB.</p> <p>Afluente alimentado por la unión de cinco corrientes principalmente: Agua de procesos, efluente de desaladores, sodas gastadas, aguas aceitosas y aguas agrías. Esta corriente de alimentación al bio-reactor proviene de un tratamiento primario.</p>
	<p>La corriente de aguas aceitosas es caracterizada por su conformación por tres corrientes: Efluente de desaladores, Efluente de tanques y aguas de procesos.</p> <p>Parte o todo el flujo de cada una de las corrientes puede ser distribuido entre el afluente principal o un flujo segregado a la etapa II del bio-reactor.</p>



3.4 MODELO MATEMÁTICO

Balances de Materia:

Balance de masa de microorganismos:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{F_o}{V} x_o - \frac{F}{V} x + \mu x - K_d x \quad (11)$$

Balance de masa para el fenol:

$$\frac{d[S]}{dt} = [S]_0 \left(\frac{F_o}{V} \right) - [S] \left(\frac{F}{V} \right) - \left(\frac{\mu x}{Y_{x/s}} \right) \quad (12)$$

Balance de masa para el amonio:

$$\frac{d[NH_3]}{dt} = [NH_3]_0 \left(\frac{F_o}{V} \right) - [NH_3] \left(\frac{F}{V} \right) - \left(\frac{\mu x}{Y_{x/n}} \right) \quad (13)$$

Balance de masa para el sulfuro:

$$\frac{d[H_2S]}{dt} = [H_2S]_0 \left(\frac{F_o}{V} \right) - [H_2S] \left(\frac{F_o}{V} \right) - k[H_2S] \quad (14)$$

Balance de masa para el hidrocarburo:

$$\frac{d[HC]}{dt} = [HC]_0 \left(\frac{F_o}{V} \right) - [HC] \left(\frac{F}{V} \right) - \left(\frac{\mu x}{Y_{x/HC}} \right) \quad (15)$$

Balance de masa de hidrogeniones:

$$\frac{d[H_3O^+]}{dt} = [H_3O^+]_0 \left(\frac{F_o}{V} \right) - [H_3O^+] \left(\frac{F}{V} \right) + \left(\frac{\mu x}{Y_{x/H_3O^+}} \right) \quad (16)$$

Balance de masa de oxígeno disuelto (fase líquida):

$$\frac{d[O_2]}{dt} = [O_2]_0 \left(\frac{F_o}{V} \right) - [O_2] \left(\frac{F}{V} \right) + k_L a (C - [O_2]) - \left(\frac{\mu x}{Y_{x/O}} \right)$$

Balance de masa de oxígeno disuelto (fase líquida): (17)

$$\frac{d[DBO]}{dt} = [DBO]_0 \left(\frac{F_o}{V} \right) - [DBO] \left(\frac{F}{V} \right) + k_{DBO} (DBO)$$

Balance de Energía global

$$\frac{\rho_m C_p V dT}{dt} = \rho_m C_p F_o T_0 - \rho_m C_p F T - UA(T - T_{amb}) + \left(\frac{\mu x}{Y_\Delta} \right) \quad (17B)$$

3.5 MODELO CINÉTICO

El proceso de biodegradación de fenol ha sido ampliamente estudiado, y se ha encontrado que existen grupos de bacterias, generalmente aerobias, capaces de adaptarse y de degradar compuestos aromáticos, siendo el fenol uno de los compuestos más comunes como principal fuente de carbono y energía (Kumar *et al.*, 2004; Reardon *et al.*, 2000; Ojumu *et al.*, 2004; Seker *et al.*, 1996; Monteiro *et al.*, 2000; Bracho *et al.*, 2004).

El modelo cinético seguido en el proceso de biodegradación se evaluó mediante la relación entre la velocidad específica de crecimiento celular y la concentración de fenol, para lo cual se usó el modelo cinético propuesto por Haldane (1930) (ecuación 18), el cual tiene en cuenta la inhibición por parte del sustrato y es utilizado frecuentemente para describir la degradación en un amplio rango de concentración inicial de fenol.

$$\mu = \mu_M * \frac{[S]}{K_s + [S] + \frac{[S]^2}{K_{is}}} \quad (18)$$

En el modelo cinético se adicionó el efecto del pH (inhibición no competitiva) por medio de una correlación entre la velocidad específica de crecimiento y el pH del medio (ρ) y el efecto del oxígeno mediante una cinética de Monod simple, como factor multiplicativo a la cinética propuesta por Haldane.

$$\mu = \frac{\mu_M}{\rho} * \frac{[S]}{K_s + [S] + \frac{[S]^2}{K_{is}}} * \frac{[O_2]}{K_o + [O_2]} \quad (19)$$

De igual forma en el modelo cinético se tuvo también en cuenta la presencia de compuestos como amonio, sulfuro e hidrocarburo, los cuales son introducidos al

modelo mediante inhibición competitiva, la cual afecta directamente el valor de la constante de saturación (K_s) del proceso.

$$\mu = \mu_M * \frac{[S]}{K_s a + [S] + \frac{[S]^2}{K_{is}}} \quad (20)$$

El factor “a” se describe mediante la ecuación (21), donde I corresponde a la concentración del componente inhibidor y K_{ii} la constante de inhibición correspondiente al compuesto.

$$a = \prod \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right) \quad (21)$$

Tomando en cuenta los tres compuestos de interés para estudio, y las demás modificaciones al modelo propuesto por Haldane, el modelo cinético es descrito por la ecuación (22).

$$\begin{aligned} \mu &= \frac{\mu_M}{\rho} * \frac{[S]}{K_s a + [S] + \frac{[S]^2}{K_{is}}} * \frac{[O_2]}{K_o + [O_2]} \\ a &= \left(1 + \frac{[H_2S]}{K_{ih}}\right) \left(1 + \frac{[NH_3]}{K_{in}}\right) \left(1 + \frac{[HC]}{K_{hc}}\right) \\ \rho &= f(pH) \end{aligned} \quad (22)$$

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los diseños experimentales fueron desarrollados para la evaluación de las principales variables del proceso de biodegradación de fenol y fueron llevados a cabo en la refinería de Barrancabermeja y en los laboratorios del Instituto Colombiano del petróleo (ICP) por personal especializado.

3.6.1 Determinación de parámetros cinéticos.

Para determinar el efecto de la concentración inicial de fenol, se planteó un diseño de experimentos a escala laboratorio en modo batch con el fin de evaluar los perfiles de concentración de fenol en un tiempo definido de prueba.

En la tabla 6 se observan las concentraciones de fenol inicial y el tiempo de monitoreo de cada prueba. El agua utilizada es matriz real, donde se utilizó agua agria para obtener la mayor concentración inicial de fenol. Estas pruebas se realizaron en recipientes preparados como bio-reactores, con suministro de oxígeno por medio de una bomba de acuario.

Tabla 6. Concentraciones de fenol y tiempos de monitoreo para la evaluación de la concentración inicial de fenol en el proceso de biodegradación.

RANGO DE CONCENTRACIÓN DE FENOL DE ESTUDIO							
Fenol (ppm)	10	30	50	80	120	150	300
Tiempo monitoreo (h)	12	18	24	24	30	36	36

En la tabla 7. Se observan las variables que fueron monitoreadas durante el tiempo de prueba definido anteriormente para cada concentración inicial de fenol.

Tabla 7. Variables a ser monitoreadas en el proceso de biodegradación de fenol con diferentes concentraciones iniciales de fenol.

Tiempo (h)	Fenol (ppm)	m.o (ufc/ml)	pH	O.D (ppm)	DBO (ppm)	DQO (ppm)
0	Valor inicial	- (*10 ⁶)	7-8	2	-	-
2	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
6...	-	-	-	-	-	-

Para evaluar variables de operación como el pH y los compuestos que pueden causar inhibición en el proceso de biodegradación de fenol, se realizó el diseño experimental de pruebas en batch, a escala laboratorio a diferentes concentraciones iniciales de cada compuesto a evaluar especificados en la tabla 8. El rango de concentración de cada variable dependió de las condiciones reales posibles en campo. El agua utilizada para cada cinética fue matriz dopada. Estas pruebas se realizaron en frascos preparados como bio-reactores, con suministro de oxígeno por medio de una bomba de acuario.

Tabla 8. Concentraciones de fenol y tiempos de monitoreo para la evaluación de la concentración inicial de fenol en el proceso de biodegradación.

VARIABLES DE ESTUDIO						
pH	5	6	7	8	9	10
Amonio (ppm)	-	100	500	1000	1500	2000
Sulfuro (ppm)	0	20	50	80	150	200
Hidrocarburo (ppm)	0	50	200	1000	3000	5000

Las variables que fueron monitoreadas durante el tiempo de prueba, definido anteriormente para cada caso, son similares a las descritas en la tabla 7 (excepción no se monitoreo DBO y DQO).

En la realización de las 24 cinéticas descritas en la tabla 8, se mantuvo la concentración de fenol inicial en un rango entre 45 y 55 ppm. Para el caso de evaluación de los compuestos amonio, sulfuro e hidrocarburo, el pH inicial se mantuvo en un rango entre 7 y 8 unidades. La concentración inicial de oxígeno disuelto, suministrada por medio de una bomba de acuario, fue de 2ppm.

3.6.2 Diseño experimental para las pruebas de validación del modelo matemático

Para la validación de los modelos matemáticos propuestos para el proceso de biodegradación de fenol se plantearon y desarrollaron pruebas en continuo a escala piloto y a escala industrial. En ambos sistemas se evaluó el tiempo de residencia, mediante el control del flujo volumétrico de tratamiento. En la tabla 9 se describen los valores evaluados. En las pruebas a escala piloto se obtuvieron, en adición, los perfiles de fenol con el suministro del 100, 50 y 0% del aire disponible para inyectar al sistema piloto.

Tabla 9. Valores de estudio para el TRH y la inyección de oxígeno al sistema.

VARIABLES DE ESTUDIO_MODO CONTINUO			
BIO-REACTOR PILOTO V=constante			
Tiempo retención hidráulico (h)*	8	12	18
Inyección de O₂	100%	50%	0%

El desarrollo de las pruebas en continuo para validación, se llevaron a cabo en el bio-reactor a escala piloto (4081C) y posteriormente en el bio-reactor a escala

industrial (4008), para lo cual se utilizó agua real proveniente de la unidad 4005 (GCB), la cual fue bombeada con un flujo determinado según el tiempo de retención hidráulico de interés.

En la tabla 10. se muestran las variables monitoreadas las cuales se mantuvieron para cada uno de las pruebas. El tiempo de monitoreo para cada prueba fue mayor a 50 horas y en cada caso el tiempo total dependió del comportamiento evolutivo de cada prueba. Cada variable se monitoreó a la entrada y salida del bio-reactor, las concentraciones de fenol en el afluente fueron variables por tratarse de matriz real.

Para comprobar que el sistema presentara una fase homogénea se tomaron muestras de fenol, pH y microorganismos en varios puntos a lo largo y ancho del bio-reactor con el fin de determinar su valor y posteriormente fue comparada con los valores de cada variable a la salida.

El suministro de oxígeno en el bio-reactor piloto e industrial se realizó por medio del sistema de boquillas inyectoras y difusoras dispuestas en cada uno de los bio-reactores.

Tabla 10. Variables monitoreadas en la validación del proceso continuo de biodegradación de fenol en aguas residuales.

Tiempo (h)	Fenol entrada (ppm)	Sulfuro_Amonio_HC (ppm)	pH entrada	DBO y DQO entrada (ppm)	Fenol bio-reactor (ppm)	m.o (ufc/ml)	Fenol salida (ppm)	pH salida	O.D (ppm)	DBO (ppm)	DQO (ppm)
0	40-60	-	7-8	-	-	-(⁶ 10)	-	7-8	2	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8...	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4. RESULTADOS DEL MODELO MATEMÁTICO

4.1 Determinación del efecto de concentración de fenol inicial en la biodegradación de fenol

Los experimentos llevados a cabo a escala laboratorio a partir de diferentes concentraciones iniciales de fenol permitieron evaluar el comportamiento cinético del proceso de biodegradación.

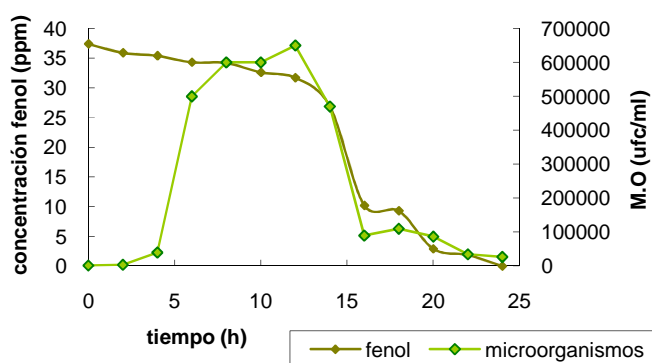


Figura 9. Cinética de biodegradación de fenol a escala laboratorio. Perfil de fenol y microorganismos durante el tiempo de prueba (24 horas). $S_0=37\text{ppm}$. Inyección de oxígeno. (FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

En la figura 9 se pueden observar las curvas típicas de crecimiento microbiano en presencia de fenol en una prueba de biodegradación en modo batch a escala laboratorio durante 25 horas de prueba.

En una primera etapa, se evaluaron varias concentraciones iniciales de fenol en el proceso. Las variaciones en la concentración inicial de fenol estuvieron en el

rango de 25-300 ppm (Fig 10). Los resultados de estos estudios muestran que para la más alta concentración de fenol, el tiempo de prueba no fue suficiente para lograr una degradación completa. Estos estudios indicaron que el tiempo de degradación de fenol se extiende al incrementar su concentración inicial. La muestra con una concentración inicial de fenol de 155,2 ppm alcanzó remoción completa de fenol a la hora 36, sin embargo para la más alta concentración de prueba (283,6 ppm) la degradación luego de 48 horas de prueba no fue completa y alcanzó un porcentaje de remoción de solo el 46%. Los resultados obtenidos coinciden con trabajos reportados en la literatura para diferentes rangos de concentración inicial de fenol en sistemas de remoción biológica de fenol a partir de diferentes tipos de microorganismos específicos (Livingstone y Chase, 1989; Pawlowsky y Howell, 1973; Seker *et al.*, 1997; Kumar *et al.*, 2004; Saravanan *et al.*, 2008; Tziotzios *et al.*, 2007; Afzal *et al.*, 2007).

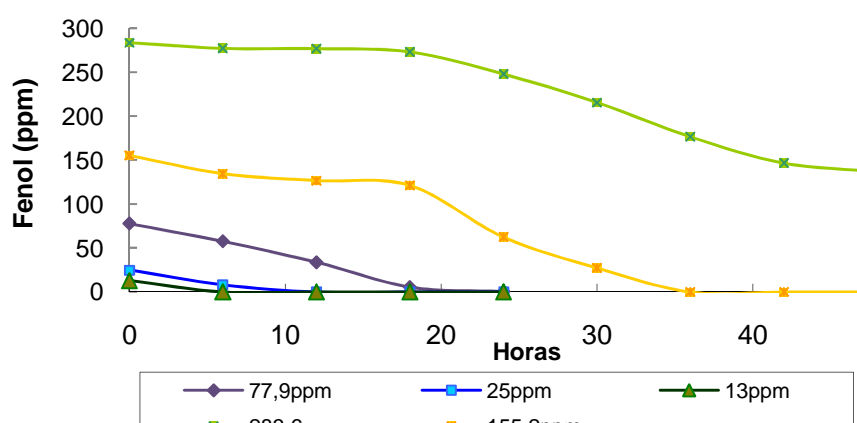


Figura 10. Perfiles de fenol para cinéticas de biodegradación modo batch a escala laboratorio a partir de diferentes concentraciones iniciales de fenol. (FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

4.2 Determinación de parámetros cinéticos

Los parámetros cinéticos tales como la velocidad máxima de reacción (μ_M), la constante de saturación (K_s) y la constante de inhibición para el fenol (K_i) fueron determinados a partir de la linealización de la ecuación de Monod y Haldane (ecuaciones 2 y 3).

$$\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S) \quad (2)$$

$$\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S + S^2 / K_i) \quad (3)$$

Para el cálculo de los parámetros, se utilizó un modelo de Haldane, ya que fue el mejor que se ajustó a los datos obtenidos en los experimentos. Este modelo considera que a bajas concentraciones de fenol ($S_0 < 36$ ppm, en este caso) se comporta como una cinética de tipo Monod simple:

Linealización de la ecuación de Monod: $1/\mu = 1/\mu_{\max} + K_s / \mu_{\max} S$ (23)

Donde: $y = 1/\mu$; $x = 1/S$ $m = K_s / \mu_{\max}$ $b = 1/\mu_{\max}$

Sin embargo, para altas concentraciones de fenol ($S_0 > 46$ ppm, en este caso) la ecuación de Haldane puede reducirse a la siguiente expresión:

$$\mu = \mu_{\max} S / (S + S^2 / K_i)$$

Linealización de la ecuación de Haldane: $1/\mu = 1/\mu_{\max} + S / (\mu_{\max} * K_i)$ (24)

Donde: $y = 1/\mu$; $x = S$ $m = 1 / (\mu_{\max} * K_i)$ $b = 1/\mu_{\max}$

Los valores obtenidos para estos parámetros se resumen en la tabla 11. Los

valores de estos parámetros cinéticos se encuentran en el rango de los valores reportados por otros autores (Livingstone y Chase, 1989; Pawlowsky y Howell, 1973; Seker *et al.*, 1997; Yang y Humphrey, 1975; Kumar *et al.*, 2004; Tziotzios *et al.*, 2007; Afzal *et al.*, 2007).

Tabla 11. Parámetros cinéticos del modelo de Monod y Haldane para el proceso de biodegradación de fenol usando un pool de *Pseudomonas putida*

Modelo de Monod		Linealización modelo Haldane		Rendimiento
μ_M (h^{-1})	K_s (mg/l)	μ_M (h^{-1})	K_{iS} (mg/l)	$Y_{x/s}$ (mg x/mg S)
0.335	10.2	0.2853	51.2	0.8

De igual forma se obtuvo la curva de velocidad específica de crecimiento contra el rango de concentración inicial de fenol de estudio (0-300ppm) (fig 11). Esta curva muestra la comparación entre los datos experimentales obtenidos para la velocidad específica de crecimiento y los valores calculados por el modelo cinético propuesto. La curva permite observar el incremento de la velocidad específica de crecimiento hasta una concentración alrededor de los 50 ppm y el decrecimiento de esta velocidad luego de incrementar la concentración inicial de fenol, evidenciando la inhibición del mismo sustrato en la degradación de fenol por el pool biodegradador, para concentraciones mayores a 50ppm (Monteiro *et al.*, 2000; Onysko *et al.*, 2000).

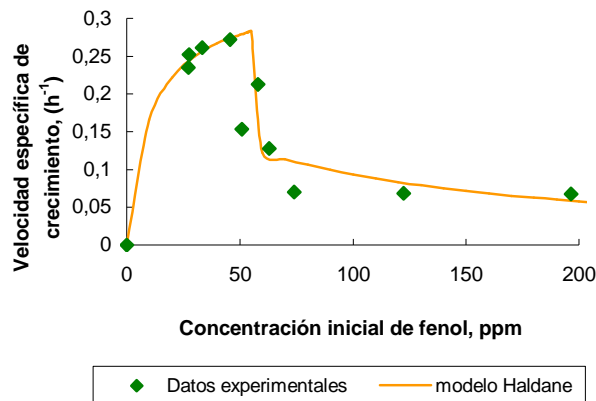
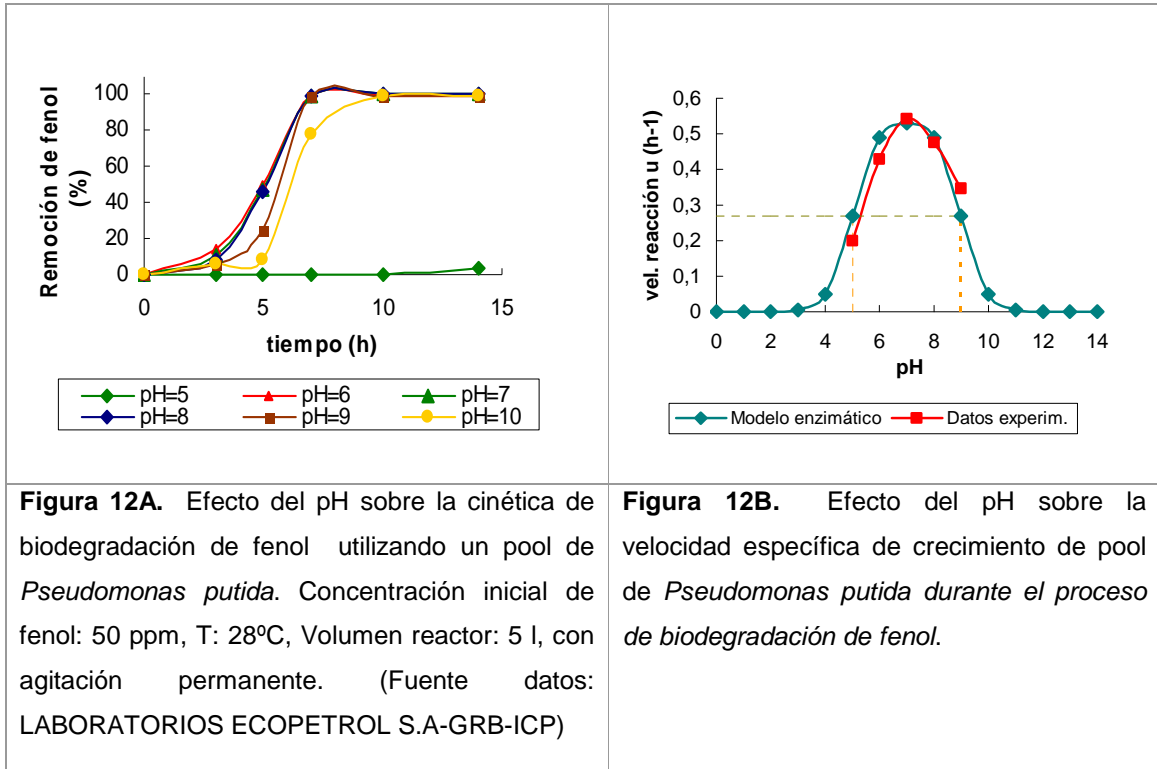


Figura 11. Efecto de la concentración de fenol sobre la velocidad específica de crecimiento (μ) de un pool de *Pseudomonas putida*. (FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

4.3 Determinación de los efectos del pH y el oxígeno disuelto (O.D)

4.3.1 pH

La determinación del efecto del pH en el proceso de biodegradación de fenol usando un pool de *Pseudomonas putida* (microorganismos neutrófilos) se llevó a cabo con pruebas de biodegradación de fenol con diferentes pH iniciales, en un rango entre 5 y 10 unidades. Los resultados obtenidos permiten concluir que las pruebas con pH iniciales entre 6 y 10 alcanzan porcentajes de remoción de fenol superiores al 95% al cabo de 10 horas de prueba y usando una concentración de fenol de 50 ppm. Para el caso de un pH inicial de 5, el porcentaje de remoción alcanzado luego del tiempo de prueba no superó el 5% y para los pH iniciales más altos, 9 y 10, el proceso de degradación de fenol presentó una fase de retardo más marcada. A su vez, la biodegradación se hizo más lenta debido a una inhibición parcial de los microorganismos mientras el pH del medio disminuyó y alcanzó valores dentro del rango óptimo para la biodegradación de fenol a partir del pool (Fig 12).



Con el fin de encontrar la dependencia de la cinética del proceso con el pH, se determinó una correlación entre la velocidad máxima de reacción y la concentración de hidrogeniones en solución a partir de un modelo enzimático típico (figura 12B) que representa la relación entre la velocidad de crecimiento celular y el pH externo. (Ec 25).

$$\mu(\text{pH}) = \frac{10^{-\text{pH}}}{k_1} + 1 + \frac{k_2}{10^{-\text{pH}}} \quad (25)$$

Esta correlación fue introducida al modelo cinético y establece un rango de pH de operación entre 6.5 y 9 según los resultados del diseño de experimentos para esta variable (ver figura 12B). Los valores obtenidos para las constantes k_1 y k_2 , son las correspondientes a las concentraciones de hidrogeniones para los

cuales la velocidad de crecimiento específica se reduce al 50% de su valor sin inhibición. $K_1 = 10^{-5.3}$ y $k_2 = 10^{-8.8}$.

4.3.2 Oxígeno disuelto (O.D)

4.3.2.1 Cálculo de la concentración de saturación de OD.

Si por alguna razón el nivel de OD en el agua es menor que el valor de saturación, el agua disuelve más oxígeno de la atmósfera, buscando acercarse al nivel de saturación. Según la ley de Henry, a temperatura constante, la solubilidad de un gas en un líquido es proporcional a la presión parcial del gas. La concentración de saturación de oxígeno disuelto, en agua expuesta a la presión de 760 mm Hg, se puede calcular mediante la ecuación de la sociedad Americana de Ingenieros Civiles (ASCE).

$$\text{ODS} = 14.652 - 0.41022 T + 0.007991 T^2 - 0.000077774 T^3 \quad (26)$$

Donde ODS = Concentración de saturación de OD, mg/L.

T = temperatura, °C.

Para corregir el valor de ODS a diferentes altitudes, se puede usar la formula de Halley:

$$P = 760 e^{(-E / 8.005)} \quad (27)$$

donde P es la presión atmosférica a la elevación E, mm Hg, E elevación, msnm.

$$\text{ODSc} = \text{ODS} * (P / 760)$$

Para el sistema de Barrancabermeja a una temperatura promedio de 35°C

ODS= 6.7487 mg/L

La corrección por altitud, $E = 75.94$ m $P=752$ mm Hg **ODSc = 6.685 mg/L.**

4.3.2.2 Prueba experimental para determinar la importancia de la presencia de Oxígeno disuelto en el proceso biológico

Para determinar la importancia del oxígeno disuelto disponible en el proceso de biodegradación de fenol a partir del pool de *Pseudomonas putida*, se realizó una prueba en continuo con un tiempo de residencia de 18 horas en el bio-reactor piloto (4081C). La prueba se realizó utilizando aguas residuales de la planta, por lo que se presentó variación en la concentración de fenol en la corriente de entrada al bio-reactor, debido a que el reactor no cuenta con un tanque de ecualización. Durante las primeras 480 horas de prueba se mantuvo un suministro de oxígeno constante e igual de 804 ft³/h, el cual corresponde a el máximo flujo ofrecido por las dos boquillas inyectoras dispuestas en el bio-reactor. A partir de la hora 480 el suministro de oxígeno se detuvo y el proceso en continuo se mantuvo y monitoreó por cerca de 220 horas adicionales. Los perfiles de fenol a la entrada y salida del bio-reactor se muestran en la figura (13). Los resultados obtenidos permiten validar la importancia de esta variable y las consecuencias cinéticas ante la falta de oxígeno disuelto, para lo cual el proceso de biodegradación de fenol a partir del pool es inhibido y los niveles de fenol a la salida del bio-reactor se igualan con las concentraciones de fenol a la entrada. El porcentaje de remoción de fenol promedio alcanzado en esta última fase de la prueba fue de solo el 22%.

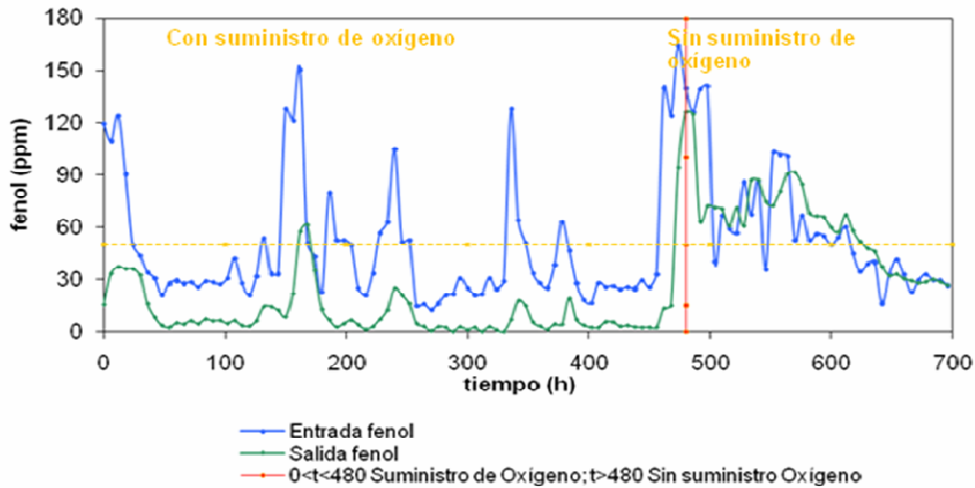


Figura 13. Evaluación del efecto del suministro de oxígeno inyectado al bio-reactor. Perfiles de concentración de fenol en las corrientes de entrada y salida del bio-reactor piloto en una prueba en continuo. Tiempo de residencia hidráulico= 18 h, Volumen reactor: 120.000 litros, T: 30 °C (FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

4.3.2.3 Definición de la oferta de aire de los sistemas de aireación para los sistemas de remoción de fenol de Barrancabermeja

La oferta de oxígeno en el sistema de Barrancabermeja está dada por un conjunto de boquillas inyectoras-difusoras, donde las primeras succionan aire atmosférico mediante el flujo de recirculación para posteriormente disponerlo en el fondo y a lo largo y ancho del bio-reactor mediante las boquillas difusoras.

Tabla 12. Descripción del sistema de aireación para GRB

Boquillas mazzel modelo 4091	
Presión entrada	48 psig
Presión salida	12,2 psig
Aire inyectado	2662,8 ft ³ /h
10 boquillas inyectoras	22765 ft ³ /h
Flujo másico aire inyectado	1750 lb/h
Flujo másico oxígeno inyectado	367,5 lb/h
(15% eficiencia) F. másico oxígeno suministrado	55 lb/h

Balace de oxígeno disuelto:
$$\frac{d[O_2]}{dt} = [O_2]_o \left(\frac{F_o}{V} \right) - [O_2] \left(\frac{F}{V} \right) + kL_a(C - [O_2]) - \left(\frac{\mu x}{Y_{x/o}} \right)$$

En el balance de oxígeno disuelto (O₂) la oferta está representada por el término: “K_{La} (C-[O₂])”. El cálculo de la oferta tiene en cuenta el porcentaje de oxígeno en el aire (21%), además de términos como el oxígeno inyectado, el oxígeno transferido y la eficiencia del proceso de transferencia (ver tabla 12). El rendimiento Y_{x/o} y la constante de Monod de oxígeno, K_o, fueron tomadas a partir de la literatura para sistemas similares de biodegradación de fenol a partir de un cultivo de *Pseudomonas*, sus valores son 1mg biomasa/mg O₂ y 0.048 ppm respectivamente (Melo *et al.*, 2004, Ozbek y Gayik, 2000; Galaction *et al.*, 2004).

4.4 Evaluación de compuestos inhibitorios: Amonio, Sulfuro e Hidrocarburo (HC).

Los efectos causados por la presencia de componentes como Amonio, Sulfuro e Hidrocarburo, presentes en los afluentes al biotratamiento del fenol, se determinaron a partir del tratamiento de datos obtenidos de pruebas experimentales, a escala laboratorio, realizadas con el fin de evaluar la cinética de biodegradación de fenol y crecimiento celular en un tiempo de prueba definido. Para los tres casos de estudio se realizaron pruebas con concentraciones de fenol inicial alrededor de 50ppm y diferentes concentraciones iniciales de cada componente dependiendo de los niveles promedios reales alcanzados en el sistema real.

El **amonio** se evaluó en un rango de concentración de 0-1500 ppm, el tiempo de cada prueba fue de 16 horas. Los resultados obtenidos en este estudio muestran comportamientos similares de biodegradación de fenol y crecimiento celular. Para todas las pruebas con diferentes concentraciones iniciales de amonio, se obtuvieron porcentajes de remoción de fenol mayores al 95% a partir de la octava hora de prueba (Fig 14).

Los resultados de la experimentación muestran que el efecto del amonio hasta la máxima concentración de estudio (1500ppm) no causa un impacto significativo en el proceso de biodegradación de fenol y/o en el crecimiento celular del pool. A partir de los datos experimentales se calculó la constante de inhibición para el amonio (K_{iNH_3}), la cual fue evaluada en **18860 ppm**.

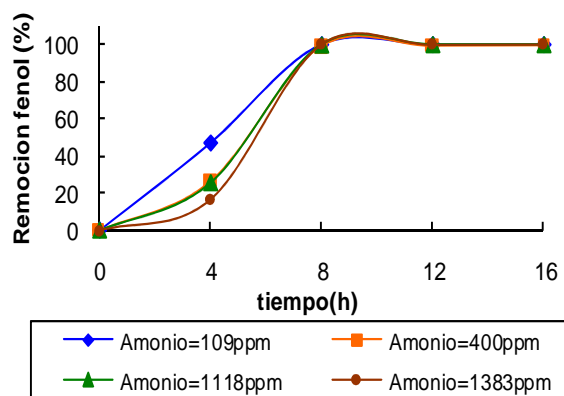


Figura 14. Efecto de la presencia de amonio en el agua residual sobre la velocidad de remoción de fenol por un pool de *Pseudomonas putida*. Rango de ion amonio 1- 1383 ppm de concentración inicial, Concentración inicial de fenol: 50 ppm, Volumen reactor: 5l, inyección aire permanente, T: 28°C, pH: 7. FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-ICP)

El **sulfuro (H₂S)** se evaluó en un rango de concentraciones de sulfuro entre 1- 215 ppm en un tiempo de prueba de 16 horas.

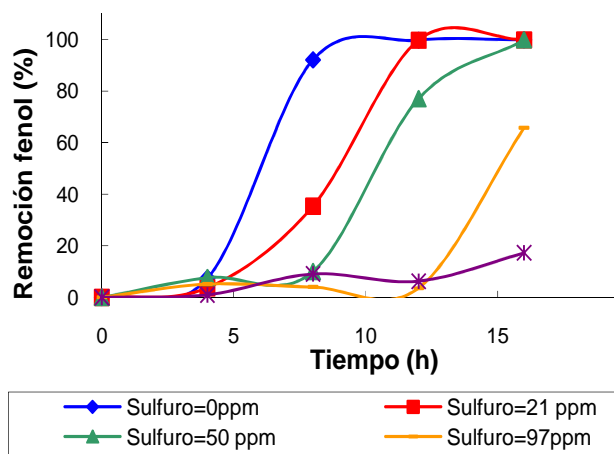


Figura 15. Efecto de la presencia de sulfuro de hidrógeno en el agua residual sobre la velocidad de remoción de fenol por un pool de *Pseudomonas putida*. Rango de sulfuro de hidrógeno 1- 215 ppm de concentración inicial. Concentración inicial de fenol: 50 ppm, Volumen reactor: 5l, con inyección aire permanente, T: 28°C, pH: 7. FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-ICP)

Los resultados obtenidos en este estudio muestran comportamientos

diferentes. A medida que aumentó la concentración de sulfuro inicial, la fase de retardo aumentó notablemente. Mientras que el tiempo de retardo sin presencia de sulfuro fue de aproximadamente 4 horas, el tiempo de retardo aumentó a 8 horas y 12 horas para concentraciones iniciales de sulfuro de 50 y 100 ppm, respectivamente. Para una concentración de sulfuro inicial de 215 ppm la concentración de fenol disminuyó en las 16 horas de prueba, de 49.5 ppm a 41 ppm, es decir un porcentaje de remoción de solo el 17% (Fig 15). En este caso se presentó muerte parcial de los microorganismos y se evidencia la inhibición por la presencia de sulfuro en la biodegradación del fenol. A partir de los datos experimentales la constante de inhibición para el sulfuro (K_{iH_2S}) fue evaluada en **1.6 ppm**.

Para el tratamiento de los datos fue necesario tener en cuenta la concentración de sulfuro k al momento de iniciarse la biodegradación de fenol luego de superar la fase de retardo. Para esto se determinó una correlación entre la concentración "k" la cual es dependiente de la concentración inicial de sulfuro:

$$k = 427,19[H_2S]^{-1,6648} \quad (28)$$

De la misma forma que las pruebas realizadas anteriormente para determinar el efecto del amonio y el sulfuro, se realizó el estudio para determinar el efecto del hidrocarburo.

El **hidrocarburo** se evaluó en un rango de concentraciones entre 1-4600 ppm. Se realizaron pruebas a diferentes concentraciones iniciales de este compuesto, con el fin de evaluar la cinética de biodegradación de fenol y crecimiento celular en un tiempo de prueba de 14 horas. Los resultados obtenidos en este estudio muestran comportamientos similares de biodegradación de fenol y crecimiento celular. Para todas las pruebas con diferentes concentraciones iniciales de hidrocarburo, se obtuvieron porcentajes

de remoción mayores al 95%, a partir de la quinta hora de prueba. La concentración de hidrocarburo en cada prueba no tuvo cambios representativos.

Lo anterior permitió concluir que el efecto ante la presencia de hidrocarburo, hasta la máxima concentración de estudio (4600ppm), no interfiere en el proceso de biodegradación de fenol o en el crecimiento celular. Sin embargo, se debe mencionar que la presencia de hidrocarburo tiene otros efectos fácilmente identificables en el proceso, entre ellos y el más relevante, es la capa de hidrocarburo que se forma en la superficie de las plantas de tratamiento lo cual dificulta la aireación natural del sistema.

4.5 Determinación del efecto de las variables: demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO) en el proceso de biodegradación de fenol.

Para la inclusión de la DBO en el modelo matemático global de biodegradación de fenol, fue necesario determinar previamente, a partir de experimentación en batch a escala laboratorio, la constante de reacción de primer orden de consumo de oxígeno. En la figura (16) se observa los perfiles obtenidos de concentraciones de DBO y DQO para una cinética de 24 horas de biodegradación de fenol en modo batch. En ambos casos se presenta una disminución de estas variables en la medida que ocurre la biodegradación del fenol. Ambas variables mantienen en este periodo una relación cualitativa de proporcionalidad.

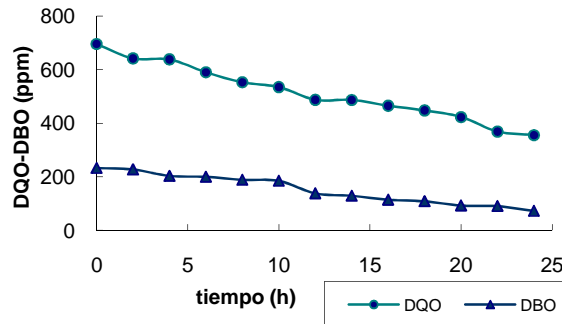
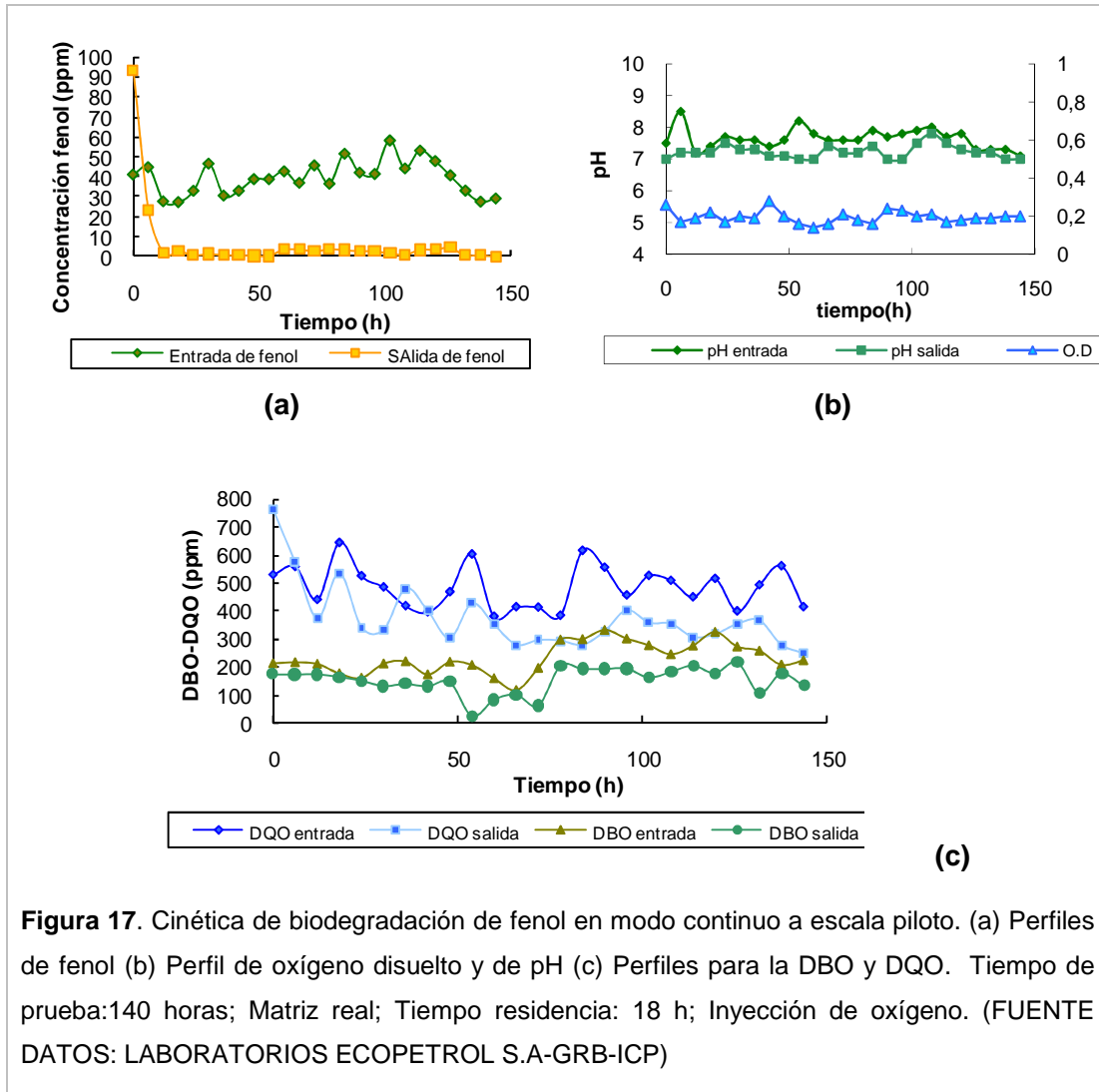
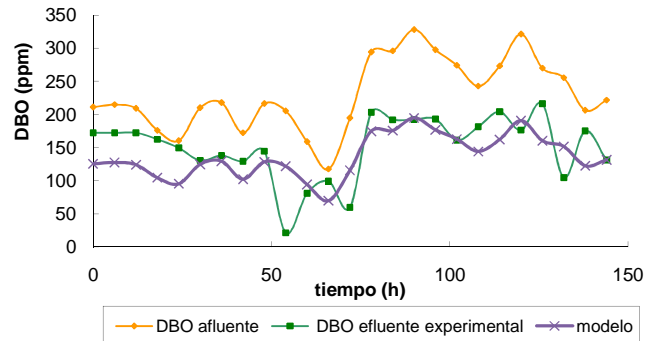


Figura 16. Variación de DBO y DQO en una cinética de biodegradación de fenol en modo batch a escala laboratorio. Tiempo de prueba 24 horas. Matriz real, $S_0=37\text{ppm}$. Inyección de aire, Volumen reactor: 5l, T: 28°C , pH: 7. (FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

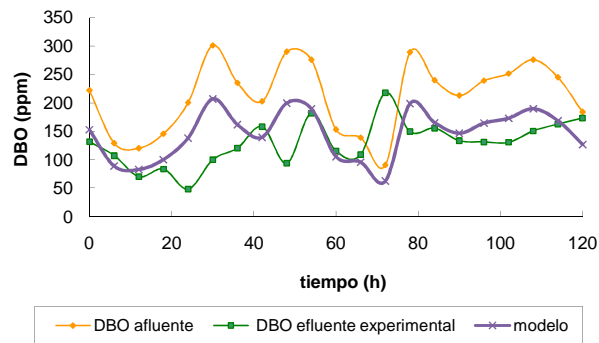
En una prueba posterior donde se amplió el tiempo de prueba se encontró que la variación de la DBO con el tiempo es lineal. El porcentaje de remoción de DBO alcanzado durante el tiempo de prueba fue del 69%. La constante de reacción de primer orden, K , fue calculada como 0.0381 h^{-1} . Las pruebas en continuo fueron realizadas a escala piloto, con el fin de determinar los perfiles de biodegradación de fenol y los perfiles de DBO y DQO durante el tiempo de prueba. Al incluir esta variable en el modelo, se monitoreó en las siguientes pruebas en continuo realizadas a escala piloto para dos tiempos de residencia diferentes: 18 y 12 horas; el tiempo de prueba fue de 150 y 120 horas respectivamente.



En las tres cinéticas realizadas, los valores obtenidos para el parámetro DBO fueron menores que los valores de DQO. Los porcentajes de remoción de DBO para las tres cinéticas fueron en promedio del 36%, 38% y 45%, mientras los porcentajes de remoción de DQO, fueron del 28%, 22% y 25% respectivamente.



(a)



(b)

Figura 18. Cinética de biodegradación en continuo a escala piloto; Perfiles reales de DBO para la entrada y salida del bio-reactor comparados con la curva simulada (a) TRH: 18 horas (b) TRH: 12 horas. (c) Perfiles para la DBO y DQO. Inyección de oxígeno. (FUENTE DATOS: LABORATORIOS ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

La figura 18 corresponde a las curvas comparativas del perfil de DBO a la salida del bio-reactor y la curva generada a partir de la simulación con la correlación obtenida anteriormente. Para cada una de las simulaciones se tuvo en cuenta

las fluctuaciones en los valores de DBO a la entrada del sistema. Dado que las curvas presentan una diferencia significativa el presente desarrollo experimental no permite generalizar un modelo, sin embargo permite evaluar tendencias. Por otro lado, las permanentes fluctuaciones en los valores de DBO y DQO en las corrientes de entrada, dificultan igualmente la comparación y estandarización del modelo.

Estas variables permiten describir algunos fenómenos de la no operación óptima del proceso de biodegradación de fenol, como es el caso particular de la descarga de sodas en el sistema, los cuales son efluentes con altas valores de DBO y DQO que pueden afectar el bio-proceso, por tal motivo es importante evaluar algunos casos particulares a escala laboratorio y piloto para determinar un modelo más acertado en la descripción y predicción de los perfiles de DBO y su correlación con la demanda química de oxígeno (DQO).

4.5.1 Análisis de biodegradabilidad del agua de tratamiento a partir de la DBO y DQO

Para el análisis de la biodegradabilidad del agua residual se utilizó el conjunto de valores de DBO y DQO en el flujo de entrada al bio-reactor en las pruebas en continuo a escala piloto. Para los tres tiempos de residencia de estudio, se determinó puntualmente la relación entre DQO y DBO en la curva típica mostrada en la figura 19. Este análisis permitió visualizar la zona característica de biodegradabilidad de la corriente de agua residual de entrada al bio-reactor punto a punto. Los puntos se grafican en la figura 19, donde se puede observar que para la mayoría de ellos, su relación DQO/DBO corresponde a la zona entre la región factible y de fácil biodegradación.

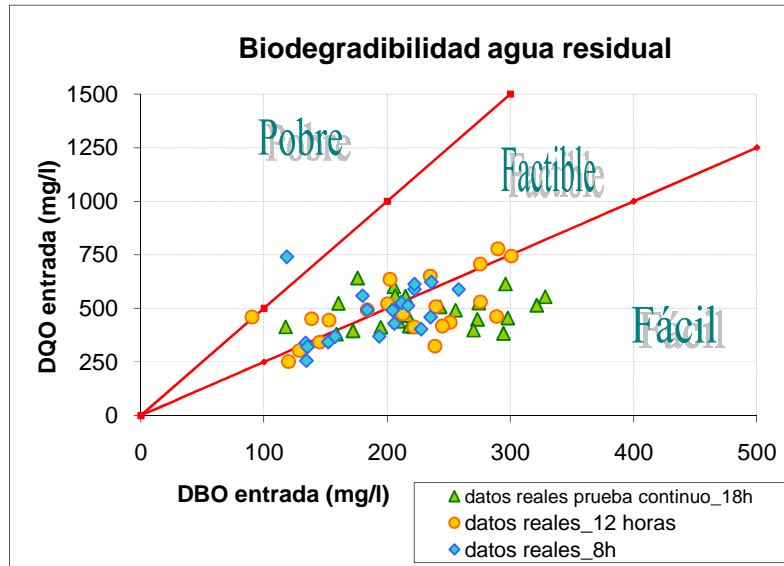


Figura 19. Análisis de biodegradabilidad del agua residual a partir de la relación DQO/DBO, de cinéticas en continuo a escala piloto para tres tiempos de residencia: 18,12 y 8h. (**Fuente gráfica:** Adaptado de CAPPs R.W et al. Design more flexibility into wastewater treatment. Hydrocarbon Processing. Vol. 72 No 12 (Diciembre 1993). Pág. 82; **Fuente datos:** LABORATORIOS ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

A partir de los resultados descritos anteriormente, el modelo preliminar planteado para la DBO es una aproximación. Las pruebas realizadas en continuo a escala piloto no son suficientes para la integración de esta variable en el modelo general desarrollado para el proceso de biodegradación de fenol. El modelo para la DBO debe ser ajustado al sistema real y se debe verificar la correlación entre la DBO y DQO a partir de pruebas donde se minimicen las fluctuaciones en la corriente de entrada.

4.6 MODELOS DE SIMULACIÓN

Se utilizaron como referencia trabajos reportados sobre modelamiento y simulación dinámica de procesos biológicos y tratamiento de aguas residuales para el desarrollo del presente trabajo. Los estudios reportados desarrollan modelos matemáticos y simulaciones para sistemas específicos, tanto para modo en continuo y/o en batch (Jungblut *et al.*, 1997; Banerjee *et al.*, 2000; Ebenhoh *et al.*, 2000; Cruickshank *et al.*, 2000; Nuhoglu *et al.*, 2005; Chung *et al.*, 2005; Vázquez-Rodríguez *et al.*, 2006).

Planteada la cinética de biodegradación de fenol del sistema en estudio y los balances para cada una de las variables, se desarrollaron los modelos de simulación en paralelo con la obtención de los parámetros cinéticos y la evaluación de cada una de las variables de estudio.

Los modelos de simulación posteriores fueron evolucionando hacia modelos más complejos y reales, los cuales tienen en cuenta los efectos en el proceso de remoción de fenol por la presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos, cuyos efectos fueron evaluados independientemente. Los modelos toman en cuenta correlaciones que describen las restricciones del sistema; mientras que los finales incluyen la integración de variables de operación como el suministro de oxígeno y el pH. En el diagrama flujo-nivel (Tabla 13) se integran las variables tenidas en cuenta.

El sistema de ecuaciones diferenciales fue resuelto por el método de diferenciación numérica de Runge-Kutta de cuarto orden. Este método fue escogido debido al alto costo numérico que representa resolver el sistema de ecuaciones diferenciales planteado. Esta solución fue implementada inicialmente en MATLAB 6.5 para su validación y posteriormente fue traducida

a un ambiente MICROSOFT VISUAL C# .NET 2003, con el propósito de generar una solución software *stand alone* y transportable.

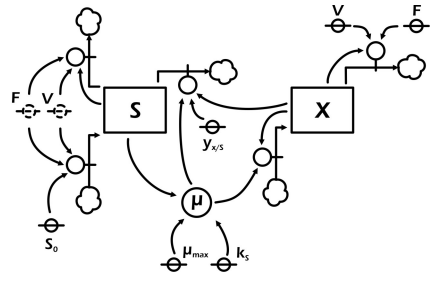
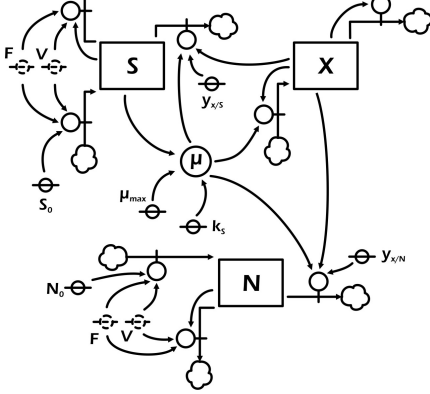
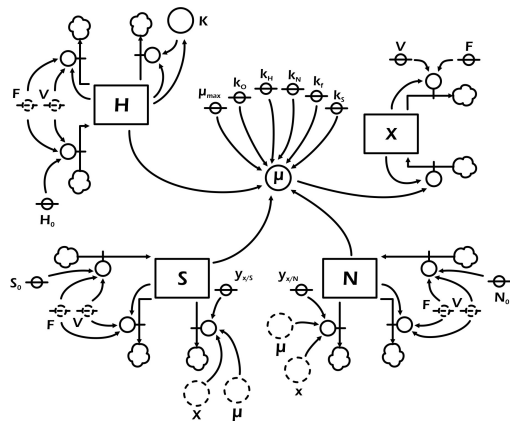
La solución numérica parte de un conjunto de condiciones iniciales para cada uno de los balances. La ecuación de la velocidad específica de crecimiento celular es la única cuyo valor inicial se resuelve dentro del ciclo iterativo.

Para todas las demás ecuaciones, la solución se obtiene aplicando la fórmula de Runge-Kutta de cuarto orden (ecuación 29).

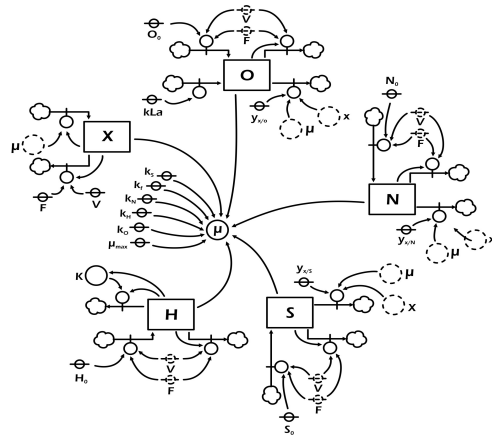
La solución obtenida es la variación en el tiempo para cada uno de las variables contenida en cada uno de los vectores resultantes.

$$\begin{aligned}y_{n+1} &= y_n + \frac{h}{6}(k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4) \\t_{n+1} &= t_n + h \\k_1 &= f(t_n, y_n) \\k_2 &= f\left(t_n + \frac{h}{2}, y_n + \frac{h}{2}k_1\right) \\k_3 &= f\left(t_n + \frac{h}{2}, y_n + \frac{h}{2}k_2\right) \\k_4 &= f(t_n + h, y_n + hk_3)\end{aligned}\tag{29}$$

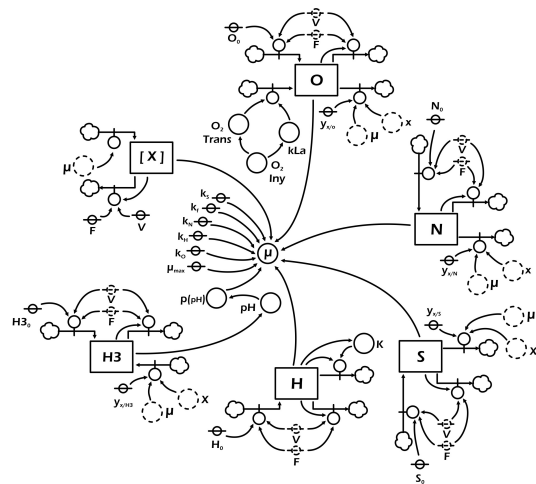
Tabla 13. Diagramas flujo-nivel de los modelos de simulación desarrollados.

MODELO	DIAGRAMA FLUJO-NIVEL
<p>Modelo 1. Describe el fenómeno de biodegradación del fenol y el crecimiento microbiano mediante una cinética de Monod y posteriormente de Haldane. En este modelo solo se tiene en cuenta la inhibición causado por el sustrato principal, el fenol.</p>	
<p>Modelo 2. Describe el fenómeno de biodegradación del fenol y el crecimiento microbiano siguiendo la cinética de Haldane, modificada para el caso de inhibición competitiva. Este modelo incluye el efecto del amonio, por medio de una constante de inhibición, $K_{i \text{ amonio}} = 18863 \text{ ppm}$.</p>	
<p>Modelo 3. Describe el fenómeno de biodegradación del fenol y el crecimiento microbiano siguiendo la cinética de Haldane, modificada para el caso de inhibición competitiva. Incluye además del efecto del amonio, el efecto causado por el sulfuro, con una constante de inhibición $K_{i \text{ sulfuro}} = 1.6 \text{ ppm}$.</p>	

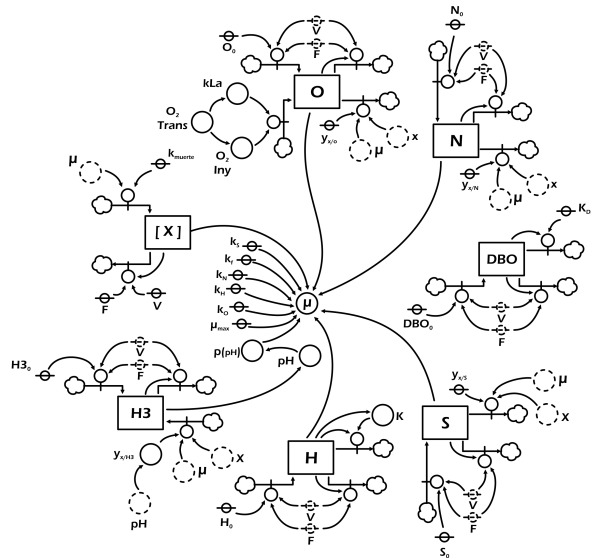
Modelo 4. En este cuarto modelo se incluye el efecto que puede tener la limitación de oxígeno en la cinética de biodegradación de fenol. Se desarrolla, por medio de una cinética de Monod simple, como factor multiplicativo a la ecuación de Haldane.



Modelo 5-6. En estos dos últimos modelos, se integro el efecto de la velocidad máxima de reacción como función del pH del medio, en la cinética de biodegradación, y se complemento el modelo de oxígeno disuelto. Se adicionó una correlación entre el coeficiente de transferencia K_{La} y el oxígeno real inyectado.



Modelo 8.



4.7 ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

4.7.1 Sensibilidad paramétrica

El análisis de sensibilidad paramétrica se desarrolló para los tres principales parámetros cinéticos: constante de saturación (K_s), velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) y constante de inhibición para el fenol (K_f), en forma global se varió cada uno de ellos hacia arriba y hacia abajo. Cada simulación fue desarrollada con la configuración del reactor real (4008), flujo continuo de tratamiento de 3500gpm (TRH=9,5), con una concentración inicial de fenol constante e igual a 50ppm. El tiempo de cada simulación fue de 150 horas.

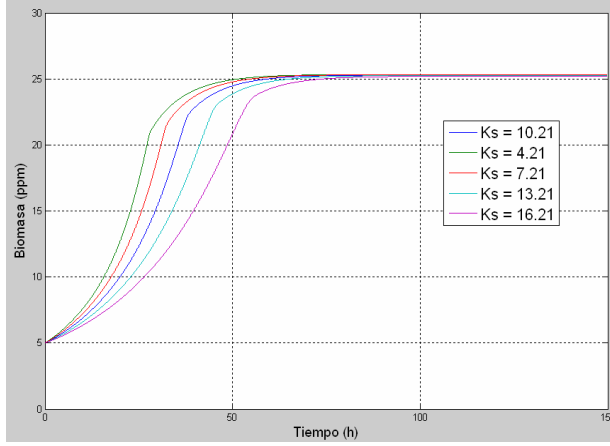
Para el K_s se tomaron intervalos de 3 unidades. El valor experimental para K_s fue de 10,21 ppm. El análisis se desarrolló para dos valores de K_s por encima y por debajo del valor experimental calculado para este parámetro cinético (13,21, 16,21, 7,21 y 4,21 ppm). En la figura (20) se pueden observar los efectos de las variaciones para los perfiles de (a) biomasa y (b) fenol, donde los resultados muestran que a valores más bajos de K_s , el sistema logra alcanzar un estado

estacionario más rápido que a valores mayores de K_s . No obstante, no existe diferencia en cuanto a los niveles de biomasa y fenol alcanzados en el estado estacionario.

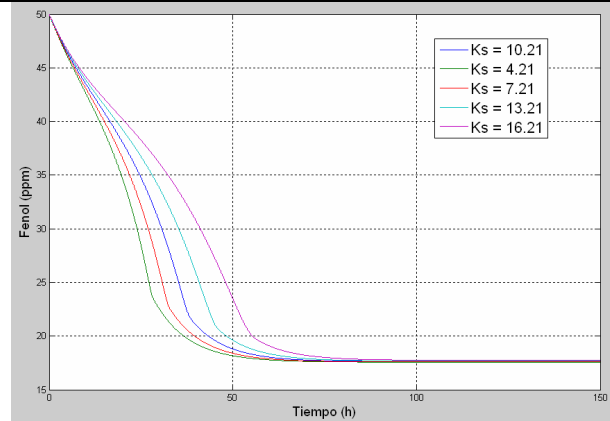
En el caso de las variaciones de la μ_{\max} se tomaron intervalos de 0.05 h^{-1} . El valor determinado experimentalmente para μ_{\max} fue de $0,31 \text{ h}^{-1}$. En la figura (21) se pueden observar los efectos de sus variaciones. Para las simulaciones con valores mayores ($0,36$ y $0,41 \text{ h}^{-1}$) se logró alcanzar estados estables más rápido y con niveles de fenol ligeramente menores y biomasa mayores. Para valores de μ_{\max} menores ($0,26$ y $0,21 \text{ h}^{-1}$) dado la baja velocidad máxima, el crecimiento es muy lento, para el valor de $0,26 \text{ h}^{-1}$ el sistema llegó a presentar un tiempo muy prolongado antes de lograr un estado estable, para el valor más pequeño de prueba, el sistema presentó lavado celular del bio-reactor para las condiciones de prueba.

Para el análisis de sensibilidad del parámetro K_f se tomaron intervalos de 10 unidades. El valor determinado experimentalmente para K_f fue de $51,156 \text{ ppm}$. En la figura (22) se pueden observar los efectos de sus variaciones. Para las simulaciones con valores de inhibición mayores (61.156 , 71.156 y 81.156 ppm) se logró alcanzar estados estables más rápido y con niveles de fenol ligeramente menores y biomasa mayores. Para valores de la constante de inhibición para fenol menores (41 , 31 y 21 ppm) dado la baja concentración de inhibición por parte del fenol, el proceso de biodegradación es restringido manteniendo constantes las condiciones iniciales y de entrada de cada una de las simulaciones llevadas a cabo. Para un K_f de 31 ppm el tiempo necesario para alcanzar un estado estable es muy prolongado, siendo necesarias más de 100 horas. En el caso de una $K_f=21.156 \text{ ppm}$, no hay crecimiento celular bajo las condiciones de estudio.

Figura 20. Variación del parámetro K_s (K_s experimental: 10,21 ppm)

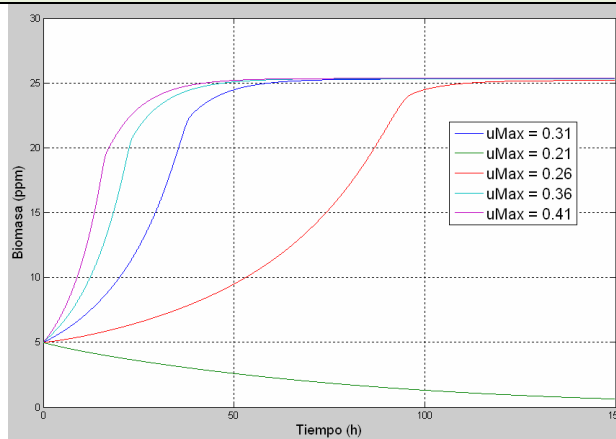


(a)

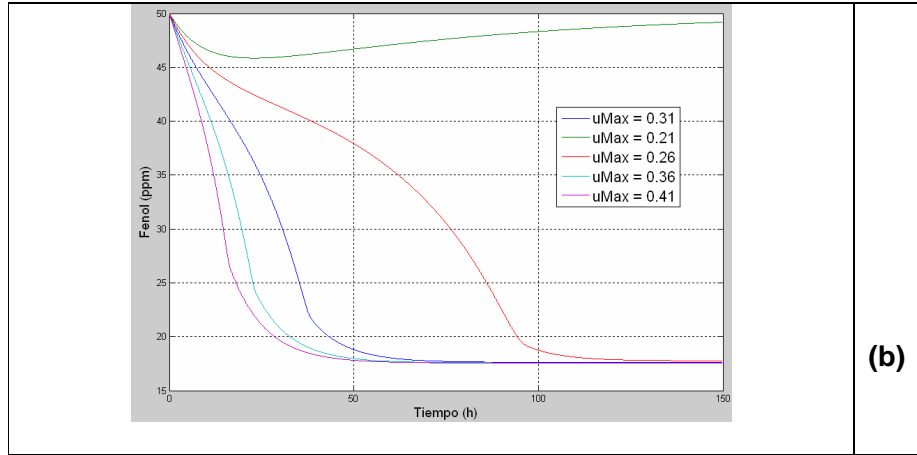


(b)

Figura 21. Variación del parámetro μ_{max} (μ_{max} experimental: 0,31 h^{-1})

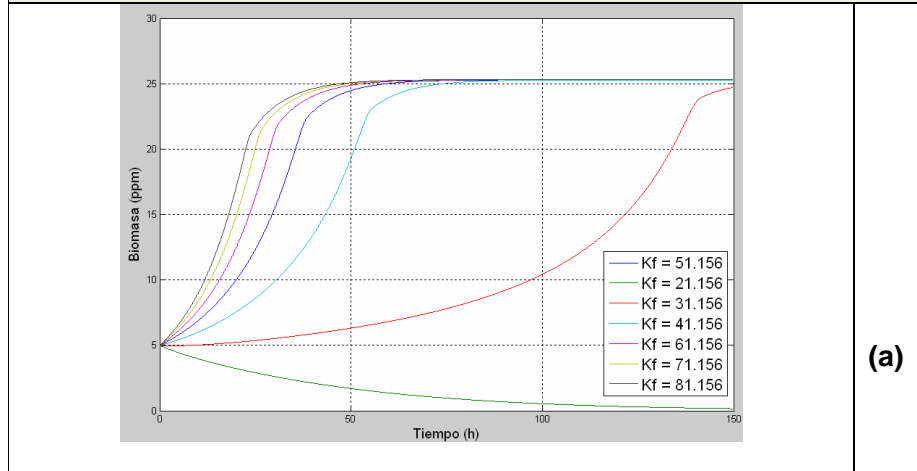


(a)

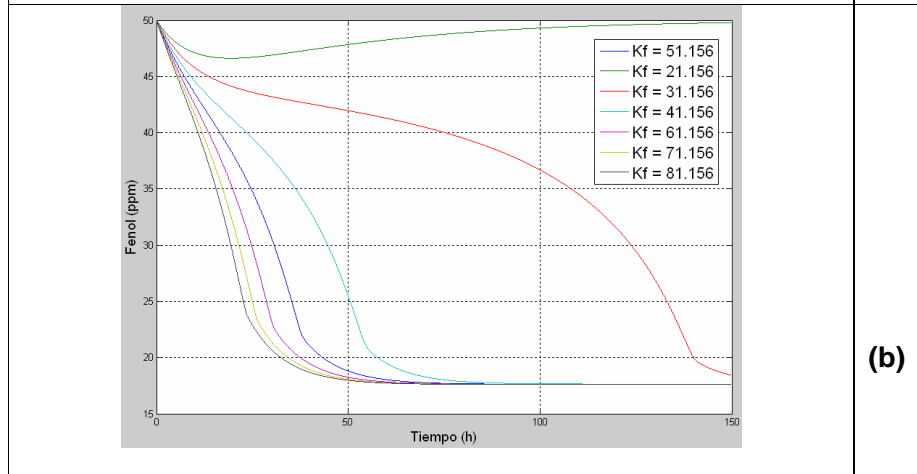


(b)

Figura 22. Variación del parámetro Kf (Kf experimental: 51,156 ppm)



(a)



(b)

4.7.2 Sensibilidad de variables

A partir de la determinación y ajuste de los parámetros cinéticos, se realizaron una serie de pruebas de sensibilidad a cada variable que integra el modelo. Cada prueba consistió en modificar en un sistema en continuo (Bio-reactor industrial GRB (4008), tiempo de retención hidráulico (TRH): 7,5 h; pH: 7), el valor inicial de cada variable dentro del rango operacional, con el fin de analizar el efecto e influencia que tiene la variación de cada variable sobre la remoción de fenol y el tiempo de estabilización del sistema. Estudios similares se reportan en la literatura, donde a partir del desarrollo de modelos matemáticos para diferentes sistemas de biodegradación, se realizan análisis de sensibilidad que permitan ver para cada variable, en un rango determinado, su influencia en el sistema de estudio. Los análisis de sensibilidad, especialmente en 3D son más frecuentes debido a que permiten una interpretación más clara del sistema ante el cambio simultáneo de las principales variables de operación (Watson *et al.*, 2005; Schmidt *et al.*, 1985; Cruickshank *et al.*, 2000; Jungblut *et al.*, 1997; Ebenhoh y Berthe-Corti, 2000; Si-Jing Wang y Kai-Chee Loh, 1999). En el presente trabajo se desarrollaron análisis de sensibilidad de cada variable frente a dos variables respuesta: porcentaje de remoción de fenol y el tiempo de estabilización del sistema (figuras 23-33).

FENOL

Figura 23. Efecto de la variación de la concentración inicial de fenol sobre la biodegradación de fenol

Para las condiciones de estudio, la concentración inicial de fenol influyó de manera no-lineal sobre el porcentaje de remoción de fenol, inhibiendo completamente el proceso a concentraciones superiores a 100 ppm, y alcanzando su óptimo entre 40 y 50 ppm.

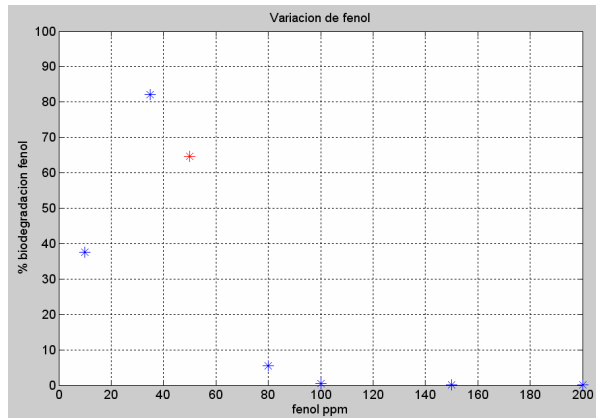
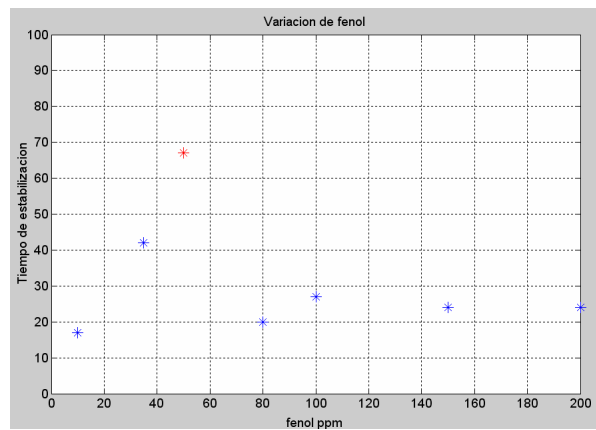


Figura 24. Efecto de la variación de la concentración inicial de fenol en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario.

De acuerdo al análisis se puede observar que el tiempo necesario para lograr una estabilización del sistema presentó un comportamiento no lineal, con la concentración inicial de fenol. Para altas concentraciones de fenol se presenta inhibición y el sistema tiende a estabilizarse rápidamente con remociones muy bajas.



BIOMASA

Figura 25. Efecto de la variación de la concentración inicial de biomasa sobre la remoción de fenol.

Para las condiciones de estudio, el rango de concentración de biomasa inicial de estudio (0-30 ppm), el porcentaje de remoción de fenol final no se vio afectado por esta variable.

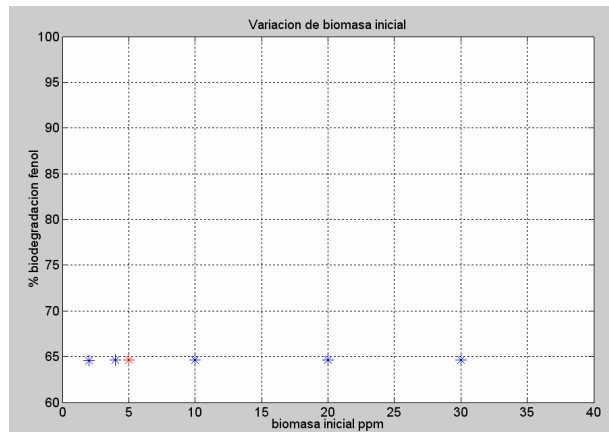
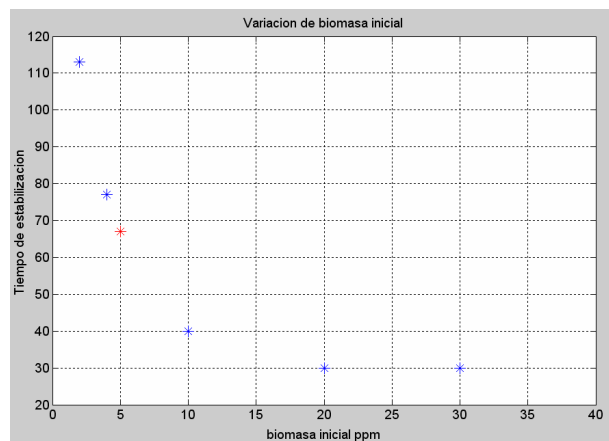


Figura 26. Efecto de la variación de la concentración inicial de biomasa en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario.

La concentración inicial de biomasa influyó significativamente en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario. A mayores concentraciones de biomasa, el tiempo requerido para alcanzar un estado estacionario es menor. Sin embargo, para concentraciones de biomasa superior a 20 ppm, la variación del tiempo necesario, no es significativo.



SULFURO

Figura 27. Efecto de la variación de la concentración inicial de sulfuro sobre la remoción de fenol

La concentración inicial de sulfuro no afectó el porcentaje de remoción de fenol, el sistema soportó hasta concentraciones de sulfuro mayores a 20 ppm. Para concentraciones iniciales superiores se presentó inhibición por sulfuro. En este último caso (H_2S : 35 ppm), el porcentaje de remoción de fenol disminuyó significativamente.

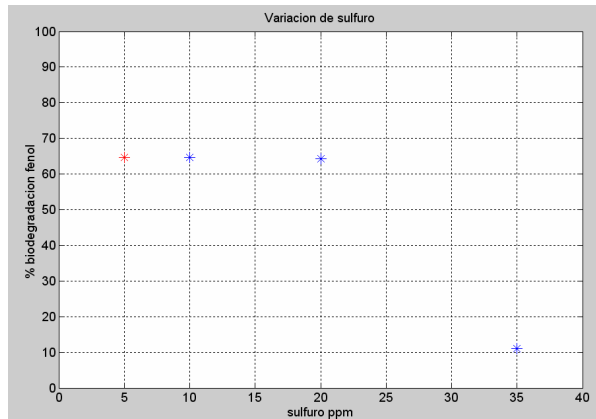
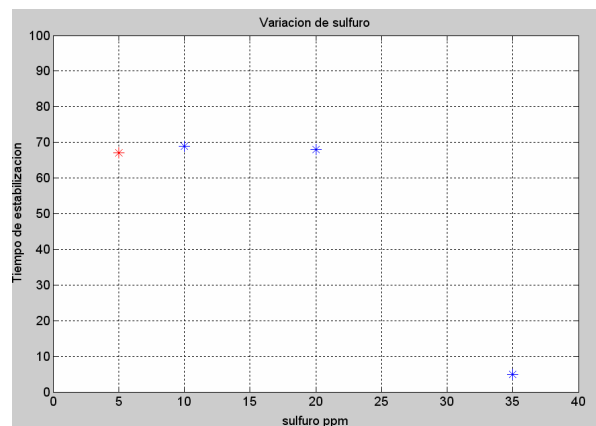


Figura 28. Efecto de la variación de la concentración inicial de sulfuro en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario.

Para las condiciones de estudio y concentraciones mayores a 30 ppm, se presentó inhibición del sistema, por tanto el proceso de biodegradación se detiene, alcanzando un pronto estado estacionario en porcentajes de remoción de fenol muy bajos (5%).



AMONIO

Figura 29. Efecto de la variación de la concentración inicial de amonio sobre la remoción de fenol.

Para las condiciones de operación y el rango de concentración inicial de Amonio de estudio (0-200ppm) no se presentó variación en el porcentaje de remoción de fenol (65%) ni en el tiempo necesario para la estabilización del sistema (figura 30).

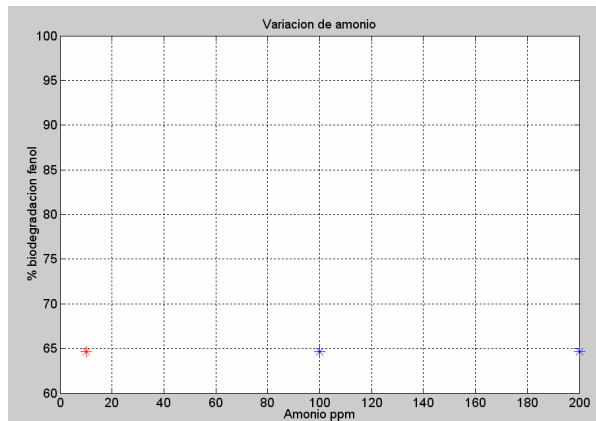
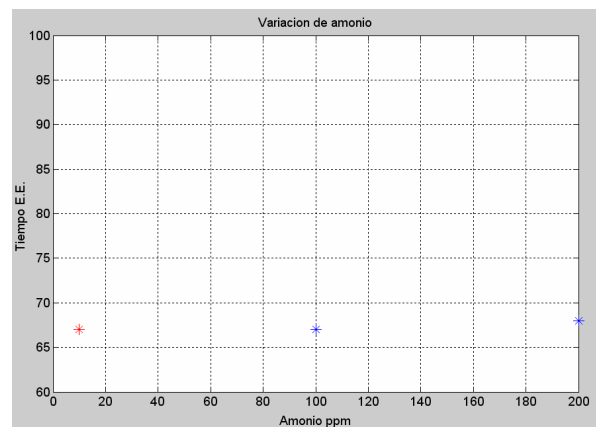
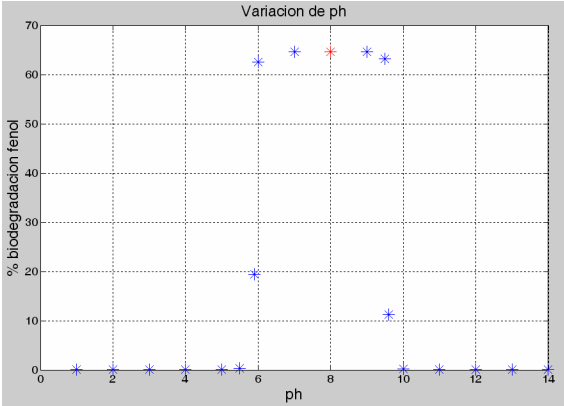
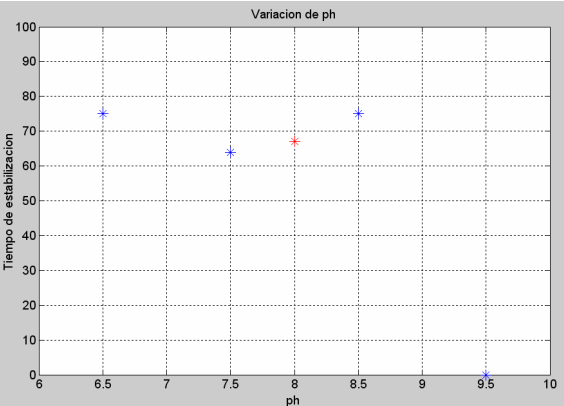


Figura 30. Efecto de la variación de la concentración de amonio inicial en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario.



pH																																					
<p>Figura 31. Efecto de la variación de del pH inicial sobre la remoción de fenol.</p> <p>Para las condiciones de estudio, El pH del afluente no afectó el porcentaje de remoción mientras se mantuvo en el rango de operación determinado: 6.5 – 9 unidades. Por encima o por debajo de este rango, la biomasa es afectada significativamente, lo que impide la biodegradación de fenol.</p>	 <table border="1"> <caption>Data for Figura 31: % biodegradación fenol vs pH</caption> <thead> <tr> <th>pH</th> <th>% biodegradación fenol</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>0</td></tr> <tr><td>2</td><td>0</td></tr> <tr><td>3</td><td>0</td></tr> <tr><td>4</td><td>0</td></tr> <tr><td>5</td><td>0</td></tr> <tr><td>6</td><td>20</td></tr> <tr><td>6</td><td>65</td></tr> <tr><td>7</td><td>65</td></tr> <tr><td>8</td><td>65</td></tr> <tr><td>8</td><td>65</td></tr> <tr><td>9</td><td>65</td></tr> <tr><td>9</td><td>65</td></tr> <tr><td>10</td><td>12</td></tr> <tr><td>11</td><td>0</td></tr> <tr><td>12</td><td>0</td></tr> <tr><td>13</td><td>0</td></tr> <tr><td>14</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	pH	% biodegradación fenol	1	0	2	0	3	0	4	0	5	0	6	20	6	65	7	65	8	65	8	65	9	65	9	65	10	12	11	0	12	0	13	0	14	0
pH	% biodegradación fenol																																				
1	0																																				
2	0																																				
3	0																																				
4	0																																				
5	0																																				
6	20																																				
6	65																																				
7	65																																				
8	65																																				
8	65																																				
9	65																																				
9	65																																				
10	12																																				
11	0																																				
12	0																																				
13	0																																				
14	0																																				
<p>Figura 32. Efecto de la variación del pH inicial en el tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario.</p> <p>En el rango de operación de pH inicial (6-9), las diferencias del tiempo necesario para lograr un estado estable, no son significativas. Valores de pH cercanos o iguales a 7.5 mejoran el tiempo de estabilización del proceso, sin afectar los porcentajes de remoción de fenol.</p>	 <table border="1"> <caption>Data for Figura 32: Tiempo de estabilización vs pH</caption> <thead> <tr> <th>pH</th> <th>Tiempo de estabilización</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>6.5</td><td>75</td></tr> <tr><td>7.5</td><td>65</td></tr> <tr><td>8</td><td>68</td></tr> <tr><td>8.5</td><td>75</td></tr> <tr><td>9.5</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	pH	Tiempo de estabilización	6.5	75	7.5	65	8	68	8.5	75	9.5	0																								
pH	Tiempo de estabilización																																				
6.5	75																																				
7.5	65																																				
8	68																																				
8.5	75																																				
9.5	0																																				

FLUJO VOLUMÉTRICO DE TRATAMIENTO

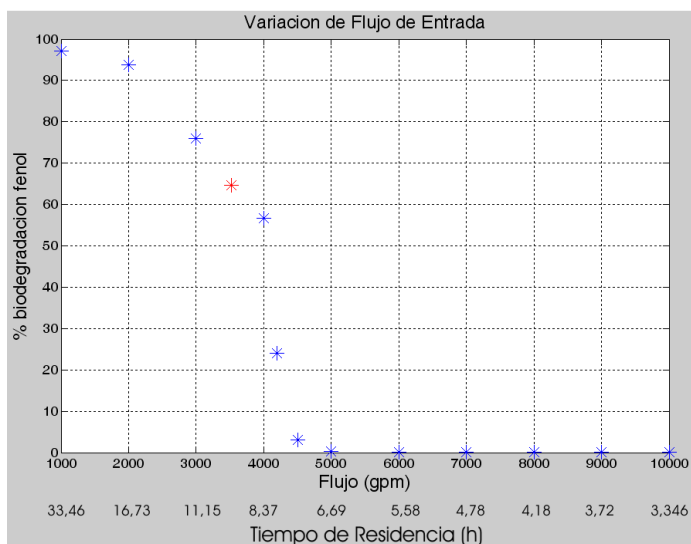


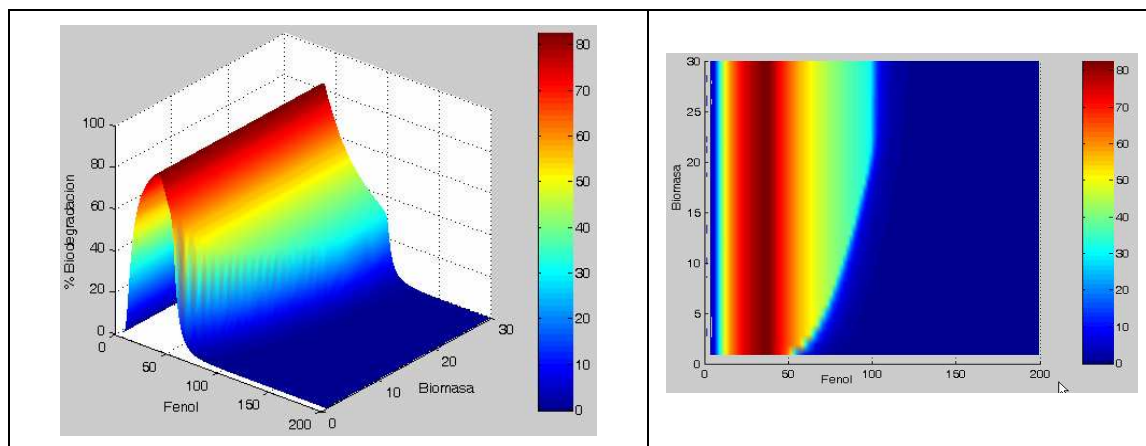
Figura 33. Efecto de la variación del flujo volumétrico de tratamiento sobre la remoción de fenol para el sistema GRB.

El valor del flujo volumétrico del afluente afecta de manera directa el porcentaje de remoción de fenol final; El porcentaje de remoción decrece con el aumento del flujo de tratamiento, debido a la disminución en el tiempo de retención hidráulico.

Además de las variaciones con una sola variable, se realizaron análisis donde se variaron simultáneamente dos de las variables independientes con tal de obtener una mejor aproximación de los efectos combinados de estas, e identificar el orden de importancia de una variable frente a la otra. Los análisis de sensibilidad a partir de la variación de dos variables y el análisis del porcentaje de remoción de fenol como respuesta, permitieron verificar las mejores condiciones operacionales y su influencia en el bio-proceso (figuras 34-37). Para realizar el análisis se realizaron pruebas en un rango determinado para cada variable, con las siguientes condiciones: Bio-reactor industrial (4008), Flujo volumétrico de tratamiento: 4500 gpm, pH: 7,5 unidades, máximo

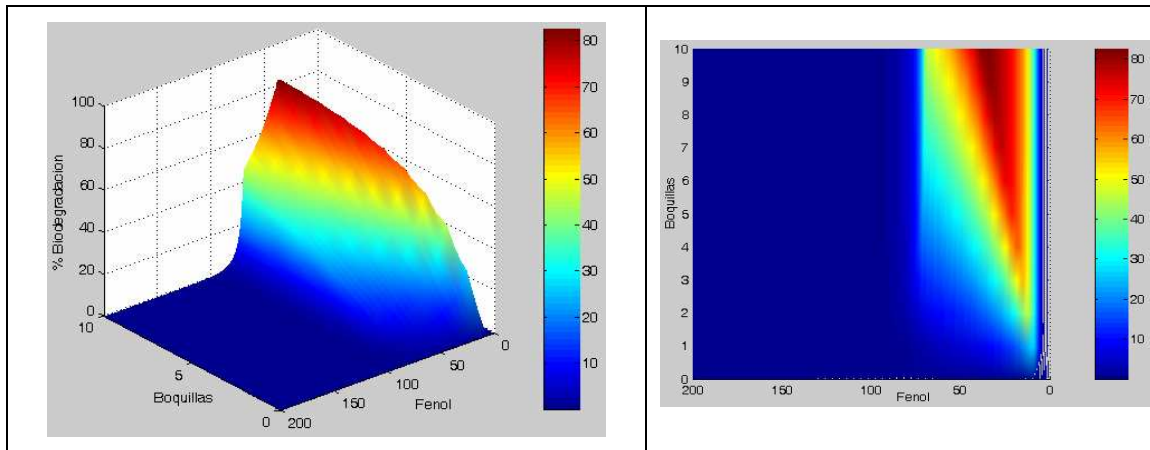
inyección de oxígeno suministrada por el sistema (tabla 12), concentración de sulfuro y amonio inicial de 1 y 10 ppm respectivamente.

Figura 34. Porcentaje de remoción de fenol vs concentración de fenol y biomasa inicial



La figura 34 muestra el diagrama de fases del efecto de la concentración de fenol y biomasa sobre la remoción de fenol. La variación simultánea Fenol - Biomasa resultó en un perfil no lineal, donde para concentraciones de fenol menor a 50ppm la concentración inicial de biomasa no es significativa para el porcentaje final de remoción de fenol alcanzado. Por encima de 50ppm de concentración inicial de fenol, los porcentajes de remoción disminuyen, mientras que el aumento de la concentración de biomasa puede llegar a favorecer de manera suave los porcentajes de remoción alcanzados.

Figura 35. Porcentaje de remoción de fenol vs concentración de fenol inicial y número de boquillas en funcionamiento



La variación simultánea de fenol y la cantidad de oxígeno inyectado (boquillas en funcionamiento) resultó en un perfil no lineal. El porcentaje de biodegradación se vio afectado principalmente por la cantidad de aire disponible. Se alcanzó un valor óptimo con la totalidad de las boquillas funcionando y una concentración de fenol en el afluente aproximada entre 40-50 ppm.

Figura 36. Diagrama de fase del efecto de la concentración de biomasa y boquillas sobre la remoción de fenol.

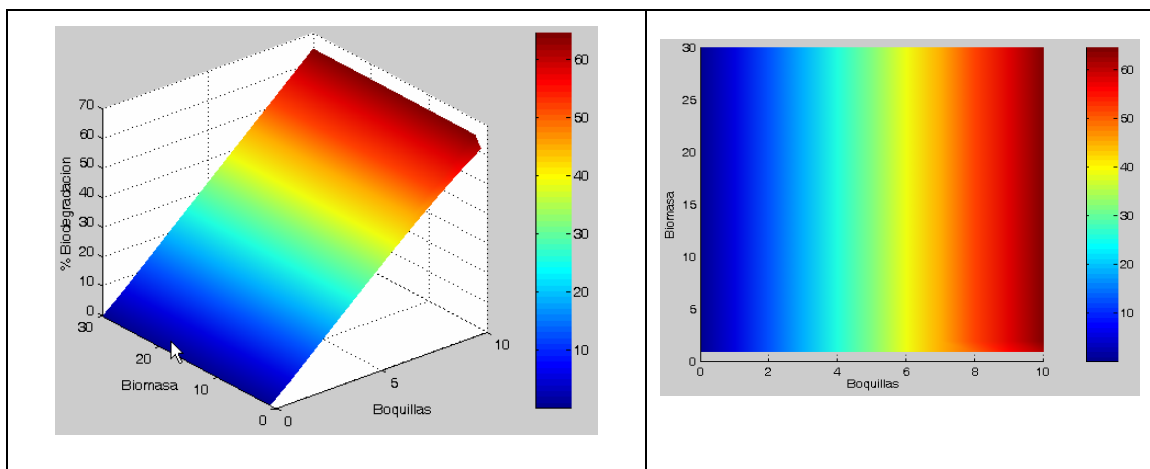
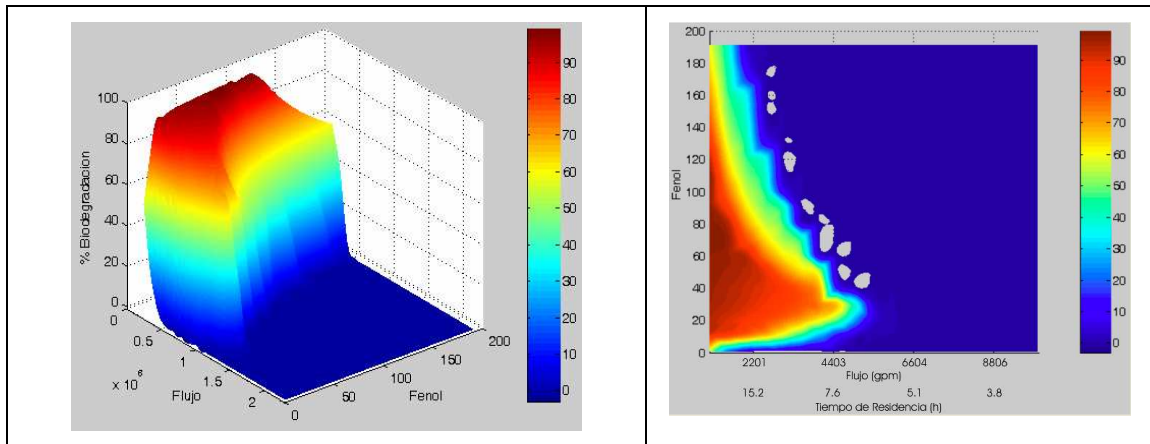


Figura 37. Diagrama de fase del efecto de la concentración de biomasa y boquillas sobre la remoción de fenol.



En la variación simultánea de biomasa y boquillas funcionales (aire suministrado) (Figura 36), se observó una clara relación lineal, donde la variable que afecta significativamente el porcentaje de remoción de fenol es el número de boquillas funcionales. Como contraste, se logran menores tiempos de estabilización al aumentar la concentración inicial de biomasa.

En la figura 37 se analiza el efecto de la concentración inicial de fenol y el flujo volumétrico de tratamiento. En los casos anteriores, para el flujo normal de operación (4500gpm), la concentración inicial de fenol apropiada para alcanzar porcentajes de remoción de fenol alrededor del 65% era entre 40 y 50 ppm, sin embargo el análisis de la figura 37, nos permite observar que a medida que el flujo de tratamiento es menor, es decir tiempos de retención hidráulico más amplios, el sistema es capaz de soportar condiciones de concentración inicial de fenol más altas sin disminuir los porcentajes de remoción final alcanzados.

5. VALIDACIÓN DE LOS MODELOS

5.1 SOFTWARE

A partir del planteamiento y desarrollo del modelo matemático, dentro del convenio en el cual se realizó la presente tesis, se diseñó y desarrolló un software cuya construcción de la interfaz tuvo como principal objetivo ser una herramienta metodológica, funcional y práctica, de manera que sirviera para contener el modelo matemático en función de su uso y la manipulación por parte de usuarios que tengan conocimiento del proceso biológico para la remoción continua de fenol de aguas residuales industriales.

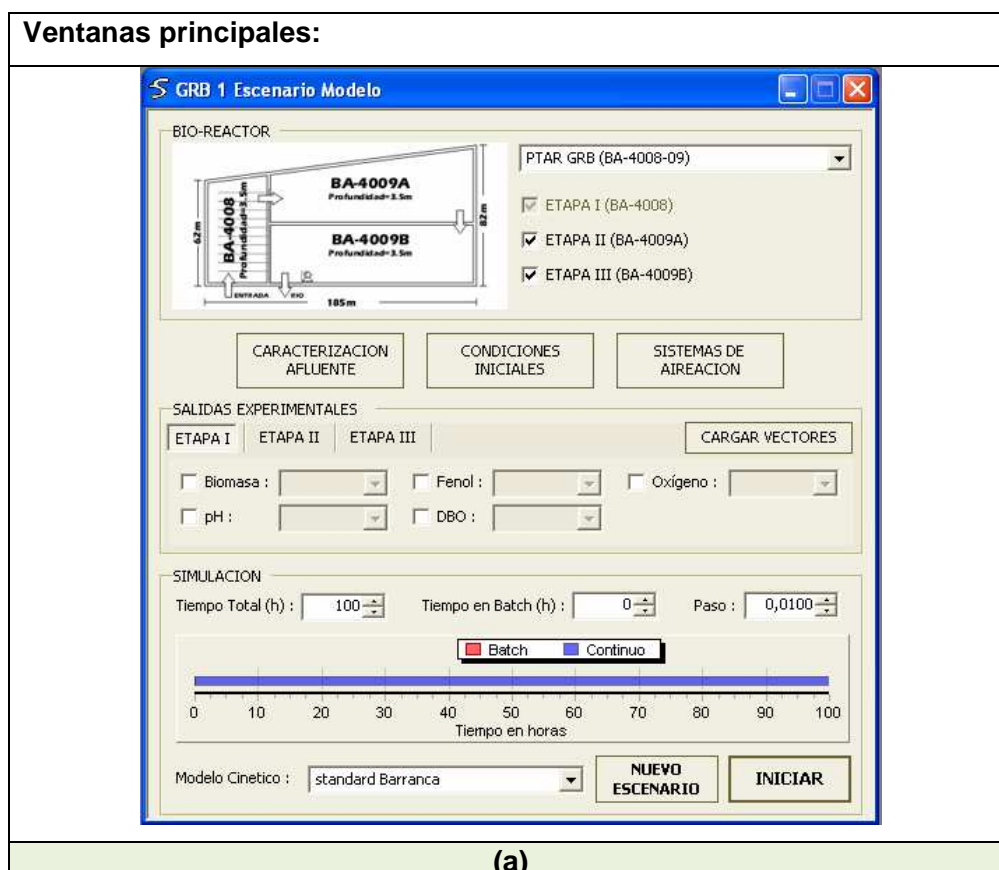
La interfaz fue desarrollada en una plataforma Microsoft Windows, se usó el lenguaje de programación visual C#.Net 2003 el cual permite la expansibilidad de la aplicación. El código desarrollado es modular y transportable y se buscó la compatibilidad con la herramienta Microsoft Office Excel para el ingreso y/o exportación de datos.

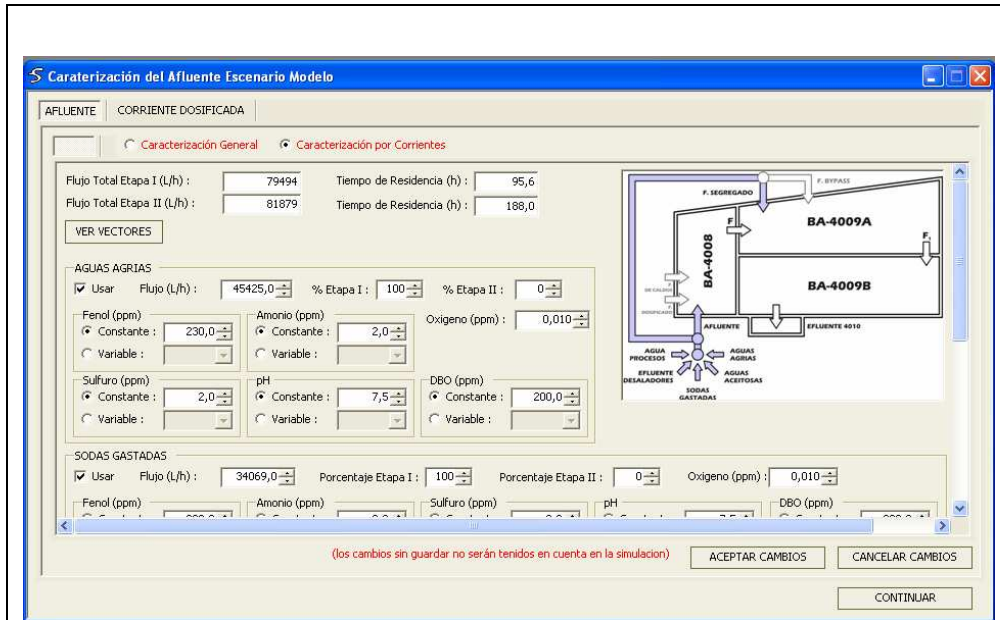


Figura 38. Ventana de bienvenida_Software EcoBioSystem

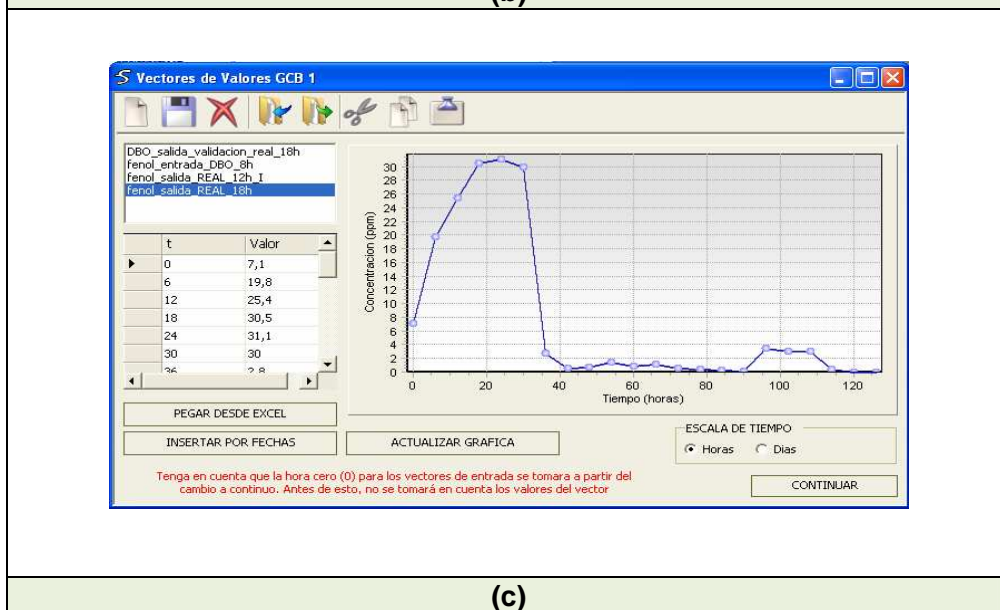
La aplicación permite la introducción de nuevas configuraciones para el sistema, variación de datos cinéticos y condiciones de funcionamiento. Los resultados de cada simulación se presentan en medio gráficos y tabulados.

Este tipo de herramientas y/o aplicaciones, posteriores al desarrollo de un modelo matemático, permiten la interacción virtual con el proceso y la evaluación de cada una de las variables tenidas en cuenta. El software desarrollado para el proceso continuo de biodegradación de fenol de las aguas residuales industriales de las refinerías en estudio, es considerado una herramienta práctica, novedosa y de gran utilidad en el conocimiento del proceso y en el desarrollo de oportunidades de mejoramiento de los sistemas biológicos actuales de remoción de fenol. En la figura 39. se observan algunas imágenes de las principales ventanas del software desarrollado dentro del convenio.

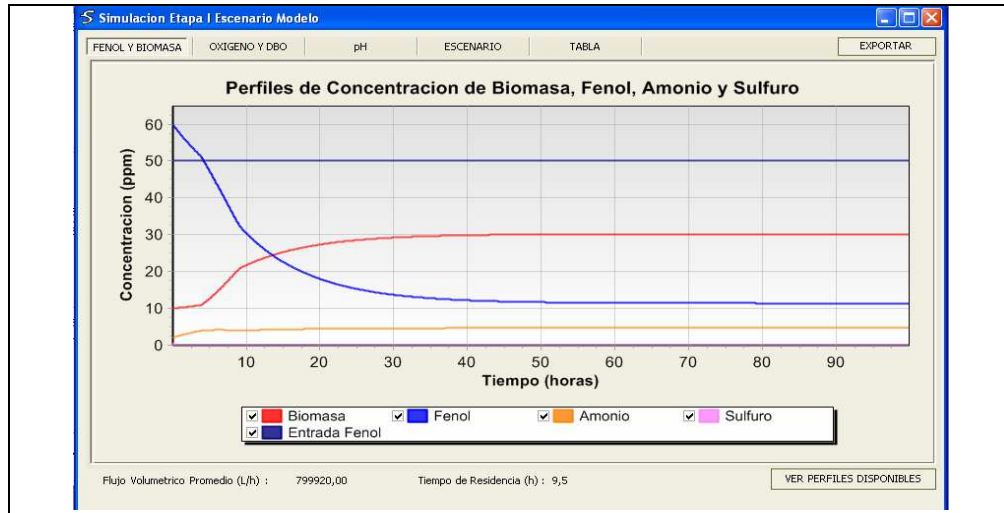




(b)



(c)



(d)

t	Biomasa (ppm)	Fenol (ppm)	Amonio (ppm)	Sulfuro (ppm)	Oxigeno (ppm)	pH	DBO (ppm)	% de Biodegra
0	10	59,88	2,02	0,73	2,08	7,49	100,24	0
0,1	10,02	59,62	2,09	0,04	2,26	7,49	100,79	0
0,2	10,03	59,37	2,15	0	2,43	7,49	101,34	0
0,3	10,05	59,11	2,21	0	2,61	7,49	101,87	0
0,4	10,07	58,86	2,27	0	2,78	7,49	102,39	0
0,5	10,09	58,61	2,33	0	2,93	7,49	102,91	0
0,6	10,11	58,36	2,38	0	3,08	7,49	103,42	0
0,7	10,13	58,11	2,44	0	3,21	7,49	103,92	0
0,8	10,15	57,86	2,5	0	3,33	7,49	104,41	0
0,9	10,17	57,62	2,56	0	3,44	7,49	104,9	0
1	10,19	57,38	2,61	0	3,54	7,49	105,38	0
1,1	10,21	57,14	2,67	0	3,63	7,49	105,85	0
1,2	10,23	56,9	2,72	0	3,71	7,49	106,31	0
1,3	10,25	56,66	2,77	0	3,79	7,49	106,77	0
1,4	10,27	56,43	2,83	0	3,86	7,49	107,22	0
1,5	10,3	56,2	2,88	0	3,92	7,49	107,66	0
1,6	10,32	55,97	2,93	0	3,98	7,49	108,09	0
1,7	10,34	55,74	2,98	0	4,03	7,49	108,52	0
1,8	10,36	55,51	3,03	0	4,07	7,48	108,94	0
1,9	10,39	55,28	3,08	0	4,12	7,48	109,36	0
2	10,41	55,06	3,13	0	4,16	7,48	109,77	0
2,1	10,43	54,84	3,18	0	4,19	7,48	110,17	0

(e)

Figura 39. Ventanas principales del software EcoBioSystem. (a) ventana escenario (b) Ventana de caracterización del afluente (c) Ventana de vectores de valores (d) Ventana resultados graficados (e) Ventana resultados tabulados.

5.2 PRUEBAS DE VALIDACIÓN DEL MODELO

Para la validación del modelo matemático, las curvas simuladas fueron obtenidas a partir del Software “EcoBioSystem”, el cual contiene el modelo matemático desarrollado en la presente tesis para el proceso de biodegradación de fenol en las aguas residuales industriales de la refinería de Barrancabermeja, realizado dentro del convenio UIS-ICP.

Las primeras pruebas de validación del modelo cinético y el modelo matemático global planteado para el proceso, se realizaron a partir de pruebas en batch a nivel de laboratorio. Los datos reales de concentración de fenol durante las pruebas fueron comparados con los perfiles obtenidos a partir de las simulaciones llevadas a cabo bajo las mismas condiciones.

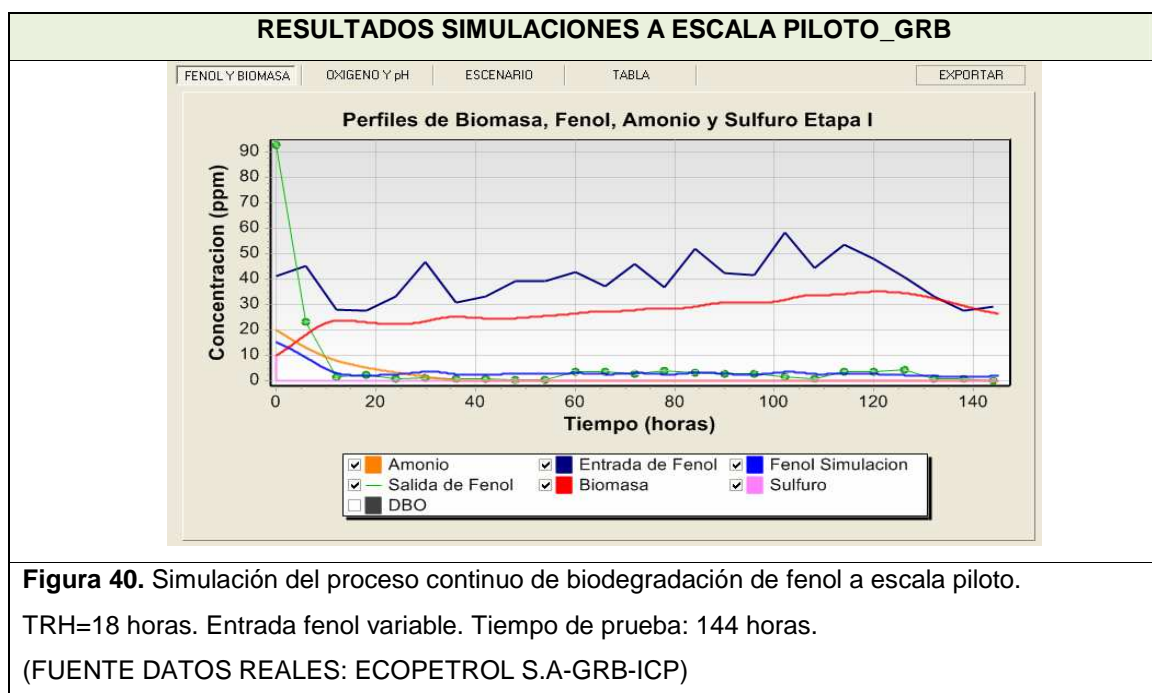
Las pruebas de validación en condiciones de operación en continuo fueron realizadas en el bio-reactor piloto (4081C), para dos tiempos de retención hidráulico (TRH) 12 y 18 horas (figura 40 y 41) y para el bio-reactor industrial para TRH: 18, 12 y 8 horas (figura 42-51); las variables que fueron monitoreadas a la salida del bio-reactor en ambos casos fueron el pH y la concentración de fenol.

La concentración de fenol en el afluente es introducida a la simulación como un vector de concentración versus el tiempo de prueba, a partir de datos reales, con el fin de simular el proceso de remoción de fenol a partir de las mismas condiciones de operación.

Los resultados obtenidos en las pruebas en continuo, en el bio-reactor piloto, y la posterior comparación con los resultados de la simulación, permiten concluir que el modelo matemático y cinético planteado describe el proceso de remoción de fenol a partir del pool biodegradador.

Debido a que la concentración de fenol en la corriente de entrada al bio-reactor piloto no es constante, lo que impide al sistema lograr un estado estable, la

simulación es llevada a cabo a partir de datos de reales de concentración de fenol a la entrada, introducidos como un vector de entrada y teniendo en cuenta las condiciones de operación reales del sistema. Los perfiles de las curvas de concentración de fenol en el efluente, simulado y real son similares. El tiempo de residencia influye en los porcentajes de remoción alcanzados en cada sistema; en el caso de la prueba con el mayor tiempo de retención de 18 horas, los porcentajes de remoción de fenol fueron los más altos. Estos resultados son predichos por el modelo.



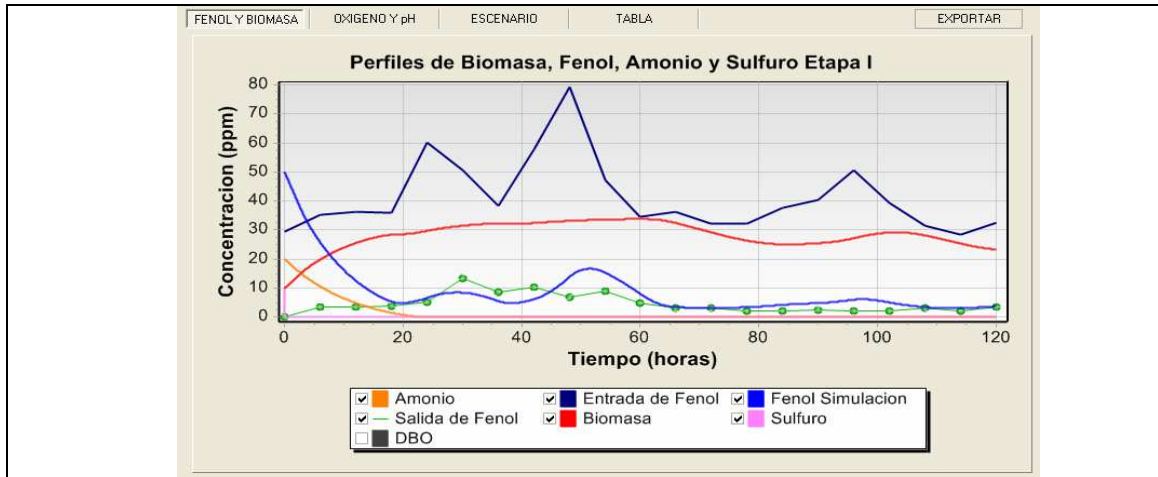


Figura 41. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala **piloto**. TRH=12 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 120 horas. (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

En el caso de las pruebas en continuo en el bio-reactor industrial, las simulaciones fueron llevadas a cabo con tiempos de simulación superior a 100 horas. En estas simulaciones es introducido un vector de la concentración de fenol real en la corriente de entrada al bio-reactor. En la figuras 42-51, se observan la distintas simulaciones con tiempos de residencia de 18, 12 y 8 horas con condiciones reales de operación y flujo de aire inyectado (tabla 12). Debido a las perturbaciones presentadas en la entrada, las concentraciones de fenol a la salida para la curva simulada y datos reales fluctúan, sin embargo las curvas muestran una misma tendencia.

Las curvas de cada una de las figuras muestran los perfiles comparativos para la concentración de fenol y para el pH. En el caso de estas dos variables monitoreadas se presentó una buena aproximación entre las curvas a partir de datos experimentales y las curvas obtenidas a partir del software. El modelo de pH presentó una buena aproximación a pesar que el modelo planteado no incluye todas las especies que afectan su valor en cada momento.

Las pruebas de validación permiten observar la influencia del tiempo de residencia en el bio-proceso, favoreciendo porcentajes de remoción altos, tiempos amplios y concentraciones de fenol en el afluente controladas en un rango entre 40-50ppm. La aireación actual del bio-reactor industrial es inferior a la demanda requerida por los microorganismos biodegradadores de fenol, por tanto es una variable limitante del proceso.

La figura 42. muestra las curvas obtenidas, real y simulada, para la primera prueba de validación a escala industrial con un TRH de 18 horas, en este caso particular se puede observar en la curva real, una fase de adaptación de los microorganismo al medio de aproximadamente 35 horas; las bruscas y altas concentraciones de fenol en el afluente durante las primeras horas influyen al amplio periodo de adaptación.

La figura 44. muestra la prueba realizada para un tiempo de residencia de 12 horas, las curvas muestran que a pesar de la fluctuaciones presentadas en la concentración de fenol a la entrada, el modelo presenta concentraciones de salida para el fenol muy similares a los datos reales; Sin embargo este tipo de modelos, además de la simulación permite la identificación de fenómenos no tenidos en cuenta en el desarrollo del modelo; En este caso particular, la curva simulada se desvió notablemente de los datos reales a partir de la hora 120, debido a que el sistema se vio afectado por la presencia de un biocida que mató la biomasa presente y detuvo la degradación del fenol.

Un caso similar se presentó en la prueba con un tiempo de residencia de 18 horas (figura 46), en este caso, se presentó un fenómeno aún no identificado; sin embargo el sistema se auto-recupero en un periodo de aproximadamente 20 horas, posteriormente las curvas para la concentración de fenol real y simulada fueron similares.

RESULTADOS SIMULACIONES A ESCALA REAL_4008_GRB

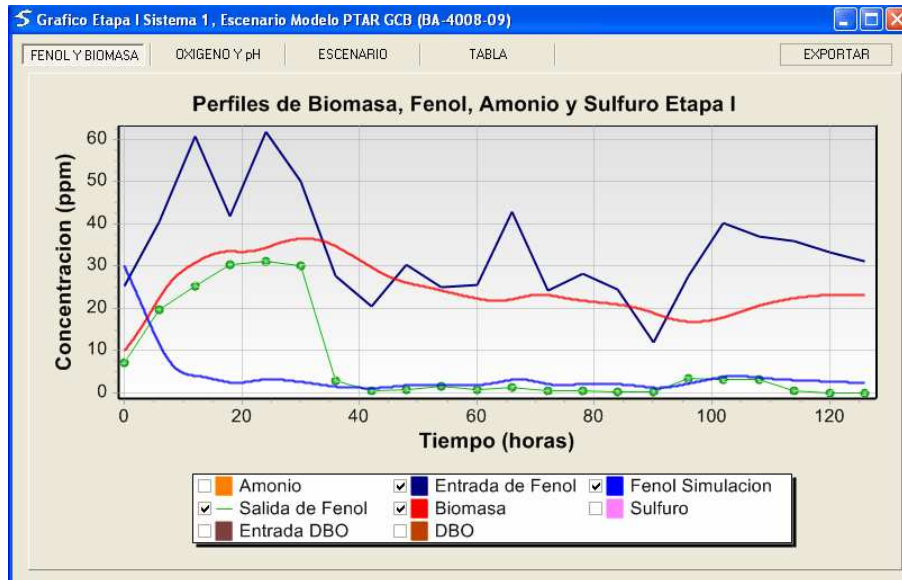


Figura 42. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=18 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 126 horas. (Abril 2008)
(FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

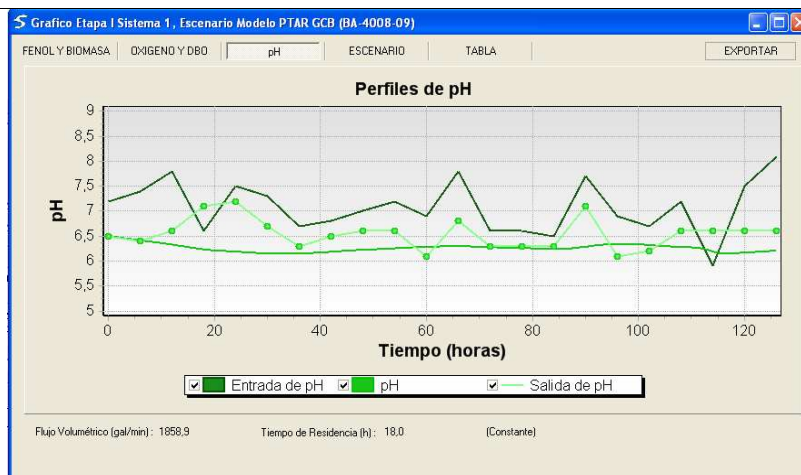


Figura 43. Prueba de validación en el bio-reactor 4008 en modo continuo. TRH=18 horas Tiempo de prueba=126 horas .
(FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

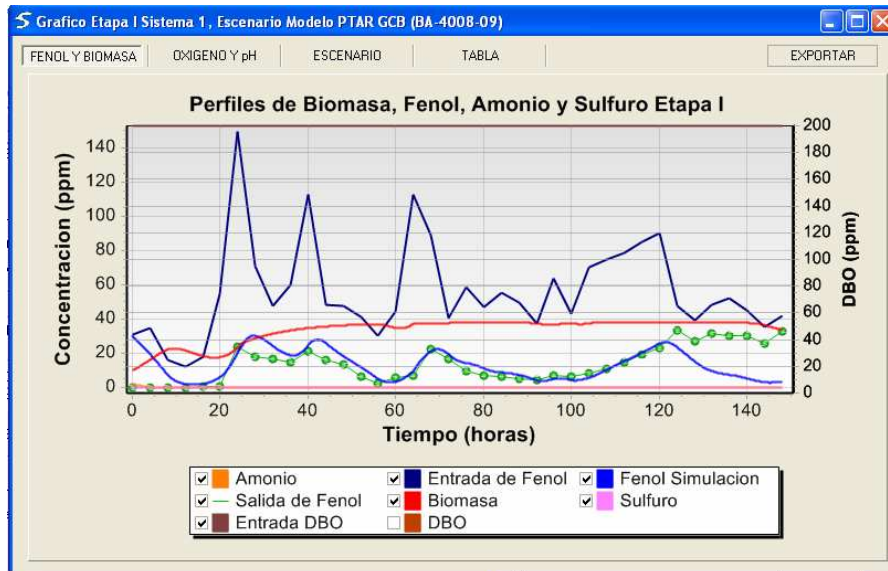


Figura 44. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=12 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 146 horas. (Abril 2008) (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

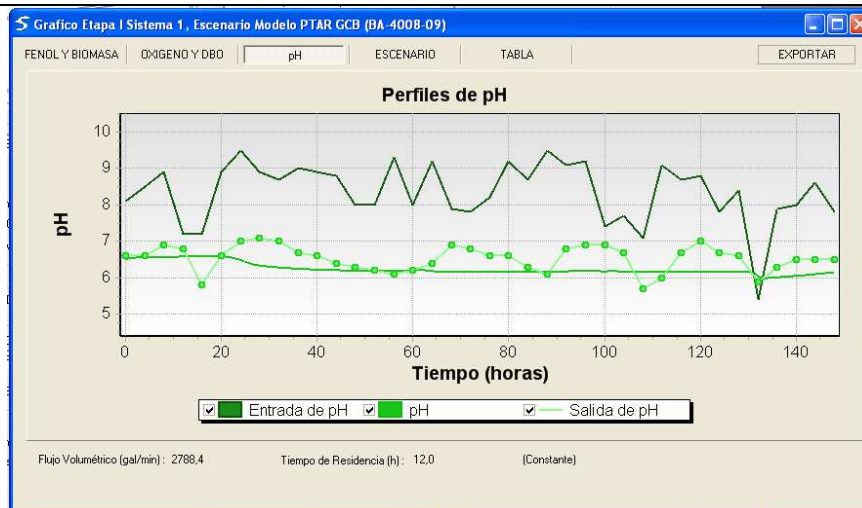


Figura 45. Prueba de validación en la 4008 sistema en continuo. TRH=12 horas Tiempo de prueba=126 hora (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

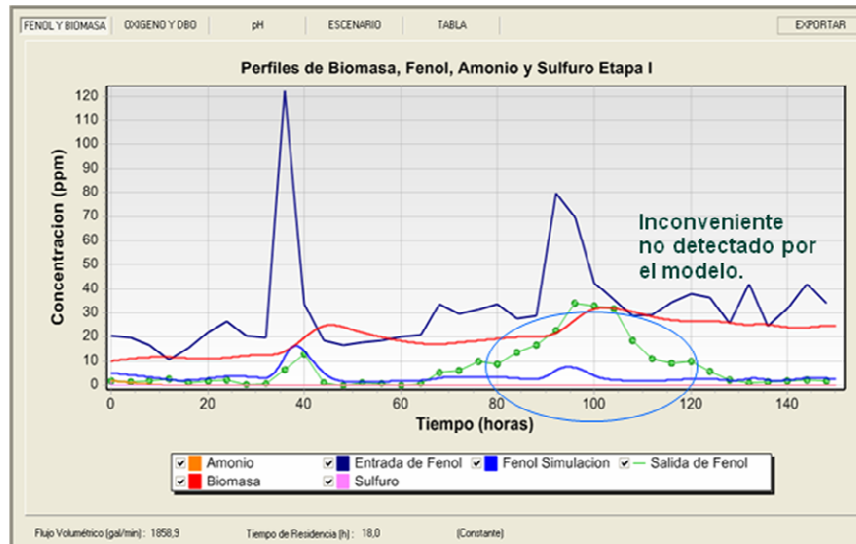


Figura 46. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=18 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 146 horas. (Agosto 2008) (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

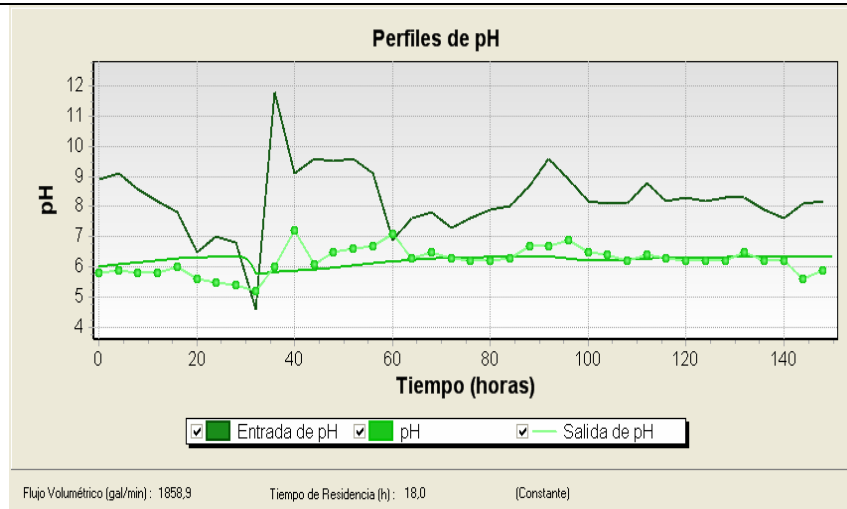


Figura 47. Perfiles de pH durante el proceso continuo de degradación de fenol con TRH=18 horas Tiempo de prueba=146 horas (Agosto 2008) (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

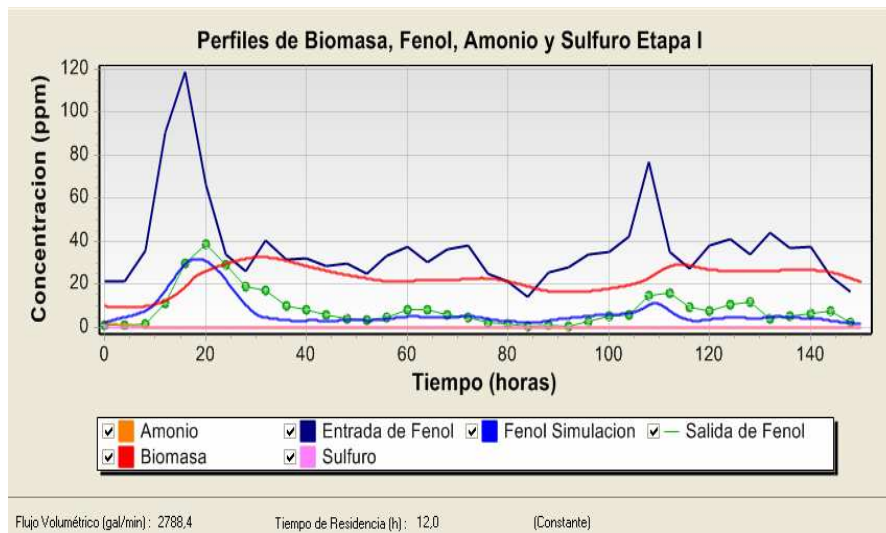


Figura 48. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=12 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 146 horas. (Agosto 2008) (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

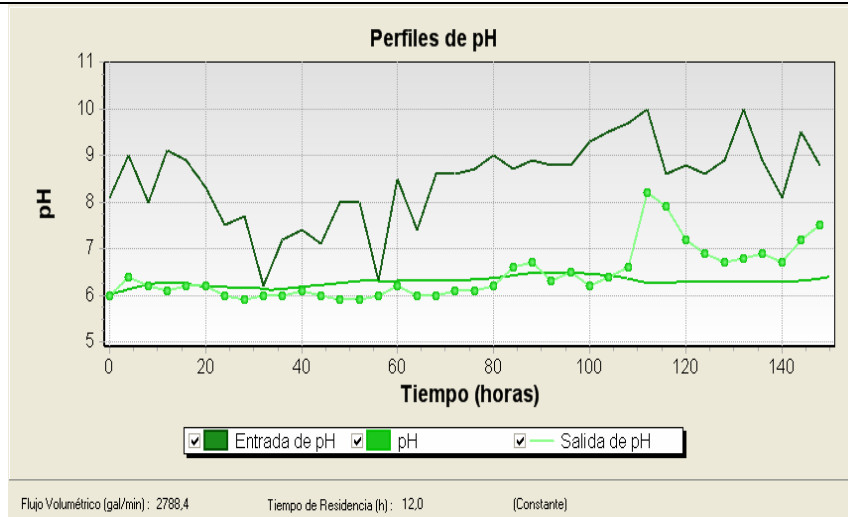


Figura 49. Perfiles de pH durante el proceso continuo de degradación de fenol con un TRH=12 h Tiempo de prueba=146 horas (Agosto 2008) (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

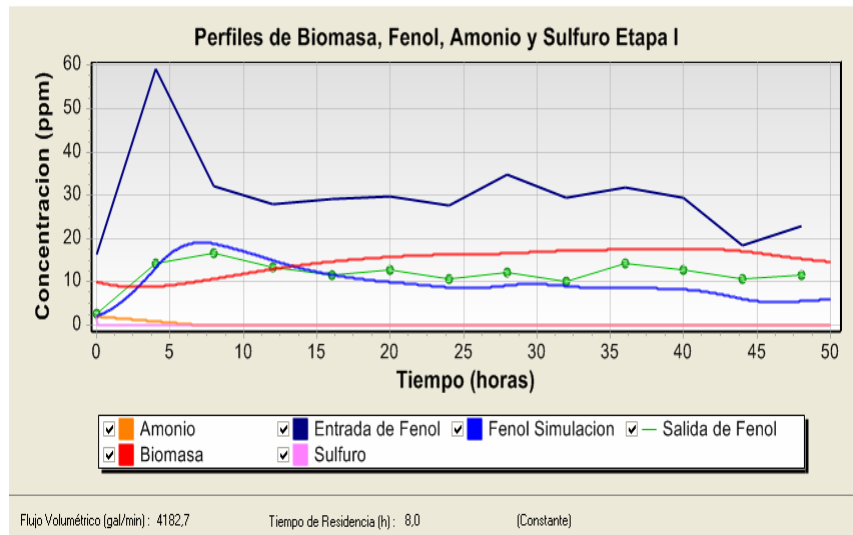


Figura 50. Simulación del proceso continuo de biodegradación de fenol a escala REAL. TRH=7,5 horas. Entrada fenol variable. Tiempo de prueba: 50 horas. (Agosto 2008) (FUENTE DATOS REALES: ECOPETROL S.A-GRB-ICP)

6. CONCLUSIONES

- ✓ Se determinó un modelo cinético que describe el proceso de biodegradación de fenol para el sistema de estudio. El modelo es el siguiente:

$$\mu = \frac{0.287}{\rho} * \frac{[S]}{(10.21)a + [S] + \frac{[S]^2}{51.2}} * \frac{[O_2]}{K_o + [O_2]}$$

- ✓ Donde:

$$a = \left(1 + \frac{[H_2S]}{1.6}\right) \left(1 + \frac{[NH_3]}{18886}\right) \quad \rho \rightarrow \mu_M(pH)$$

donde μ es expresada en h^{-1} y las concentraciones en $mg\ l^{-1}$.

- ✓ El planteamiento de diseños de experimentos y su ejecución permitieron caracterizar cada uno de los sistemas en cuanto a sus parámetros cinéticos, evaluar el efecto de la presencia de compuestos inhibitorios a partir de constantes de inhibición y las condiciones y rangos operacionales para el pH y oxígeno disuelto.
- ✓ El planteamiento y desarrollo del modelo matemático, a partir de las principales variables del bioproceso, ha permitido a la empresa ECOPETROL, estudiar, comprender y evaluar en cada uno de los sistemas de biodegradación de fenol, la importancia de cada una de las variables de diseño y operación del bioproceso, planteando a partir del mismo opciones de mejoramiento de los sistemas actuales.
- ✓ Algunas de las opciones de mejoramiento que han sido verificadas a partir del desarrollo del modelo matemático han sido la disposición de un sistema de control de la concentración de sulfuro de Hidrógeno en las

corrientes de tratamiento, buscando mantener la concentración de sulfuro en valores inferiores a la concentración de inhibición (1.6 ppm). Igualmente se logró verificar el rango de pH apropiado para los microorganismos biodegradadores y se determinó la influencia del tiempo de retención hidráulico en los porcentajes de remoción de fenol alcanzados para cada caso, lo cual ha permitido el diseño de algunas configuraciones de tratamiento a partir de la segregación de corrientes.

- ✓ El modelo matemático desarrollado fue validado a partir de pruebas en continuo a escala real y a escala industrial, logrando una buena aproximación entre los datos reales y los resultados de las simulaciones.
- ✓ El software **EcoBioSystem v1.0**, es una herramienta metodológica, la cual ha permitido la comprensión de los sistemas de remoción de fenol, la validación de los modelos desarrollados, mediante el desarrollo de simulaciones bajo diferentes escenarios de operación, y la identificación preliminar de oportunidades de mejoramiento.

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Profundizar en el estudio y evaluación de algunas variables inherentes al bio-proceso como DBO, DQO, pH e introducir al modelo nuevas variables que permitan lograr mejores aproximaciones al proceso real.
- ✓ Dar continuidad al desarrollo del modelo matemático de forma que pueda ser una herramienta predictiva y un primer paso para el diseño y puesta en marcha de un sistema de control en línea de las principales variables involucradas en el proceso de remoción de fenol.
- ✓ El software **EcoBioSystem v1.0**, es una herramienta metodológica, que puede ser optimizada según se mejore el proceso de remoción de fenol; es una aplicación diseñada pensando en proyectos a corto, mediano y largo plazo, de tal forma que puede ajustarse a nuevas necesidades y diseños de una forma práctica y sencilla.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Afzal M. Iabal Samina, Rauf S. Y Khalid Z.M. Characteristics of phenol biodegradation in saline solutions by monocultures of *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas pseudomaller*. Journal of Hazardous materials 149 (2007) 60-66.
2. Alexander, M. (1981). Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Sci.* 211: 132-138.
3. Alagappan G. y Cowan R.M. Effect of temperature and dissolved oxygen on the growth kinetics of pseudomonas putida F1 growing on benzene and toluene. *Chemosphere* 54. 2004. 1255-1265.
4. Alper Nuhoglu y beste Yalcin. Modelling of phenol removal in a batch reactor. *Process biochemistry* 40, 2005. 1233-1239.
5. Amor L., C. Kennes, Veiga M.C. Kinetics of inhibition in the biodegradation of monoaromatic hydrocarbons in presence of heavy metals. *Bioresource technology* 78, 2001. 181-185.
6. Annadurai G. Lai Yi Ling y Jiunn-Fow-Lee. Statistical optimization of medium components and growth conditions by response surface methodology to enhance phenol degradation by *Pseudomonas putida*. *Journal of Hazardous materials* (2007), doi: 10.1067j.jhazmat.2007.06.061.
7. Bailey James E. y Ollis David f. *Biochemical Engineering fundamentals*. 2ed. McGraw-Hill international editions. 1986.
8. Ballesteros M., Sanchez Pejez J.A., Ación Fernandez F.G., Garcia Sanchez J.L., Casas Lopez J.L. y Malato Rodriguez S. A kinetics study on the biodegradation of synthetic wastewater simulating effluent from an advanced oxidation process using *Pseudomonas putida* CECT 324. *Journal of Hazardous materials* (2007), doi: 10.1067j.jhazmat.2007.06.053.
9. Bielefeldt A.R y Stensel H.D. Modeling competitive inhibition effects during biodegradation of BTEX mixtures. *Water Research*. Volume 33, Issue 3. Febrero 1999. Pag. 707-714.

10. Bracho M, Díaz Laugeny y Soto L.M. Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y heterocíclicos por *Pseudomonas spp.* Scientific journal from the experimental Faculty of Sciences at La Universidad de Zulia. V. 12 No.4. Octubre-diciembre 2004.
11. Bravo, J.J., et al., Catalizadores para la purificación de aguas industriales que contengan compuestos resistentes a la biodegradación, Centro de Investigaciones en Catálisis, Universidad Industrial de Santander.
12. Beardsley, M.L. y J.M. Coffey, Biological wastewater treatment optimization. Conditions for bacterial growth, control parameters, and bioaugmentation. (Technical paper No. 83-06): p. 1-8.
13. Capps R.W.; Matelli G.N y Bradford M.L. Design more flexibility into wastewater treatment. Hydrocarbon processing. Vol. 72 No 12 (Diciembre 1993). Pag 81-92.
14. Casas López, J.L.; Rodríguez Porcel, E.M.; Oller Alberola, I.; Ballesteros Martín, M.M.; Sánchez Pérez, J.A.; Fernández Sevilla, J.M. and Chisti, Y., 2006. Simultaneous determination of Oxygen Consumption Rate and Volumetric Oxygen Transfer coefficient in Pneumatically Agitated Bioreactors. Ind. Eng. Chem. Res. 45: 1167-1171.
15. Crook, E.H., R.P. McDonnell, and J.T. McNulty, Removal and recovery of phenols from industrial waste effluents with Amberlite XAD polymeric adsorbents. Industrial Engineering and Chemical Research Development. 1975. 14(2): p. 113-118.
16. Edington, S.M. (1994). Environmental Biotechnology. *Bio/Technol.* 12: 1338-1342.
17. Feitkenhauer H., Schnicke S., Muller R. y Markl H. Determination of the kinetic parameters of the phenol-degrading thermophile *Bacillus theroleovorans* sp. A2. Applied Microbiology and Biotechnology. 2001. 57:744-750.
18. Fernando Acevedo Bonzo. Transferencia de masa, momento y calor en fermentaciones. V Curso Latinoamericano de Biotecnología. Universidad católica de Valparaíso. Pág. 73-93.
19. Forero J.E., Ortiz O.P. y Rios F. Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. CT&F-Ciencia, Tecnología y Futuro- Vol. 3 N. 1. Dic. 2005
20. Galaction A.I.; CascavaL, D.; Oniscu, C. and Turnea, M. Prediction of oxygen mass transfer coefficients in stirred bioreactors for bacteria, yeast and fungus broths. Biochemical Bioengineering Journal 20: 85-94.

21. Galindez-Mayer J., Ramon-Gallegos J., Ruiz-Ordaz N., Juarez-Ramirez C., Salieron-Alcocer A., Pogar-Varaldo H.M. Phenol and 4-chlorophenol biodegradation by yeast *Candida tropicalis* in a fluidized bed reactor. *Biochemical engineering journal*. (2007), doi: 10.1016/j.bej.2007.06.011.
22. Gillot S., Capela- Marsal S., Roustan M. y Heduit A. Predicting oxygen transfer of fine bubble diffused aeration systems model issued from dimensional analysis. *Water Research* 39 (2005) 1379-1387.
23. Grosso, J.L. y Díaz M.P., Biodegradación de fenoles en aguas residuales de la industria petrolera. *Ciencia, Tecnología y Futuro*, 1995. 1(1): p. 5-15.
24. Harmankaya, M. y Gunduz G. Catalytic oxidation of phenol in aqueous solution. *Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 1998. 22: p. 9-15.
25. Head, I.M. (1998). Bioremediation: toward a credible technology. *Microbiol.* 144: 599-608.
26. Hill G.A, C.W Robinson. Substrate inhibition kinetics: phenol degradation by *Pseudomonas putida*. *Biotechnology and Bioengineering*. 17 (1975) 1599-1615.
27. Jiang Yan, Wen Jianping, Bai Jing, Wang Daoguan y Hu Zongding. Phenol biodegradation by the yeast *Candida tropicalis* in the presence of m-cresol. *Biochemical Engineering journal*. Volume 29, Issue 3. 15 abril 2006. Pag. 227-234.
28. Jungclaus, G.A., Lopez-Avila, V., Hites, R.A. (1978). Organic compounds in an industrial wastewater: A case study of their environmental impact. *Environ. Sci. Technol.*12: 88-96.
29. Kalyuzhnyi S.V. Batch anaerobic digestion of glucose and its mathematical modeling. II. Description, verification and application of model. *Bioresource technology* 59 (1997) 249-258.
30. Kangtaek Lee, Jin-Won Park, Ik-Sung Ahn. Effect of additional carbon source on naphthalene biodegradation by *pseudomonas putida* G7. *Journal of Hazardous materials* B105, 2003. 157-167.
31. Keith, L.H. (1976). Identification of organic compounds in unbleached treated Kraft paper mill wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* 10: 555-564.
32. Kumar A., Kumar Shashi y Kumar Surendra. Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194. *Biochemical Engineering Journal* 22. 2005. 151-159.

33. Kumaran P. y Paruchuri L. Kinetics of phenol biotransformation. *Water research* Vol 31. No 1, 1997 11-22.
34. Lapara Timothy y Alleman James. Thermophilic aerobic biological wastewater treatment. *Water research*. Vol 33. N 4.1999. 895-908.
35. Lenke, H., Pieper, D.H., Bruhn, C. and Knackmuss, H.J. (1992). Degradation of 2,4-dinitrophenol by two *Rhodococcus erythropolis* strains, HL 24-1 and HL 4-2. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 2928-2931.
36. Livingston A.G, H.A. Chase. Modeling phenol biodegradation in a fluidized-bed bioreactor. *AIChE Journal*. 35 (1989) 1980-1992.
37. Ludzack, F.J. and Ettinger, M.B. (1960). Chemical structures resistant to aerobic biochemical stabilization. *Wat. Pollut. Cont. Fed.* 32: 1173-1200.
38. Magbanua B.S., Hoover P.A., Campbell P.J. y Bowers A.R. The effect of co-substrates on phenol degradation kinetics. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 30 N°9 67-77, 1994.
39. Maroto Arroyo M.E y Rogel Quesada J.M. Aplicación de sistemas de bioremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. GEOCISA. Div. Protección ambiental de suelos.
40. Marvin-Sikkema, F.D. and de Bont, J.M. (1994). Degradation of nitroaromatic compounds by microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 42:499-507.
41. Metcalf y Eddy. Tratamiento y depuración de las aguas residuales. Editorial labor S.A Primera edición. Mayo 1977. 391- 443.
42. Melo J.S.; Kholi, S.; Patwardhan, A.W. and D'souza, S.F., 2005. Effect of oxygen transfer limitations in phenol biodegradation. *Process Biochemistry* 40: 625-628.
43. Monteiro Alvaro A.M.G, Boaventura Rui A.R, Rodriguez Alirio E. Phenol biodegradation by *Pseudomonas putida* DSM 548 in a batch reactor. *Biochemical Engineering Journal* 6, 2000 45-49.
44. Ojumu, T.V, Bello, O.O, Sonibare, J.A. y Solomon, B.O. Evaluation of microbial systems for bioremediation of petroleum refinery effluents in Nigeria. *African journal of Biotechnology* Vol.4 (1) Enero 2005. 31-35.
45. Orupold K., Masirin A. y Tenno T. Estimation of biodegradation parameters of phenolic compounds on activated sludge by respirometry. *Chemosphere* 44. 2001. 1273-1280.

46. Onysko K.A, Budman H.M. y Campbell W.R. Effect of temperature on the inhibition kinetics of phenol biodegradation by *Pseudomonas putida* Q5. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 70, N°3, November 5, 2000.
47. Okpokwasli G.C y Nweke C.O. Microbial growth and substrate utilization kinetics. *African Journal of biotechnology* Vol.5 (4). 2005. 305-317.
48. Ozbek Belma and Gayik, Sevgi, 2001. The studies on the oxygen mass transfer coefficient in a bioreactor. *Process Biochemistry*. 36: 729-741.
49. Ozlem Tepe y Arzu Y. Dussum. Combined effects of external mass transfer and biodegradation rates on removal of phenol by immobilized *Ralstonia eutropa* in a packed bed reactor. *Journal of Hazardous materials* (2007), doi: 10.1067j.jhazmat.2007.05.049.
50. Pawlowsky. J.A. Howell. Mixed culture bio-oxidation of phenol. I. Determination of kinetics parameters. *Biotechnology and Bioengineering*. 15 (1973) 889-896.
51. Peyton B.M., Wilson T. y Yonge D.R. Kinetics of phenol biodegradation in high salt solutions. *Water Research* 36. 2002. 4811-4820.
52. Peavy Howard S.; Rowe Donald R. Y Tchobanoglous George. *Environmental Engineering*. McGraw-Hill international editions. 1985.
53. Peters, M., Heinaru, E., Talpsep, H., Ward, H., Stottmeister, U., Heinaru, A. and Nurk, A. (1997). Acquisition of a deliberately introduced phenol degradation operon, *pheAB*, by different indigenous *Pseudomonas* species. *Appl. Environ Microbiol.* 63: 4899-4906.
54. Pfeffer, F.M. (1979). The 1977 screening survey for measurement of organic priority pollutants in petroleum refinery wastewaters. *ASTM Spec. Tech. Publ.* 181-190
55. Piakong Bin Mohd.Tuah. Thesis: The performance of phenol biodegradation by *candida tropicalis* RETL-Cr1 using batch and fed-batch fermentation techniques. University technology Malaysia, Faculty of Science. Enero, 2006.
56. Prasad and Ellis, E. (1978). *In vivo* characterization of catechol ring cleavage in cell cultures of *Glycine max*. *Phytochem.* 17: 187-190.
57. Parkhurst, B.R., Bradshaw, A.S., Forte, J.L (1979). An evaluation of the acute toxicity to aquatic biota of a coal conversion effluent and its major components. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 23:349-356.

58. Reardon K.F., Mosteller D.C., Bull Rogers J. Biodegradation kinetics of benzene, toluene and phenol as simple and mixed substrates for *Pseudomonas putida* F1. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 69, N°4, Agosto 20, 2000.
59. Ramakrishnan A. y Kumar S.G. Effect of hydraulic retention time on the biodegradation of complex phenolic mixture from simulated coal wastewater in hybrid UASB reactors. *Journal of Hazardous materials* (2007), doi: 10.106/j.jhazmat.2007.09.034.
60. Romero Rojas Jairo Alberto. Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principios de diseño. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. 2001.
61. Rosso L., Lobby J.R., Bajard S. y Flandrois J.P. Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth. *Applied and Environmental Microbiology*, V.61 No 2. Feb. 1995. p. 610-616.
62. Rubin, H.E. and Alexander, M. (1983). Effects of nutrients on the rates of mineralization of trace concentrations of phenol and *p*-nitrophenol. *Environ. Sci. Technol.* 17: 104-107.
63. Salonen, M., Middeldorp, P., Briglia, M., Valo, R., Haggblom, M., and McBain, A. (1989). Cleanup of old industrial sites. In: Kamely, D., Chakrabarty, A., and Omenn, G.S. (eds.), *Biotechnology and Biodegradation*. Portfolio Publishing Co., The Woodlands, Tx, pp.347-365.
64. Saravanan Pichiah, Pakshirajan K. y Prabirkumar Saha. Growth kinetics o fan indigenous mixed microbial consortium during phenol degradation in a batch reactor. *Bioresource technology*. 99 (2008) 205-209.
65. Santos P.M y Sá-Carrera I. Characterization of the unique organization and co-regulation of a gene cluster required for phenol and benzene catabolism in *Pseudomonas sp.*M1. *Journal of biotechnology* 131 (2007) 371-378.
66. Shishido M. y Toda M. Apparent zero-order kinetics of phenol biodegradation by substrate-inhibited microbes at low substrate concentrations. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 50, N°3, 1196. 709-711.
67. Seker. S., Beyenal H., Salih B., Tanyolac A. Multi-substrate growth kinetics of *Pseudomonas putida* for phenol removal. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1997. 47:610-614.
68. Si-Jing Wang y Kai-Chee Loh. Modeling the role of metabolic intermediates in kinetics of phenol biodegradation. *Enzyme and microbial technology* 25, 1999. 177-184.

69. Sridhar Viamajala, Peyton Brent M., Richards lee A. y Petersen James N. Solubilization, solution equilibria, and biodegradation of PAH's under thermophilic conditions. *Chemosphere* 66 (2007) 1094-1106.
70. Shailubhai, K (1986). Treatment of Petroleum industry oil sludge in soil. *Tibtech* August 1986, pp. 202-206. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
71. Sharma, H., Barber, J.T., Ensley, H.E. and Polito, M.A. (1997). A comparison of the toxicity of phenol and chlorinated phenols by *Lemna gibba*, with reference to 2,4,5-trichlorophenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 16:346-350.
72. Seetharam, G.B. and Saville, B.A. (2003). Degradation of phenol using *Tyrosinase* immobilized on siliceous supports. *Wat. Res.* 37: 436-440.
73. Steven A. Siano. Use of the Abiotic Proton Balance for Describing the pH-Auxostat. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 64, N°6, Sep tember 20, 1999.
74. Szetela R.W, T.Z. Winnicki. A novel method for determining the parameters of microbial kinetics. *Biotechnology and Bioengineering.* 23 (1981) 1485-1490.
75. Tang W.T, L.S. Fan. Steady state phenol degradation in a draft-tube, gas-liquid-solid fluidized-bed bio-reactor. *AIChE Journal.* 33 (1987) 239-249.
76. Tsuey-Ping Chung, Cheng-Ying Wu y Ruey-Shin Juang. Improved dynamic on cell growth with sustrate inhibition using two-phase models. *Biochemical engineering Journal* 25, 2005. 209-217.
77. Tziotzios G, Lyberatos G., Paulou S., Vayenas d.V. Modelling of biological phenol removaal in draw-fill reactors using suspended and attached growth olive pulp bacteria. *International biodeterioration & biodegradation* (2007), doi: 10.1016 /j.ibiod.2007.06.002.
78. Vázquez-Rodríguez Gabriela, Youssef C.B y Waissman-Vilanova Julio. Two-step modeling of the biodegradation of phenol by an acclimated activated sludge. *Chemical Engineering Journal* 117, 2006 245-252.
79. Vidya K.S., Ramanjaneyulu R., Srinikethan G. Biological phenol removal using inmobilized cells in a pulsed plate bioreactor: effect of dilution rate and influent phenol concentration. *Journal of Hazardous materials* 149 (2007)452-459.
80. Wang K.W., Baltzis B.C. y Lewandowski G.A. Kinetics of phenol biodegradation in the presence of glucose. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 51. 1996. 87-94.

81. Wang Si-Jing y Loh Kai-Chee. Modeling the role of metabolic intermediates in kinetics of phenol biodegradation. *Enzyme and Microbial Technology* 25, 1999. 177-184.
82. Watson I. A., Oswald S., Banwart S.A., Crouch R. S y Thornton S. Modeling the dynamics of fermentation and respiratory processes in a groundwater plume of phenolic contaminants interpreted from laboratory-to field -scale. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 8829-8839.
83. Watanabe, K; Hino, S., Takahashi, N. (1996b). Responses of activated sludge to an increase in phenol loading. *Ferm. Bioeng.* 82: 522-524.
84. Weijian cai, Jiwu Li, Zhen Zheng. The characteristics and mechanisms of phenol biodegradation by *Fusarium sp.* *Journal of Hazardous materials* 148 (2007), 38-42.
85. Yan Jiang, Jianping Wen, Jing Bai, Xiaoqiang Jia y Zongding Hu. Biodegradation of phenol at hight concentration by *Alcaligenes Faecalis*. *Journal of Hazardous materials*. Volume 147, Issues 1-2. 17 agosto 2007. Pag 672-676.
86. Yang R.D., A.E. Humphrey. Dynamic and steady state studies of phenol biodegradation in pure and mixed cultures. *Biotechnology and Bioengineering*. 17 (1975) 1211-1235.
87. Yang, X., Jin, H., Yin, D., Yu, H., Cheng, H., Lou, X. and Xue, G. Cause identification of ecotoxicity of chemical industrial wastewater: a case study. *Yingyong Shengtai Xuebao* 9, (1998) 525-528.

9. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

Artículo: KINETIC MODELLING AND DYNAMIC SIMULATION OF PHENOL BIODEGRADATION OF PETROLEUM REFINERY EFFLUENTS IN COLOMBIA. **María Angélica Martínez**, Crisóstomo Barajas, Alfonso Mendoza, Cristian Blanco, Claudia Ortiz-López, Nubia Ramírez, María Piedad Díaz, Rodrigo Torres Sáez. Journal of Biotechnology, Volume 131, Issue 2, Supplement 1, September 2007, Page S159

Ponencia: SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DEL PROCESO GLOBAL DE BIOTRANSFORMACIÓN DE FENOL EN AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES DE REFINERÍAS DE PETRÓLEO. **María Angélica Martínez**, Crisóstomo Barajas, Alfonso Mendoza, Cristian Blanco, Claudia Ortiz-López, Nubia Ramírez, María Piedad Díaz, Rodrigo Torres Sáez. **XI Seminario Internacional de medio ambiente y desarrollo sostenible. Universidad Industrial de Santander, Cartagena de Indias, Colombia. Octubre 2008.**

Poster: MATHEMATICAL MODELLING OF A PHENOL BIOTRANSFORMATION PROCESS: APPLICATION TO AN INDUSTRIAL PETROLEUM WASTEWATER TREATMENT PLANT FROM COLOMBIA. **María Angélica Martínez**, Crisóstomo Barajas, Alfonso Mendoza, Cristian Blanco, Claudia Ortiz-López, Nubia Ramírez, María Piedad Díaz, Rodrigo Torres Sáez. **13th International Biotechnology Symposium & Exhibition. Dalian, China. Octubre 2008.**

Premio: ELOY VALENZUELA 2008, UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER. Categoría: Investigadores en formación. (María Angélica Martínez Mendoza y Crisóstomo Alberto Barajas Solano) Propuesta de Investigación: Planteamiento y desarrollo de un modelo matemático del proceso de biotransformación de fenol en aguas residuales industriales de refinerías de petróleo.

Ponencia: PLANTEAMIENTO DE UN MODELO MATEMÁTICO DEL PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE FENOL EN AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES. **María Angélica Martínez**, Cristian Blanco, Claudia Ortiz-López, Nubia Ramírez, María Piedad Díaz, Rodrigo Torres Sáez. **X Seminario Internacional de medio ambiente y desarrollo sostenible. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Septiembre 2007.**

Ponencia: DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO Y DE SIMULACIÓN DEL PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE FENOL EN AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES. **María Angélica Martínez**, Crisóstomo Barajas, Cristian Blanco, Claudia Ortiz-López, Nubia Ramírez, María Piedad Díaz, Rodrigo Torres Sáez. **Evento internacional CIMPA-UNESCO-REALMA “Matemáticas para el modelamiento y la simulación” Universidad del valle, Cali. Junio 2007.**

Póster: DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO Y DE SIMULACIÓN DEL PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE FENOL EN AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES. **María Angélica Martínez**, Crisóstomo Barajas, Cristian Blanco, Claudia Ortiz-López, Nubia Ramírez, María Piedad Díaz, Rodrigo Torres Sáez. **VIII curso de Biotecnología. Universidad Católica de Valparaíso, Chile. Junio 2008.**

Póster: DESARROLLO DE DIFERENTES TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOMASA, BACTERIAS *Pseudomonas* DE INTERÉS AMBIENTAL. **María Angélica Martínez**, Leidy Niño, Cristian Blanco, Claudia Ortiz-López, Nubia Ramírez, María Piedad Díaz, Rodrigo Torres Sáez. **XI seminario Internacional de medio ambiente y desarrollo sostenible. Universidad Industrial de Santander, Cartagena de Indias, Colombia. Octubre 2008.**