

BIODEGRADACIÓN DE FENOLES EN UN REACTOR DE LECHO FIJO
ANAEROBIO PARA EL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PROVENIENTE DE LA
BATERÍA PAYOA, PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

LUZ ADRIANA PUENTES JÁCOME

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERÍA Y ADMINISTRACIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BUCARAMANGA

2008

BIODEGRADACIÓN DE FENOLES EN UN REACTOR DE LECHO FIJO
ANAEROBIO PARA EL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PROVENIENTE DE LA
BATERÍA PAYOA, PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

LUZ ADRIANA PUENTES JÁCOME

Tesis de grado

Director

MSc María Kopytko

Docente de la Facultad de Ingeniería Ambiental

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERÍA Y ADMINISTRACIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BUCARAMANGA

2008

Nota de aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Bucaramanga, 28 de enero de 2008

AGREDECIMIENTOS

Expreso mis sinceros agradecimientos a:

La Universidad Pontificia Bolivariana, a su cuerpo administrativo y docente, y especialmente a la Facultad de Ingeniería Ambiental por haberme dado la oportunidad de vivir una experiencia de aprendizaje de calidad, que culmina con la tesis de grado aquí contenida.

A mi Directora de Tesis, María Kopytko, docente de la Facultad de Ingeniería Ambiental, a quien más que mi Directora considero una amiga y mentora, pues me ha acompañado en todo el ciclo de mi desarrollo como estudiante y profesional, motivando mi interés por la ciencia y la investigación, siempre dentro de una visión holística y armoniosa del ser humano.

Al Ingeniero Juan Diego Navarro Sarmiento, Ingeniero Asistente Ambiental del Departamento Civil y Ambiental, PetroSantander (Colombia) Inc., por haber depositado su confianza en mí, para la realización de esta tesis de grado, además de brindarme su asesoría constante y enriquecedora.

Al Ingeniero Rafael Ortiz Pérez, Director de la Facultad de Ingeniería Civil, por haberme ofrecido la oportunidad de complementar mi formación con la experiencia docente en dicha Facultad.

Al personal administrativo y Directivo del Centro de Investigaciones en Biotecnología, Bioética y Ambiente, CINBBYA, de la Universidad Autónoma de Bucaramanga, por su invaluable colaboración en el desarrollo del proyecto,

especialmente a la Dra. Graciela Chalela, Directora del CINBBYA, por su asistencia y asesoría.

A mis compañeros queridos de Universidad, quienes me apoyaron en el transcurso de mi carrera universitaria, especialmente a Roberth Eduardo Bermúdez Merchan, Diana Marcela Ibarra Mojica, Andrea Guarín Rueda, Gabriel Ardila Pérez, Tatiana Carreño Martínez, Elizabeth Arias Quijano, Ivonne Villamizar y Laura Tatiana Roa.

A mi querido Colegio “La Quinta del Puente”, por haberme formado en la disciplina, trabajo y amor por la ciencia.

A mis padres, Oscar Puentes y Luz Amparo Jácome, por su dedicación al hogar y constante esfuerzo por brindarme la mejor educación posible.

A mi hermana Beatriz Amparo Puentes y su esposo, Raúl García, y demás miembros de mi familia, por su apoyo y confianza.

Finalmente, a Iván Mauricio Salcedo Rincón, por brindarme su apoyo incondicional, consejo, tiempo y amor, y por impulsarme a soñar y lograr las metas que me he trazado en la vida.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	9
1. OBJETIVOS	14
1.1 OBJETIVO GENERAL	14
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2. MARCO TEÓRICO.....	15
2.1 GENERALIDADES.....	15
2.2 EI AGUA RESIDUAL EN LA INDUSTRIA PETROLERA.....	18
2.2.1 Origen del agua residual en la industria petrolera.....	18
2.2.2 Composición del agua residual	20
2.2.3 Naturaleza de los fenoles en el agua residual.	20
2.3 PROBLEMÁTICA EN PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.	21
2.3.1 Procesos de separación física del crudo.	21
2.3.2 Tratamiento del agua residual en Campo Payoa.....	22
2.4 TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUA RESIDUAL	22
2.4.1 Tratamientos aerobios.	23
2.4.2 Tratamientos anaerobios.	25
2.5 BIODEGRADACIÓN DE FENOLES.....	30
2.5.1 Biodegradación aerobia	31
2.5.2 Biodegradación anaerobia	32
2.6 BIOREGENERACIÓN DEL CARBÓN ACTIVADO GRANULAR.....	34
2.6.1 Naturaleza del Carbón Activado Granular (GAC).	34
2.6.2 Utilización del GAC.....	36
2.6.3 Generalidades sobre la bioregeneración.	37
2.6.4 Parámetros de interés en la bioregeneración de GAC.....	38
2.6.5 Aplicación en aguas residuales bajo condiciones anaerobias.	39

3. METODOLOGÍA.....	41
3.1 EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DEL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL DE LA BATERÍA PAYOA A TRAVÉS DEL ESTUDIO DE LA FLORA MICROBIANA NATIVA.	42
3.1.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual de la batería Payoa.....	42
3.1.1.2 Aislamiento de microorganismos.....	48
3.1.2 Selección de microorganismos de interés.	55
3.1.3 Adaptación y bioaumentación de microorganismos.....	56
3.2 OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PARA LA REMOCIÓN DE FENOLES A TRAVÉS DE LA BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA.	63
3.2.1 Diseño del reactor a escala laboratorio.....	63
3.2.2 Acondicionamiento de las unidades.....	65
3.2.3 Ensayos hidráulicos.....	66
3.2.4 Planteamiento del diseño factorial experimental.....	68
3.2.5 Desarrollo del experimento factorial 2 ²	71
3.2.6 Determinación de fenoles.....	73
3.2.7 Pretratamiento.....	76
3.2.8 Análisis del diseño factorial 2 ²	77
3.3 DISEÑO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA BATERÍA PAYOA, PETROSANTANDER (COLOMBIA) Inc.....	79
4. DATOS Y ANÁLISIS.....	81
4.1 EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DEL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL DE LA BATERÍA PAYOA A TRAVÉS DEL ESTUDIO DE LA FLORA MICROBIANA NATIVA.	81
4.1.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual de la batería Payoa.....	81
4.1.1.1 Muestreo fisicoquímico y microbiológico.....	81
4.1.2 Selección de microorganismos de interés.	93
4.1.3 Adaptación de microorganismos.....	94

4.2	OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PARA LA REMOCIÓN DE FENOLES A TRAVÉS DE LA BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA	95
4.2.1	Curvas de calibración para determinación de fenoles.	95
4.2.2	Pretratamiento.	98
4.2.3	Desarrollo del experimento factorial.....	104
4.2.4	Análisis del diseño factorial 2^2	105
4.3	DISEÑO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA BATERÍA PAYOA, PETROSANTANDER (COLOMBIA) Inc.....	119
5.	CONCLUSIONES.....	121
	RECOMENDACIONES	123
	BIBLIOGRAFÍA.....	124

RESUMEN

En su fase inicial, el proyecto evaluó el potencial de biodegradación de fenoles en el agua residual industrial de la batería Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc. Se encontró un elevado potencial, gracias a la gran abundancia de microorganismos aislados de las muestras de agua residual y lodo provenientes de las piscinas de tratamiento, así como la notoria adaptación de las bacterias a altas concentraciones de fenol, junto con un alto rendimiento de los ensayos de tratamiento realizados (hasta un 86% de eficiencia de remoción). Posteriormente, se optimizó el sistema de tratamiento propuesto a escala laboratorio, en reactores de lecho fijo con biopelícula adaptada, a través de un diseño experimental factorial 2^2 , en dos niveles (máximo y mínimo) y dos variables: tiempo de retención y presencia o ausencia de un lecho de carbón activado; la variable de respuesta fue la concentración de fenoles. Las óptimas condiciones de tratamiento para baja y alta concentración de fenol (2,14 y 9,30 mg/l) se lograron con presencia de carbón activado y tiempo de retención de 18 horas (83 y 81%); para la concentración intermedia (6,13 mg/l) de fenol, se generó un mayor rendimiento a las 24 horas de tiempo de retención, con la presencia de carbón activado (86%). La presencia del lecho de carbón activado, no incrementó en gran medida la eficiencia de remoción de fenoles. El aumento del tiempo de retención de 18 a 24 horas, tampoco indicó una mejora en la remoción de fenoles. Finalmente, se diseñó el sistema de tratamiento piloto para un 10% del caudal total de la batería, teniendo en cuenta la circulación del agua tratada a un reactor secundario, o la recirculación al mismo reactor, logrando disminuir la concentración de fenol a valores aceptables por la norma de vertimientos vigente en Colombia.

ABSTRACT

The research evaluated the biodegradation potential of phenols in the industrial wastewater of Camp Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc. An elevated potential was established, taking into account three important factors: the great abundance of microorganisms found in the wastewater and sludge samples collected in the treatment lagoons, the notorious bacterial adaptation to high phenol concentrations (10 mg/l) and the elevated efficiency percentages (up to 86%) obtained in the conducted laboratory tests. The treatment system proposed in laboratory, which consisted of fixed-bed bioreactors with adapted bacterial biofilm, was optimized using a 2² factorial experimental design. The variables considered, studied in their maximum and minimum level, were: hydraulic retention time and the presence or absence of a granular activated carbon layer. The response variable was phenol concentration. The optimum treatment conditions for low and high phenol concentration (2,14 y 9,30 mg/l), were obtained with the presence of granular activated carbon and 18 hours of hydraulic retention time. The best result for the intermediate phenol concentration (6,13 mg/l) was obtained with a hydraulic retention time of 24 hours and the presence of granular activated carbon. Nevertheless, the presence of the granular activated carbon layer was not important in terms of significant increases in phenol removal. Even more, the increase of hydraulic retention time from 18 to 24 hours, showed no important improvement in phenol removal. The pilot wastewater treatment system for Camp Payoa, was designed for 10% of the total generated wastewater, taking into account the conduction of the treated water to a secondary bioreactor or the recirculation of the water to the same bioreactor, in order to effectively reduce the phenol concentration, obtaining accepted values by the Colombian regulation concerning this matter.

INTRODUCCIÓN

La Ingeniería Ambiental del siglo XXI está llamada a crear, diseñar e implementar las estrategias y procesos adecuados para la prevención y control de la contaminación del medio ambiente, a través de la investigación y ejecución de proyectos de diversa envergadura y naturaleza. Siendo la industria del gas y del petróleo, uno de los sectores que genera mayor afectación a los recursos naturales, es una necesidad clara para los Ingenieros Ambientales dar una mirada hacia el sector hidrocarburos en la búsqueda del equilibrio entre el desarrollo tecnológico e industrial y la conservación del medio ambiente.

PetroSantander (Colombia) Inc., por medio de su cuerpo de Ingenieros, se encuentra en un proceso de evaluación de sus actividades tradicionales de tratamiento de residuos, buscando ajustarse a los estándares nacionales e internacionales en materia de control ambiental. Por esta razón, en convenio con la Universidad Pontificia Bolivariana, la cual es consciente de la importancia del desarrollo investigativo con servicio al país, han formulado el proyecto: “Bioremediación de fenoles en un reactor anaerobio de lecho fijo para el agua residual proveniente de la batería Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc.”, dando solución a la problemática que les afecta, debido a la contaminación con fenoles del agua residual que generan.

La empresa en el municipio de Sábana de Torres, departamento de Santander, está dedicada a la explotación de campos maduros, uno de los cuales es Campo Payoa. El agua residual tratada, producto de las actividades del campo petrolero, es descargada a la fuente hídrica con un alto contenido de fenoles disueltos. El

fenol es uno de los compuestos orgánicos que se encuentra frecuentemente en el agua del petróleo, formando a su vez otros compuestos tóxicos al entrar en contacto con el agua cruda. El fenol y sus derivados tienen efectos cancerígenos y teratógenos en seres vivos. Algunos organismos, como la Unión Europea de Naciones, lo han clasificado como un compuesto tóxico, corrosivo y mutagénico. De esta forma, este compuesto puede afectar no solo al ecosistema, sino también a los seres humanos que se abastecen de los recursos que el medio les provee, convirtiéndose en una necesidad su eliminación del agua residual.

Debido al creciente interés e investigación aplicada en el área del tratamiento biológico, existen evidencias sobre el potencial de degradación de fenoles en estos sistemas. Los tratamientos biológicos permiten tomar ventaja de los procesos de degradación naturales, estimulando los microorganismos presentes, para lograr la conversión de los compuestos contaminantes en otras sustancias de menor o ningún impacto en el medio receptor.

Con el objetivo de plantear una solución adecuada, para el tratamiento del agua residual de Campo Payoa, el presente proyecto de investigación explora la alternativa del tratamiento biológico a través del uso de un reactor biológico de lecho fijo y flujo ascendente, con un medio de soporte enriquecido por microorganismos específicos, adaptados para degradar el compuesto de interés, así reduciendo la concentración de fenol en el efluente a valores admisibles. Como mecanismo de control para las concentraciones altas de fenol, se propone la utilización de un lecho removible de carbón activado, en la parte superior del filtro, para garantizar la disminución efectiva de la concentración de fenol. El proceso general se puede sintetizar en dos etapas: degradación biológica y adsorción en carbón activado.

Se evaluaron a escala laboratorio las alternativas de tratamiento óptimas, por medio de la aplicación de un diseño factorial de experimentos 2^2 , en dos variables a dos niveles. Las variables correspondientes fueron: tiempo de retención hidráulico y la presencia o ausencia de carbón activado, siendo estas cuantitativa y cualitativa, respectivamente. La variable de respuesta, fue la concentración de fenol en el agua tratada.

La investigación desarrollada proyecta una solución adecuada a la problemática de contaminación de aguas con fenol en Campo Payoa, situación que afecta también a numerosos campos de explotación en Colombia, tomando como base los conceptos modernos de ingeniería del tratamiento biológico.

A continuación, se presentan los objetivos del proyecto, seguido por el capítulo Marco Teórico, en donde se realiza una breve revisión bibliográfica sobre la temática de interés relacionada al proyecto. Consecutivamente se encuentran los capítulos Metodología y Datos y análisis, finalizando con las Conclusiones y Recomendaciones. También se incluye el apartado de Anexos y Listas especiales.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

- ♣ Realizar la biodegradación de fenoles del agua residual industrial de la batería Payoa en un reactor anaerobio de lecho fijo.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ♣ Evaluar el potencial de biodegradación de fenoles en el agua residual industrial de la batería Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc., a través del estudio de la flora microbiana nativa.
- ♣ Optimizar el sistema de tratamiento propuesto para la biodegradación de fenoles en el agua residual industrial de la batería Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc.
- ♣ Diseñar el sistema de tratamiento piloto para la biodegradación de fenoles en el agua residual industrial de la batería Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES

En las últimas décadas el tratamiento de las aguas residuales ha orientado su mirada a los sistemas biológicos. En particular, la industria petroquímica ha utilizado tradicionalmente los sistemas fisicoquímicos, para tratar sus efluentes contaminados. Debido a las altas cargas orgánicas en estas aguas, los altos costos del tratamiento, y la presencia de contaminantes específicos, siendo una necesidad la disminución de estas concentraciones a límites admisibles, el tratamiento biológico constituye hoy en día, una alternativa atractiva para los requerimientos de remoción de materia orgánica como de contaminantes de interés, en este tipo de industria.

Delgado, León y Suárez¹, plantean el uso de métodos específicos químicos y biológicos, para transformar el fenol en sustancias menos tóxicas cuando las concentraciones son relativamente bajas, entre estos consideran la biodegradación aerobia y anaerobia como sistemas de interés. Otros investigadores como Folsom, Chapman y Protchar², han confirmado la degradación de fenoles con bacterias, en este caso, *Pseudomonas cepacia*. De

¹ DELGADO, Jacob, LEÓN, José Guillermo, SUAREZ, Carlos Alberto. Remoción de fenoles mediante la técnica de la biodegradación. Aplicación a Efluentes de Refinería. Trabajo de grado (Posgraduado en Ingeniería Ambiental) ECOPETROL – CIB, Universidad Pontificia Bolivariana. Bucaramanga. 1993.

² FOLSOM, B.R., CHAPAMAN, P.J., PRITCHAR, P.H. Degradación de fenol y tricloroetileno por *Pseudomonas cepacia*. En: Applied and Environmental Microbiology. (Mayo, 1990). p. 1279-1285.

igual forma, Yucel³, estudia la exitosa degradación de fenol en una mezcla de *Pseudomonas putida P8* y *Cryptococcus elinovii H1*, logrando degradar este compuesto que se encontraba en concentraciones muy elevadas, hasta de 3,2 g/l.

La investigación sobre la degradación del fenol también se ha realizado en ciertos casos en condiciones anaerobias. Field⁴, gracias a su trayectoria en investigación en biotecnología, afirma en su artículo: “Degradación anaeróbica de compuestos orgánicos. Toxicidad metanogénica.”, la factibilidad para diseñar sistemas anaerobios para degradar compuestos fenólicos. A su vez, Knoll y Winter⁵, estudiaron con éxito la degradación de fenol con un consorcio obligado de bacterias anaerobias, identificando una interdependencia íntima del consorcio bacteriano.

Para la efectiva degradación del fenol, los investigadores también han centrado su atención en el fenómeno con cultivos puros y mixtos, siendo esta característica tan importante como la selección del medio, ya sea aerobio o anaerobio. Young y Häggbloom⁶ trabajaron con cultivos puros para identificar los mecanismos de transformación de los anillos fenólicos. Sin embargo, en sus investigaciones se resalta la importancia de las interacciones entre diferentes especies para la biodegradación y remoción de contaminantes aromáticos, ya que estas reacciones

³ YUCEL, Tokuz, R. Biodegradación y remoción de fenoles en un contactor biológico rotatorio. En: Water Science and Technology, Vol. 1, no. 12. 1989. p. 1751-1754

⁴ FIELD, Jim. Degradación anaeróbica de compuestos orgánicos. Toxicidad metanogénica. FIELD, Jim. SIERRA, R. Biodegradability and toxicity lecture series. International course on Anaerobic Wastewater treatment. Agricultural University of Wageningen. The Netherlands. 1989.

⁵ KNOLL, Gertrud; and WINTER, Josef. Degradación del fenol vía carboxilación a benzoato por un consorcio sintrópico obligado de bacterias anaeróbicas. En: Applied Microbiology and Biotechnology. 1989. p. 318 – 324

⁶ YOUNG, L.Y; and HÄGGBLUM, Max. La microbiología aneróbica y la biodegradación de compuestos aromáticos. Biotechnology and Biodegradation. Advances in applied biotechnology, citado por DELGADO, Jacob, LEÓN, José Guillermo, SUAREZ, Carlos Alberto. Remoción de fenoles mediante la técnica de la biodegradación. Aplicación a Efluentes de Refinería. ECOPETROL – CIB. 1993. p. 44.

son realizadas por medio de un consorcio de bacterias fotosintéticas, desnitrificadoras, sulfidógenas y metanogénicas.

En Colombia, ECOPETROL y el Instituto Colombiano de Petróleos, ICP, han explorado varias alternativas de tratamiento, que incluyen desde la oxidación química hasta los procesos combinados con tecnologías biológicas. Estos procesos biológicos han sido implementados generalmente en condiciones aerobias. Este es el caso, de varios campos pertenecientes a ECOPETROL⁷. Entre estos, Campo Arauca, en el departamento que lleva su mismo nombre. Allí se presenta una problemática similar a Campo Payoa, pues sus aguas residuales de producción presentan un contenido de fenoles muy superior a la norma establecida. Desde 2005 ha puesto en marcha un sistema combinado con tecnologías biológicas y físicas (aireación y fotólisis) con excelentes niveles de remoción. Una parte importante del tratamiento consiste en el uso de caldos de bacterias adaptadas al fenol, para la degradación de este compuesto.

Algunos investigadores han estudiado la posibilidad de combinar el proceso biológico con la adsorción en carbón activado. Esta alternativa es interesante, ya que garantiza la remoción del fenol del agua residual, cuando los procesos biológicos no son completamente efectivos. Para tal fin, Koch⁸ estudió la biodegradación de una mezcla de fenol y aminas aromáticas en un lecho de partículas fluidizadas de arena y carbón activado con bacterias adaptadas. A su vez, Craveiro⁹ concluye en su investigación doctoral, que la degradación

⁷ RESTREPO, Ricardo *et al.* Aplicación de Tecnologías Combinadas para el tratamiento de fenoles en aguas residuales de producción. XII CONGRESO COLOMBIANO DE PETRÓLEO Y GAS. Asociación Colombiana Ingenieros de Petróleos. ECOPETROL. 2007.

⁸ KOCH, B *et al.* Arena y carbón activado como soporte de la biopelícula para degradación microbiana de fenoles y compuestos aromáticos nitrogenados. *En: Water Resources*. Vol. 25, no 1. 1991. p. 1- 8.

⁹ CRAVEIRO, Fernando. Anaerobic degradation of phenol and bioregeneration of granular activated carbon. 1991. p. 239. Doctoral thesis (Ph. D). University of Microfilms International, University of Texas at Austin. USA.

anaerobia del fenol con formación de metano y dióxido de carbono ocurre al mismo tiempo que la adsorción del fenol en carbón activado granular. Además, confirma la conversión del fenol, previamente adsorbido en dióxido de carbono y metano, en ausencia de otra fuente de carbono adicional al fenol previamente adsorbido, indicando la evidente bioregeneración del carbón activado en condiciones anaeróbicas.

2.2 EI AGUA RESIDUAL EN LA INDUSTRIA PETROLERA

La actividad petrolera genera contaminación del agua en las etapas de exploración, debido a la perforación de pozos exploratorios, así como en las etapas posteriores de cementación del pozo y extracción de hidrocarburos. Durante esta última etapa se contamina de forma continua el recurso agua, por lo tanto es de gran interés el tratamiento de las aguas de formación y aguas de producción.

2.2.1 Origen del agua residual en la industria petrolera En la etapa de desarrollo o de extracción, los campos petroleros poseen pozos de dos tipos:

- Pozos productores, para extraer el crudo.
- Pozos de inyección, a través de los cuales se inyecta agua, gas o vapor para ayudar a sacar el crudo de las formaciones del subsuelo.

Durante las actividades de extracción en estos pozos, se retira del suelo el hidrocarburo y gran cantidad de agua almacenada, la cual se conoce como agua de formación. Los volúmenes de agua de formación son considerablemente

mayores a medida que aumenta la edad del pozo. En los últimos años de producción puede llegar a extraerse del suelo entre 2 y 10 barriles de agua por cada barril de crudo.¹⁰ Esta agua contiene hidrocarburos, elementos radioactivos, químicos de producción, sales inorgánicas, sales metálicas, metales pesados y sólidos disueltos.

Las aguas de formación son conocidas también como aguas salobres. Esto se debe a su origen sedimentario, estando en contacto con roca por millones de años, concentrando niveles de salinidad muy altos que oscilan entre los 30.000 y 100.000 ppm¹¹. Las aguas de formación no pueden ser vertidas directamente a la fuente hídrica porque presentan niveles demasiado altos de salinidad que ponen en riesgo la vida acuática y el ecosistema, contienen elementos tóxicos y radiactivos, además de ser extraídas a altas temperaturas.

Las aguas que son inyectadas a los pozos se contaminan con las aguas de formación y los diversos productos químicos que son utilizados para la extracción. Las aguas de formación junto con aquellas que se contaminan por la inyección a los pozos, conforman las aguas de producción en esta industria.

Así como las aguas de formación, las aguas de producción tienen un efecto negativo sobre la flora, fauna, vida acuática y los seres humanos que pueden llegar a abastecerse de esta. Debido a que las aguas de formación tienen una gravedad específica igual a la del acuífero del cual provienen, el acuífero tiene alta susceptibilidad de ser contaminado por infiltración. A su vez, los contaminantes disueltos en el agua pueden llegar al acuífero por migración vertical. La contaminación con estas aguas pueda resultar entonces, tanto por infiltración como por vertimiento en las fuentes hídricas. Con frecuencia estas aguas, luego

¹⁰ Manual de Monitoreo Ambiental para la industria petrolera. OILWATCH. Red de Resistencia a las actividades petroleras en los países tropicales.

¹¹ BRAVO, Elizabeth. Los Impactos de la Explotación Petrolera en Ecosistemas tropicales y la Biodiversidad. OILWATCH. Red de Resistencia a las actividades petroleras en los países tropicales. (Mayo, 2007). p. 13.

de someterse a un tratamiento primario son vertidas al curso de agua más cercano.

2.2.2 Composición del agua residual Básicamente, las aguas de producción pueden considerarse como el agua residual de la industria petrolera, si esta no contiene vertimientos de otra naturaleza. Su composición varía dependiendo de aspectos como lugar, edad de los pozos, métodos de extracción y productos químicos utilizados. En general, contienen sales, hidrocarburos aromáticos y policíclicos, elementos radiactivos, metales pesados y gases. En el anexo A se muestra una tabla con la composición típica de estas aguas de producción, con algunos efectos significativos de estos compuestos. El fenol, se encuentra con frecuencia en las aguas de producción, ya sea en su estado natural o sustituido.

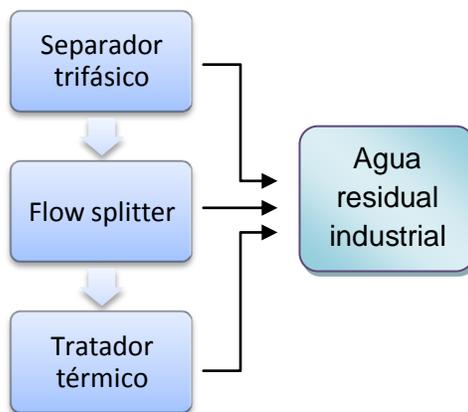
2.2.3 Naturaleza de los fenoles en el agua residual El petróleo proveniente de los pozos de extracción debe ser refinado, para obtener unos productos que satisfagan la demanda de sus derivados. En su estado natural, el petróleo contiene pocos hidrocarburos aromáticos. Desafortunadamente, durante los procesos de separación de fases y refinación aparecen los compuestos aromáticos, una vez el crudo es sometido a altas presiones y temperatura. De esta forma, el agua residual de una petrolera, contiene fenoles por su naturaleza y por los diferentes procesos a los cuales se somete el crudo. La concentración de fenoles varía dependiendo de las características intrínsecas del crudo, así como de las tecnologías utilizadas para la refinación y los sistemas de control ambiental que se estén ejecutando.

2.3 PROBLEMÁTICA EN PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

PetroSantander (Colombia) Inc., en Campo Payoa, Sábana de Torres, explota diversos pozos petroleros y lleva a cabo procesos de separación física del crudo. El agua de formación y aquella que es recolectada en cada uno de estos procesos es sometida a un tratamiento preliminar en las trampas de grasas y luego es llevada a las piscinas o lagunas facultativas. Actualmente, se generan alrededor de 3 a 4 l/s de agua residual. El contenido de fenoles en el efluente del sistema de tratamiento actual, oscila entre 4 y 8 mg/l de fenol.

2.3.1 Procesos de separación física del crudo El crudo extraído de los pozos, se conduce hacia el tren de separación, que consta de un separador trifásico, una unidad conocida como “flow splitter” y los tratadores térmicos. Estos procesos tiene como finalidad la obtención del crudo, libre de otros compuestos líquidos o gaseosos. La figura 1 muestra los tratamientos físicos aplicados al crudo en Campo Payoa, de los cuales se obtiene parte del agua residual industrial.

Figura 1. Tratamiento físico del crudo en Campo Payoa.



El autor.

El separador trifásico es una unidad que permite la separación del crudo de las fases líquidas y gaseosas. El crudo se separa del líquido por gravedad, el líquido con densidad superior a la del crudo se extrae en el fondo del separador, a su vez, el gas se recupera en la parte superior. El flow splitter es un sistema que cumple la misma función que el separador trifásico, dirige el flujo que atraviesa la unidad hacia dos o más partes para recolectar las fases en espacios distintos. Por último, los tratadores térmicos separan los componentes líquidos y gaseosos que aún permanecen con el crudo, por medio de la evaporación. Cada uno de estos procesos genera agua residual, tal y como se observa en la figura 1.

2.3.2 Tratamiento del agua residual en Campo Payoa El agua residual que se recolecta de los pozos y los procesos físicos de tratamiento, descritos anteriormente, es conducida hasta las trampas de grasa y luego es llevada hacia las piscinas A y B de tratamiento. En Campo Payoa, estas piscinas fueron concebidas como unas lagunas facultativas para la remoción de materia orgánica, sólidos suspendidos e hidrocarburos disueltos. En la actualidad las piscinas funcionan como unas unidades adicionales de separación de hidrocarburos, y no cumplen a cabalidad las funciones para las cuales fueron diseñadas. En el anexo B se muestra la ruta del agua residual industrial desde su llegada a las piscinas de tratamiento hasta el vertimiento final.

2.4 TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUA RESIDUAL

Los procesos biológicos de tratamiento implican la conversión del sustrato deseado en productos, a través de agentes biológicos, lo cual se conoce como “bioconversión”. De esta forma el agua residual con sus compuestos

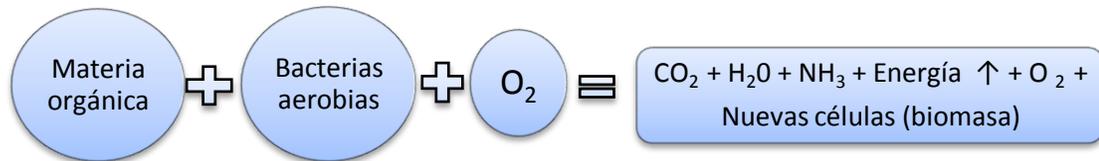
contaminantes de interés, representa el sustrato a degradarse, al final del proceso se obtiene agua con una calidad considerablemente mejor. Estos tratamientos biológicos, aunque numerosos y de diferente aplicabilidad, se pueden clasificar en dos grandes grupos: los tratamientos aerobios (en presencia de oxígeno molecular) y los tratamientos anaerobios (en ausencia de oxígeno molecular). Algunos autores, como Romero Rojas¹², se refieren también a los tratamientos anóxicos como aquellos en los cuales hay conversión de nitrato a nitrógeno gaseoso en ausencia de oxígeno molecular, y a los procesos combinados, de tal forma que existen cuatro opciones de tratamiento que podrían considerarse. Con frecuencia, los tratamientos biológicos son conocidos también como “biorremediación”, aunque este término es aplicado con mayor amplitud, a la recuperación de suelos contaminados.

2.4.1 Tratamientos aerobios Los tratamientos aerobios son conocidos también como tratamientos convencionales, incluyen los tratamientos en lecho fijo y los tratamientos en medios suspendidos. En los procesos aerobios el oxígeno libre es el único aceptor de electrones, por lo cual el oxígeno es reducido y el carbono contenido en la materia orgánica es oxidado.

Durante la oxidación o descomposición de la materia orgánica se obtiene la energía necesaria para la síntesis de tejido celular nuevo, y los compuestos orgánicos se transforman a dióxido de carbono. En la figura 2 se observa el proceso de oxidación aerobia. La reacción que se ilustra es muy eficiente ya que se liberan grandes cantidades de energía, la cual se almacena en la biomasa sintetizada (nuevas células) y los residuos son compuestos inorgánicos estables de bajo contenido energético.

¹² ROMERO ROJAS, Jairo Alberto. Tratamiento de Aguas Residuales. Capítulo 10. p. 226.

Figura 2. Proceso de oxidación aerobia.



Tratamiento de Aguas Residuales. Principios del tratamiento biológico. Jairo Alberto Romero Rojas.

Se resume en la tabla 1 los principales procesos de tratamiento aerobio, los cuales son utilizados esencialmente para la remoción de Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) y nitrificación.

Tabla 1. Sistemas de Tratamiento Aerobio.

Crecimiento suspendido	Crecimiento adherido
Lodos activados: <ul style="list-style-type: none"> - Convencional - Mezcla completa - Aireación escalonada - Estabilización y contacto - Oxígeno puro - Tasa alta - Aireación prolongada - Proceso Krauss Zanjón de oxidación Lagunas aireadas Digestión aerobia Lagunas aerobias	Filtros percoladores: <ul style="list-style-type: none"> - Tasa alta - Tasa baja Torres biológicas Unidades rotatorias de contacto biológico Reactores de lecho fijo

Tratamiento de Aguas Residuales. Principios del tratamiento biológico. Jairo Alberto Romero Rojas.

2.4.2 Tratamientos anaerobios Los tratamientos anaerobios comprenden una compleja serie de reacciones de digestión y fermentación que llevan a cabo diferentes especies bacterianas.¹³ Son apropiados cuando existe un nivel alto de compuestos oxidables, orgánicos e inorgánicos, lo cual se refleja en una elevada demanda biológica de oxígeno (DBO). Se conocen comúnmente como procesos de degradación anaerobia.

Los productos principales de la degradación anaerobia son compuestos gaseosos, como el metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) y sulfuro de hidrógeno (H₂S) e hidrógeno (H₂), en menor cantidad. El proceso puede sintetizarse en dos etapas generales: fermentación ácida y fermentación del metano o metanogénesis.

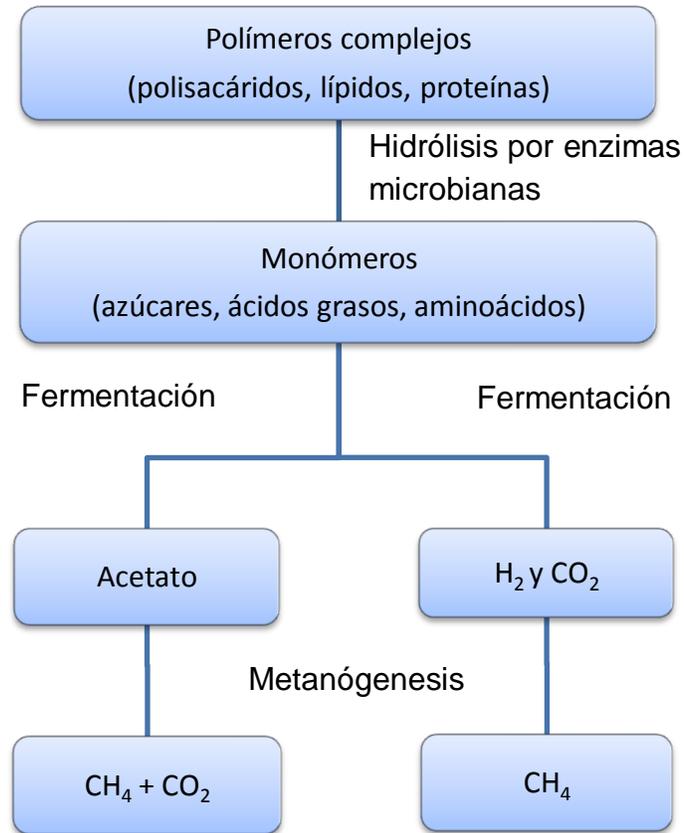
En la primera etapa de fermentación ácida, los compuestos orgánicos presentes en el agua residual se hidrolizan, para obtener unidades moleculares menores. Estas unidades atraviesan un proceso de oxidación biológica, transformándose principalmente en ácidos orgánicos de cadena corta, como el ácido acético, propiónico y butílico. Estas transformaciones las llevan a cabo las bacterias anaerobias y facultativas presentes en las unidades de tratamiento.

La segunda etapa, la fermentación del metano, transforma los ácidos a metano, dióxido de carbono y ácidos orgánicos de cadenas cortas. Los ácidos orgánicos de cadena corta se transforman hasta ácido acético, que finalmente se convierte en CO₂ y CH₄. La segunda etapa ocurre a un ritmo más bajo que la primera etapa, puesto que la velocidad de crecimiento de las bacterias responsables de la fermentación ácida es más elevada. De esta forma, la fermentación del metano controla la velocidad el proceso, siendo un factor primordial de éxito en el

¹³ MADIGAN, Michael T., MARTINKO, John M., y PARKER, Jack. BROCK. Biología de los microorganismos. Octava Edición. Capítulo 12.15, página 467.

tratamiento. A su vez, el tiempo de residencia de los microorganismos metanogénicos debe ser el adecuado, para evitar que sean eliminados del sistema. El proceso global de degradación anaerobia se ilustra en la figura 3.

Figura 3. Proceso microbiano de digestión anaerobia.



Biología de los microorganismos. Octava Edición. Michael Madigan, John Martinko, y Jack Parker.

El tratamiento anaerobio en contraposición con el tratamiento aerobio, evidencia algunas ventajas importantes que se incluyen a continuación:

- El ahorro en consumo de energía, ya que no se emplea ningún equipo de aireación.

- Se produce menor cantidad de biomasa, por unidad de reducción de sustrato, (tasa baja de síntesis celular), lo cual contribuye a un ahorro significativo en los procesos de manejo y evacuación de lodos.
- Es posible operar las unidades de tratamiento con cargas orgánicas superiores a las utilizadas en los procesos aerobios.
- Las necesidades energéticas del proceso pueden suplirse a través de la producción de metano.
- Los requerimientos nutricionales son bajos.

A su vez, los procesos de digestión anaerobia presentan las siguientes desventajas:

- Es necesario trabajar con tiempos de retención altos.
- La producción de olores es importante, debido a la presencia del ácido sulfhídrico, amidas y ácidos grasos.
- Las unidades de tratamiento son sensibles a las cargas de choque.
- Son necesarias temperaturas superiores a los procesos aerobios, para garantizar una óptima operación, traduciéndose en alta demanda energética.
- El medio es corrosivo y se requieren altas concentraciones de alcalinidad.

La tabla 2 muestra las tecnologías de tratamiento anaerobio más utilizadas, con algunas consideraciones de interés que se deben tener en cuenta al momento de realizar una selección del tratamiento adecuado. En algunos casos puede ser pertinente el uso de un sistema combinando, involucrando más de una tecnología.

Tabla 2. Sistemas de Tratamiento Anaerobio.

Tipo de tecnología	Nombre	Características
Sistemas convencionales: Proceso anaerobio de contacto	Digestor anaerobio de baja carga	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No requiere dispositivos de mezcla. ▪ El afluente ingresa al reactor en la zona de digestión. ▪ Hay formación de espuma en la superficie debido a la presencia de gas que arrastra lodo y material flotante. ▪ El volumen útil del reactor es aproximadamente el 50% del volumen total del digestor. ▪ El tiempo de retención celular* (Θ_c) es igual al tiempo de retención hidráulico (TRH), el cual oscila entre 30 y 60 días. ▪ La carga de sólidos debe estar entre 0.6 – 1.6 kgSSV/m³-d^{**}
	Digestor anaerobio de alta carga	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Posee mecanismos de mezcla y calentamiento. ▪ Trabajan con cargas mayores y emplean volúmenes más pequeños. ▪ El proceso se considera más estable. ▪ $\Theta_c = 15 - 20$ días. ▪ La carga de sólidos recomendada es de 1.6 - 3.2 kgSSV/m³.d.
Sistemas de alta tasa con biomasa adherida:	Reactor de lecho fijo: Filtro anaerobio	<ul style="list-style-type: none"> ▪ El filtro contiene un manto de material inerte que sirve como soporte para los microorganismos, el cual forma una capa de biomasa adherida. ▪ Cierta cantidad de microorganismos quedan retenidos en los intersticios del filtro. ▪ El flujo del líquido genera la mezcla y el contacto afluente-biomasa. ▪ Son adecuados para el tratamiento de aguas residuales con bajo contenido de sólidos suspendidos, o para sistemas de tratamiento que poseen unidades de retención de sólidos antes del filtro. ▪ El flujo puede ser ascendente o descendente ▪ TRH \cong horas ▪ $\Theta_c \cong 20$ días

* Tiempo de retención celular (TRC o Θ_c): Se define como el tiempo promedio que las partículas de biomasa permanecen en el reactor antes de ser desechadas. OROZCO JARAMILLO, Álvaro. Bioingeniería de Aguas Residuales. Teoría y Diseño. Asociación Colombiana de Ingeniería Ambiental. Bogotá, 2005. Página 235.

** Kilogramos de sólidos suspendidos volátiles por metro cúbico en un día.

	<p>Reactor de lecho rotativo: Biodiscos anaerobios</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consiste en una serie de discos instalados en forma paralela, sobre un eje giratorio, accionado por un motor externo. La biomasa se adhiere a los discos de material poroso. ▪ Los discos permanecen sumergidos y el reactor cerrado. ▪ La velocidad de rotación de los discos debe permitir tanto la adherencia como el desprendimiento de la biomasa en exceso. ▪ La mezcla es proporcionada por el movimiento de los discos. ▪ El reactor debe estar seguido de un sedimentador secundario para la decantación de los lodos que salen con el efluente.
	<p>Reactores de lecho expandido o fluidificado (RALF)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La expansión del lecho proporciona un adecuado contacto entre el afluente y la biomasa, evitándose los problemas de obstrucciones, comúnmente generados en los filtros anaerobios. ▪ El manto puede estar conformado de arena, antracita o PVC, el cual ocupa alrededor del 10% del reactor. ▪ Posee un manto de material inerte que se mantiene expandido por la velocidad ascendente del líquido, al cual se adhieren los microorganismos. ▪ Los reactores de lecho expandido tienen un 10 a 20% de expansión, mientras que los de lecho fluidificado tienen más de un 30%. La fluidificación se entiende como el movimiento libre de las partículas del lecho en relación con las demás.
<p>Sistemas de alta tasa con biomasa suspendida:</p>	<p>Reactor de manto de lodos (UASB)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No existe material inerte de soporte para la biomasa. ▪ Los microorganismos quedan retenidos por la formación de gránulos densos en suspensión, que se disponen a través de capas desde el fondo del reactor. ▪ El flujo es ascendente, y atraviesa el lecho de lodo en su paso. ▪ La estabilización de la MO ocurre en todas las zonas del reactor. ▪ Es necesario ubicar un sedimentador a la salida, junto con un dispositivo de separación de gases.

IMFIA Instituto de Mecánica de los Fluidos e Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería, Universidad de Montevideo. En línea: www.fing.edu.uy/imfia/ambiental/reactores_anaerobios.ppt.

2.5 BIODEGRADACIÓN DE FENOLES

El fenol es un alcohol aromático, su fórmula molecular es C_6H_5OH o C_6H_6O . En su estado puro, a temperatura ambiente, es un sólido cristalino blanco o incoloro. El fenol es una sustancia manufacturada por el hombre, su producto comercial se encuentra en estado líquido y se conoce generalmente como ácido fénico. Tiene un olor repugnante dulce y alquitranado. Es considerado como una sustancia tóxica para los organismos acuáticos. En la tabla 3 se resumen algunas características y propiedades físicas básicas del fenol. En el Anexo C se incluye su ficha de seguridad química.

Tabla 3. Propiedades físicas del fenol.

Propiedad	Valor
Punto de ebullición:	182°C
Punto de fusión:	43°C
Densidad relativa (agua = 1):	1.06
Solubilidad en agua, g/100 ml:	7 (moderada)
Presión de vapor, Pa a 20°C:	47
Densidad relativa de vapor (aire = 1):	3.2
Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1):	1.001
Punto de inflamación:	79°C (c.c.)
Temperatura de autoignición:	715°C
Límites de explosividad, % en volumen en el aire:	1.36-10

Fenol. Fichas Internacionales de Seguridad Química ICSC: **0070** En línea: http://training.itcilo.it/actrav_cdrom2/es/osh/ic/108952%20.htm

La biodegradación de los fenoles puede llevarse a cabo en presencia o ausencia de oxígeno. En fenol es utilizado por los microorganismos como fuente de energía y de carbono para la síntesis de masa celular. En condiciones adecuadas existen gran cantidad de microorganismos con la capacidad de depurar los residuos fenólicos de todo tipo (compuestos sustituidos y no sustituidos, halogenados, entre otros), siendo el pH y las concentraciones de nutrientes, como nitratos y fosfatos, parámetros importantes en el afluente de estos sistemas.

2.5.1 Biodegradación aerobia Los microorganismos del suelo y del agua residual, convierten los compuestos orgánicos, como el fenol, en compuestos inorgánicos. Los microorganismos más utilizados para la degradación de fenol son las bacterias, entre las cuales se pueden mencionar las *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas cepacia*, *Xantobacterias s.p.*, *Alcaligenes spp*, y *Streptomyces setonii*. También son frecuentes las levaduras como *Trichospórum cutaneum* y *Cándida tropicalis*, y los hongos como el *Phanerochate chrysosporium*. Los procesos aerobios incluyen los lodos activados, bioreactores de lecho fluidizado, biopelículas soportadas en resinas, carbón activado o vidrio sinterizado*.

Según Delgado¹⁴, los sistemas de lodos activados con un pool específico de bacterias, pueden trabajar con concentraciones desde 50 hasta 100 ppm de fenol, y los sistemas con microorganismos específicos pueden tratar efluentes con concentraciones hasta de 4 g/l de fenol, con eficiencias de remoción hasta del 99%. Algunos parámetros de operación de los sistemas aerobios se incluyen en la tabla 4.

* Vidrio sinterizado: conglomerado de polvo de vidrio calentado sin llegar a fusión, moldeado por presión. Se usa como material filtrante biológico por su alta porosidad, facilitando el asentamiento de las colonias de bacterias.

¹⁴ DELGADO, Jacob, LEÓN, José Guillermo, SUAREZ, Carlos Alberto. Remoción de fenoles mediante la técnica de la biodegradación. Aplicación a Efluentes de Refinería. Trabajo de grado (Posgraduado en Ingeniería Ambiental) ECOPETROL – CIB, Universidad Pontificia Bolivariana. Bucaramanga. 1993.

Tabla 4. Parámetros de operación de unidades aerobias.

Párametro	Valor
pH	7 – 9
Temperatura	30 – 37 °C
Oxígeno teórico requerido	2.4 kg/kg de fenol
Concentración de fósforo – fenol	1:70
Concentración de nitrógeno – fenol	1:10
Tiempos de retención	15 – 24 horas
Capacidad de depuración	4 kg/m ³ día

Remoción de fenoles mediante la técnica de la biodegradación. Aplicación a Efluentes de Refinería.

2.5.2 Biodegradación anaerobia Existen evidencias sobre la biodegradación anaerobia de hidrocarburos aromáticos y fenoles, en efluentes industriales, particularmente con el uso de *Pseudomonas sp.* Tal y como afirma Delgado:

El progreso en la tecnología de tratamiento de aguas residuales industriales, por digestión anaerobia ha sido posible gracias a los avances logrados en el conocimiento de las bases microbiológicas, cinéticas y estequiométricas del proceso y la aplicación de métodos y conceptos de diseño característicos de la Ingeniería química.¹⁵

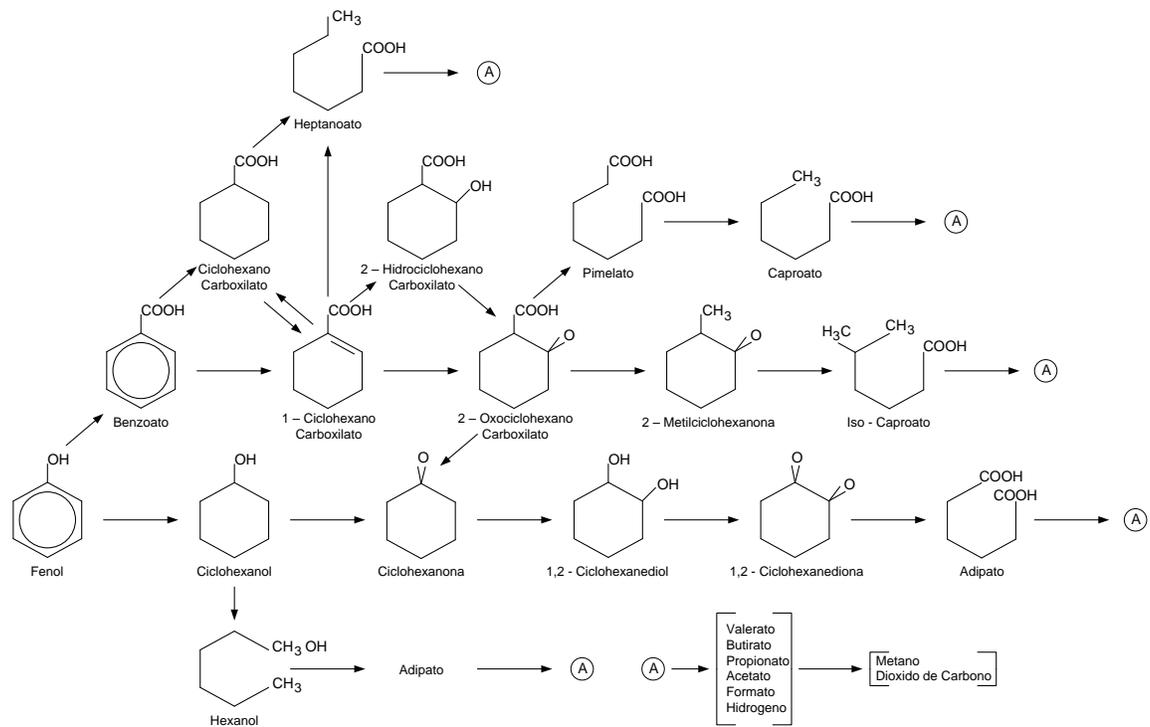
Craveiro¹⁶ señala que estudios anteriores sugieren que las rutas de degradación del fenol en medio anaerobio difieren sustancialmente de aquellas que han sido

¹⁵ DELGADO, Jacob, LEÓN, José Guillermo, SUAREZ, Carlos Alberto. Remoción de fenoles mediante la técnica de la biodegradación. Aplicación a Efluentes de Refinería. Trabajo de grado (Posgraduado en Ingeniería Ambiental) ECOPELROL – CIB, Universidad Pontificia Bolivariana. Bucaramanga. 1993.

¹⁶ CRAVEIRO, Fernando. Anaerobic degradation of phenol and bioregeneration of granular activated carbon. 1991. p. 239. Doctoral thesis (Ph. D). University of Microfilms International, University of Texas at Austin. USA.

reportadas en medio aerobio. A su vez, la degradación del fenol a metano en condiciones anaerobias depende de la interacción fisiológica de mínimo tres grupos de bacterias: un metabolizador del fenol, una bacteria metanogénica que utilice hidrógeno, y un metanógeno acetotrófico*. Las rutas de degradación anaerobia del fenol bajo condiciones reductoras son difícilmente identificables, pues dependen de una simbiosis microbiana casi perfecta. La figura 4 muestra un esquema con las rutas propuestas por Craveiro¹⁷ para la degradación del fenol en ausencia de oxígeno molecular.

Figura 4. Ruta de biodegradación del fenol.



Degradación anaerobia del fenol y bioregeneración del carbón activado granular.

* Bacteria metanogénica dependiente del ácido acético para sus funciones vitales.

¹⁷ Ibid., p. 9.

2.6 BIOREGENERACIÓN DEL CARBÓN ACTIVADO GRANULAR

El carbón activado es un componente de interés en el proyecto, ya que puede contribuir a la eliminación del fenol, a través de un proceso de adsorción en un lecho provisto con este material. De esta forma, se incluye en este literal una descripción de los principales aspectos relacionados con el carbón activado.

El carbón activado es un material ampliamente utilizado para la eliminación de sustancias contaminantes, especialmente compuestos orgánicos. Su regeneración se logra a través de distintos procesos como: extracción con disolvente, regeneración por vía térmica, tratamiento con gases oxidantes, entre otros. Desde hace varias décadas se ha utilizado en sistemas biológicos para complementar los tratamientos de aguas residuales propuestos, de tal forma que se ha estado investigado el fenómeno de la bioregeneración desde la superficie del carbón activado.

2.6.1 Naturaleza del Carbón Activado Granular (GAC) El carbón activo se obtiene a partir de diversas sustancias carbonosas de origen animal, vegetal o mineral, como la antracita, carbones grasos o bituminosos, coque de petróleo, turba, madera, cáscara de nuez, coco o almendra, huesos, así como otros productos residuales de naturaleza lignocelulósica. La materia inicial es amorfa y la estructura porosa de interés en la adsorción se produce durante la activación.

El carbón activado es un aglomerado rígido de microcristales, cada uno formado por una pila de planos gráfiticos. Cada átomo dentro de un determinado plano se encuentra unido a cuatro átomos de carbono adyacentes. De esta forma, los átomos de carbono en los bordes de los planos presentan una alta actividad

disponible. En estos “sitios”, tiene lugar la adsorción. A medida que los sitios se van ocupando, se alcanza el equilibrio de adsorción y la calidad del efluente disminuye. La química de la superficie de un carbón tiene relevancia en la velocidad y la capacidad de adsorción debido a la interacción entre superficie y adsorbatos. Los grupos funcionales sobre esta superficie tienen gran influencia sobre las propiedades adsorbentes respecto de los posibles adsorbatos. Estos grupos pueden ser carboxílicos, fenólicos, hidroxilo, carbonilo o peróxidos, entre otros.

El carbón activado puede encontrarse en forma de gránulos, pastillas o polvo. En los carbones granulares (GAC) las propiedades físicas de mayor interés son la dureza y el tamaño de partícula. Algunas propiedades de interés de los carbones activados comerciales, se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Propiedades de los carbones activados comerciales.

Propiedad	Valor
Área específica, BET (m^2/g)	600 – 1.500
Área/ masa del macroporo (m^2/g)	100 – 800
Volumen de poro total (cm^3/g)	0,6 – 1,8
Volumen/ masa del macroporo (cm^3/g)	0,2 – 1,3
Densidad aparente (comprimido) (g/cm^3)	0.3 – 0.7
Granularidad (mm):	
a:polvo	0,05 – 0,1
b:granular	0,1 – 2
Coefficiente de uniformidad (grano)	1,4 – 2
Porcentaje de cenizas (%)	1 – 12

Rango de valores para algunas propiedades de los carbones activos comerciales.
 En línea: <http://www.textoscientificos.com/quimica/carbon-activo/adsorbente>

2.6.2 Utilización del GAC El GAC se utiliza generalmente como lecho filtrante del agua a tratar. Es útil para el tratamiento específico de agua potable o de aguas industriales. Retiene los compuestos orgánicos disueltos no eliminados por la degradación biológica natural, microcontaminantes y ciertos metales pesados a nivel de trazas. También se aplica en el tratamiento terciario de aguas residuales o industriales, en el caso de que estas aguas tengan elementos no biodegradables o tóxicos orgánicos que impiden el uso de tecnologías biológicas. De esta forma, el carbón retiene los compuestos orgánicos disueltos, resistentes al tratamiento biológico, eliminando cierta proporción de la demanda química de oxígeno (DQO) residual.

Los lechos de GAC operan en forma continua y la eliminación de contaminantes se efectúa mediante tres mecanismos: adsorción, retención de partículas de mayor tamaño y deposición de material coloidal. Estos lechos, cumplen cuatro funciones principales: filtración, soporte bacteriano, acción catalítica y adsorción.

El GAC se puede utilizar para eliminar contaminantes orgánicos disueltos, como: detergentes, colorantes de síntesis solubles, disolventes clorados, fenoles y derivados hidroxilados, derivados aromáticos, sustituidos o no, especialmente derivados clorados o nitrados, y los sabores y olores.

Los compuestos orgánicos menos solubles en agua, son fácilmente adsorbidos por el GAC, a partir de su disolución (Regla de Lundelius). A su vez, los compuestos menos polares son adsorbidos con facilidad a partir de sus soluciones acuosas polares. Esto se debe a que las moléculas orgánicas deben romper las uniones disolvente – adsorbato* para poder ser adsorbidas. Los enlaces disolvente

* Elemento que se adsorbe en el medio.

– adsorbato son más fuertes cuando el adsorbato es muy soluble en agua, o presenta una interacción dipolo – dipolo con el disolvente. Las moléculas orgánicas son, en la mayoría de los casos, las menos solubles en agua, y tiene la tendencia a difundirse muy lentamente a través de los poros, adsorbiéndose con mayor o menor dificultad dependiendo de su tamaño.

2.6.3 Generalidades sobre la bioregeneración Chudyk y Snoeyink¹⁸ demostraron la regeneración biológica del carbón activado granular para condiciones típicas de tratamiento del agua. Una columna de GAC alimentada con organismos aclimatados al fenol, fue operada en paralelo con una columna estéril de GAC. La regeneración fue medida indirectamente a través del consumo biológico de oxígeno.

Otra evidencia de la utilización del carbón activado como tratamiento integrado para los efluentes de agua residual, fue expuesta por Maloney *et al.*¹⁹ Se desarrolló una metodología para separar los efectos de la adsorción y la biodegradación de carbono orgánico total (COT) en contactores biológicos de GAC. La diferenciación entre la adsorción y la degradación biológica se basó en el efecto de la temperatura, la cual tiene un mayor impacto en las reacciones biológicas en comparación con los procesos físicos de difusión y adsorción. Estos procesos físicos, tienen una menor energía de activación que los procesos biológicos. Los datos obtenidos indicaron que la biodegradación del sustrato no ocurre en los contactores de GAC, luego la eliminación del COT se realizó por el mecanismo de adsorción en el GAC y retención en los contactores.

¹⁸ CHUDYK, W.A. and SNOEYINK, V.L. Bioregeneration of activated carbon saturated with phenol, citado por CRAVEIRO, Fernando. Anaerobic degradation of phenol and bioregeneration of granular activated carbon. 1991. p. 9. Doctoral thesis (Ph. D). University of Microfilms International, University of Texas at Austin. USA

¹⁹ MALONEY, S.W. *et al.* Treating dinitrotoluene in propellant wastewater using anaerobic fluidized-bed bioreactors containing granular activated carbon (GAC), citado por *Ibid.*, p. 10.

2.6.4 Parámetros de interés en la bioregeneración de GAC Algunos parámetros importantes para la regeneración del carbón activado granular incluyen: la capacidad de adsorción del sustrato, transporte de partículas por difusión, tamaño del grano, actividad bacteriana, temperatura del agua, tiempo de contacto, tipo de carbón activado, composición del afluente.

Li and Digiano²⁰ determinaron la influencia de la capacidad de adsorción del sustrato y de los fenómenos de transporte por difusión en condiciones aerobias. El fenol, fue uno de los sustratos utilizados. La tasa de biodegradación y de crecimiento específico de microorganismos observada en el GAC fue mayor que en los otros medios utilizados: arena y carbón. También sugieren que la disminución del diámetro de partícula del grano de carbón, reduce la longitud de la vía de difusión del sustrato orgánico desde los poros internos del carbón al biofilm, incrementando la disponibilidad del sustrato adsorbido para las células adheridas²¹. La evidencia encontrada sugirió la reutilización del sustrato previamente adsorbido en el GAC (bioregeneración).

Otras investigaciones orientadas hacia la bioregeneración del carbón activado fueron conducidas por Spitel y DiGiano²² usando fenol y nitrofenol en concentraciones de 10 a 100 µg/l. Los resultados indicaron una regeneración hasta del 22% de los espacios efectivos del GAC ocupados previamente con el compuesto adsorbido. Después del consumo del sustrato adsorbido, los

²⁰ LI, A. Y., and DIGIANO, F. A. The availability of adsorbed substrate for microbial degradation on granular activated carbon, citado por *ibid.*, p. 10.

²¹ LI, A. Y., and DIGIANO, F.A. The availability of adsorbed substrate for microbial degradation on granular activated carbon, citado por SHIMP Robert J. y PFAENDER, Frederick K. Effects of Surface Area and Flow Rate on Marine Bacterial Growth in Activated Carbon Columns. *En: Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 44, no. 2 (Aug. 1982), p. 476.

²² SPEITEL, G. E. Jr. and DIGIANO, F. A. The Bioregeneration of GAC Used to Treat Micropollutants, citado por CRAVEIRO, Fernando. Anaerobic degradation of phenol and bioregeneration of granular activated carbon. 1991. p. 12. Doctoral thesis (Ph. D). University of Microfilms International, University of Texas at Austin. USA.

fenómenos de transporte por difusión limitan la disponibilidad del sustrato adsorbido remanente. Modelos matemáticos conducidos por Spitel y DiGiano²³ sugieren que los fenómenos de difusión entre las partículas son el factor que gobierna la biodisponibilidad del sustrato adsorbido.

2.6.5 Aplicación en aguas residuales bajo condiciones anaerobias La mayor parte de la investigación con GAC en condiciones anaerobias se ha desarrollado de manera indirecta. Con frecuencia, los lechos de GAC son utilizados para adsorber sustancias inhibitoras de los procesos anaerobios, disminuyendo los niveles de toxicidad para los microorganismos. Otros investigadores como Andrews²⁴, concluyen que la adsorción de compuestos inhibitoras en GAC facilita la fermentación anaerobia. Así mismo, reportan que la bioregeneración del carbón activado fue observada después de la aclimatación biológica y resultó en un incremento temporal en la producción de metano, mayor a la máxima producción de metano esperada.

Este fenómeno también fue observado por Khan²⁵, en donde la bioregeneración del GAC se evidenció por medio de un aumento temporal en la producción de gas metano, en exceso al calculado en base a un 100% de conversión de la demanda química de oxígeno (DQO) del afluente.

²³ SPEITEL, G. E.; Jr., DOVANTZIS, K. and DIGIANO, F. A. Mathematical Modeling of Bioregeneration in GAC Columns, citado por *ibid.*, p. 12.

²⁴ ANDREWS, G.F. ; FONTA, J.P. ; SCOTT, C.D. (ed.). Novel absorbing bioreactor, citado por *ibid.*, p. 13.

²⁵ KHAN, K. A.; SUIDAN, M. T. and CROSS, W. H. Anaerobic Activated Carbon Filter for the Treatment of Phenol Bearing Wastewaters, citado por *ibid.*, p. 14.

Kim²⁶ también detectó la bioregeneración del GAC a través del aumento en la producción del biogás. Los datos indicaron que la conversión biológica del sustrato que se desorbe corresponde a este aumento. La bioregeneración ocurrió con la desorción del fenol previamente adsorbido dada una menor concentración de fenol en el afluente.

Según Craveiro²⁷, la bioregeneración del sustrato es una consecuencia de la desorción causada por gradientes de concentración negativos, desplazamiento de la sustancia adsorbida debido a los fenómenos de competición en la adsorción, ataque enzimático directo, o una combinación de estos procesos. De esta forma, un parámetro de interés para la evaluación de la bioregeneración del GAC es la energía de adsorción, importante para los fenómenos de adsorción (incluyendo quimisorción*) y desorción.

²⁶ KIM, B. R.; CROSS, W. H.; CHIAN, E. S. K. Organic Solvent Regeneration of Granular Activated Carbon, citado por *ibid.*, p. 14.

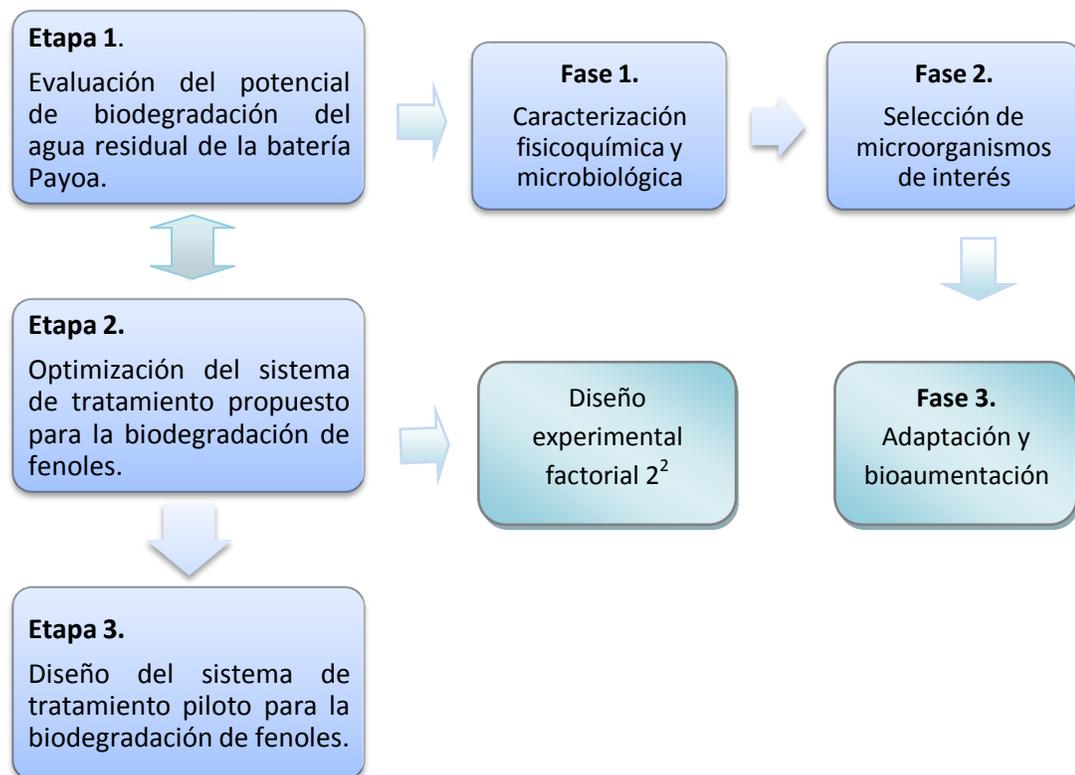
²⁷ CRAVEIRO, Fernando. Anaerobic degradation of phenol and bioregeneration of granular activated carbon. 1991. p. 239. Doctoral thesis (Ph. D). University of Microfilms International, University of Texas at Austin. USA.

* Quimisorción: proceso de adsorción en el cual el adsorbato presenta una interacción química con el adsorbente.

3. METODOLOGÍA

El proyecto se desarrolló en tres etapas fundamentales, las cuales se observan en la figura 5. Inicialmente, se realizó una evaluación del potencial de biodegradación de fenoles en el agua residual problema, partiendo de una caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual, seguido por la selección y adaptación de microorganismos de interés y la correspondiente bioaumentación.

Figura 5. Metodología desarrollada.



Posteriormente en la etapa 2, basándose en los hallazgos significativos de la etapa 1, se realizó una optimización del sistema de tratamiento propuesto con un diseño experimental factorial 2². Finalmente, en la etapa 3, se diseñó el sistema de tratamiento a escala piloto para la batería Payoa.

3.1 EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DEL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL DE LA BATERÍA PAYOA A TRAVÉS DEL ESTUDIO DE LA FLORA MICROBIANA NATIVA.

Como se mencionó anteriormente, esta etapa se desarrolló secuencialmente partiendo de la caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual problema. Esta caracterización inicial fue el punto de partida para la selección de microorganismos potencialmente degradadores del fenol, los cuales fueron sometidos a un proceso de adaptación a este compuesto. Los microorganismos que respondieron positivamente a la adaptación se biomagnificaron para llevar a cabo la etapa 2.

3.1.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual de la batería Payoa

La caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua problema se realizó en tres fases fundamentales:

- a. El muestreo inicial, con el fin de obtener datos representativos en cuanto a la calidad del agua, así como las muestras para la caracterización microbiológica.
- b. El aislamiento de microorganismos, con la preparación de medios modificados, y siembra en los mismos.
- c. El estudio y caracterización de los microorganismos encontrados.

3.1.1.1 Muestreo fisicoquímico y microbiológico El muestreo se realizó en la zona correspondiente a la descarga de agua residual de la batería Payoa. En este lugar, en diferentes locaciones se tomaron las muestras necesarias para llevar a cabo los análisis fisicoquímicos y microbiológicos. El procedimiento general se efectuó de acuerdo a lo establecido en el método 1060, “Toma y Conservación de muestras”, incluido dentro del manual de Métodos normalizados para el análisis de aguas y aguas residuales (Standard Methods).

♠ **Muestreo fisicoquímico** Para el análisis de parámetros fisicoquímicos se recolectó una única muestra compuesta. Las muestras individuales, para la composición, se tomaron con intervalos de una hora, durante un espacio de 8 horas, de 9:00 a.m. a 4:00 p.m. La fuente seleccionada para la toma de muestras fue el efluente de la piscina B, tal como se observa en la foto 1, el cual es descargado directamente a la quebrada a través de una conducción principal, y dos conducciones alternas, para eventos de caudal máximo. El caudal se determinó mediante el método de aforo simple, con recipiente de volumen conocido y cronómetro. Para la composición de la muestra se utilizó la fórmula 1:

$$1. V_i = \frac{V_t}{Q_p * N} * Q_i$$

Donde:

V_i = volumen por muestra

V_t = volumen total a componer

Q_p = caudal promedio

N = número de muestras

Q_i = caudal registrado por muestra

Foto 1. Efluente de la piscina B.



Registro fotográfico de campo.

Las muestras individuales fueron recolectadas en recipientes de 1 L, y localizadas a la sombra previa toma de pH, temperatura y oxígeno disuelto. Una vez terminada la recolección de la última muestra individual se procedió a la composición de las muestras. La muestra compuesta se almacenó en recipientes de vidrio y plástico, tal como se muestra en la tabla 6, teniendo en cuenta los parámetros seleccionados para el análisis fisicoquímico: DBO (Demanda biológica de oxígeno), DQO (Demanda química de oxígeno), oxígeno disuelto, grasas y aceites, sólidos suspendidos, fenoles totales, bario, TPH's (Hidrocarburos totales del petróleo). La muestra se transportó refrigerada y fue entregada para análisis, al siguiente día.

Tabla 6. Envase utilizado para la muestra compuesta.

Parámetro a determinar	Tipo de envase
DBO, sólidos, fenoles	Plástico
DQO, TPH, bario	Ámbar
Grasas y aceites	Vidrio
Oxígeno disuelto	Frasco Winkler

El autor.

♣ **Muestreo microbiológico** Las muestras microbiológicas se recolectaron de fuentes de agua residual y lodos. Se tomaron ocho muestras puntuales, las cuales se describen en la tabla 7. Cuatro de estas muestras corresponden a agua residual, las restantes a lodo. Las muestras de lodo se recolectaron en diferentes puntos en las piscinas A y B. Todas las muestras fueron almacenadas en recipientes de vidrio estériles y posteriormente selladas. Las fotos 2 a 6, a continuación, ilustran la ubicación de los puntos de muestreo seleccionados. En la foto 3, se observan las cámaras 1 y 2, correspondientes a los puntos de muestreo de agua residual. En las fotos 4 a 7 se observan los puntos de muestreo para lodos.

Tabla 7. Muestras para análisis microbiológico.

Tipo de muestra	Denominación	Procedencia
Agua Residual	A1	Efluente piscina B, Cámara 1
	A2	Efluente piscina B, Cámara 1 (Duplicado)
	B1	Efluente piscina B, Cámara 2
	B2	Efluente piscina B, Cámara 2 (Duplicado)
Lodo	L1	Piscina A
	L2	Lodo/biofilm piscina B
	L3	Piscina B
	L4	Piscina A

El autor.

Foto 2. Localización de toma de muestra de agua residual.



Registro fotográfico de campo.

Foto 3. Punto de muestreo, L1.



Registro fotográfico de campo.

Foto 4. Punto de muestreo, L2.



Registro fotográfico de campo.

Foto 5. Punto de muestreo, L3.



Registro fotográfico de campo.

Foto 6. Punto de muestreo, L4.



Registro fotográfico de campo.

3.1.1.2 Aislamiento de microorganismos A partir de las muestras recolectadas, se desarrolló la fase de aislamiento de microorganismos. Inicialmente, se prepararon los medios de cultivo modificados con el agua objeto de estudio. Posteriormente se realizó la siembra en estos medios modificados.

♠ **Preparación de medios de cultivo** La preparación de medios modificados sólidos se realizó de acuerdo al procedimiento descrito a continuación:

Para medios modificados con agua residual:

- Se tomaron 100 ml de cada una de las muestras de agua, debidamente mezcladas, y se les adicionó a cada nueva muestra, 400 ml de agua destilada.
- Se incubó la preparación por una hora a 34.5 °C.
- Se filtró para obtener el sobrenadante.

Para medios modificados con lodo residual:

- Se pesaron 100 g de cada una de las muestras de lodo, y se diluyeron en un litro de agua destilada.
- Se incubó la preparación por una hora a 34.5 °C.
- Se filtró dos veces para obtener el sobrenadante.

Con el sobrenadante de cada una de las preparaciones anteriores, para agua residual y para lodos, se procedió a la elaboración de los medios de cultivo así:

- Se disolvió el agua preparada (60% del sobrenadante) con agua destilada (40%), para preparar 30 cajas de cada uno de los siguientes medios: agar nutritivo, agar rosa de bengala, agar cerebro corazón y agar extracto de levadura, el cual lleva antibiótico. Cada caja de cultivo consumió aproximadamente 25 ml de medio líquido.
- A la preparación anterior, se le adicionó el producto sólido de los respectivos medios, en proporción recomendada y se llevó a fuego medio, hasta conseguir el primer hervor.
- Se sellaron los recipientes con el medio líquido y se llevaron a esterilización en autoclave.
- Se enfrió la preparación y se sirvió en cada una de las cajas para cultivo.
- Dado el gran número de cajas a obtener, se prepararon secuencialmente 10 cajas de cada medio, con un volumen aproximado de 300 ml de medio líquido (agar sólido disuelto en el agua mezcla anteriormente señalada), hasta obtener el número de cajas necesario para continuar con la siembra en los medios respectivos.
- Luego de servidas las cajas, se dejaron reposar a temperatura ambiente, se sellaron y almacenaron en condiciones estériles.

Para la preparación de los medios anteriormente descritos, se agregó el producto correspondiente de la marca MERCK, en las proporciones señaladas en la tabla 8.

Tabla 8. Proporciones de agár utilizadas.

Tipo de agár	Proporción recomendada (g/l)	Medio sólido utilizado para un volumen de 300 ml (g)
Nutritivo	20	6
Cerebro corazón (BH)	52	15,6
Rosa de bengala	32.2	9,66
Extracto de levadura	35	10,5

El autor.

♣ **Siembra en los medios modificados** Una vez listos los medios modificados se efectuó el siguiente procedimiento para la siembra:

Para la siembra de muestras de agua residual:

- Se colocaron 200 ml de cada una de las muestras traídas en un recipiente estéril.
- Se incubó a 34.5 °C por 24 horas.

Para la siembra de muestras de lodo:

- Se diluyeron con varilla de vidrio 25 g de cada una de las muestras traídas en 100 ml de solución salina estéril, en recipiente estéril.
- Se incubó a 34.5 °C por 24 horas.

Después de la incubación de las muestras, se procedió de la siguiente forma:

- Se agregó cada una de las muestras incubadas en tubos de centrifuga a la marca, 2 tubos por cada muestra. Se procedió a la centrifugación a 3000 rpm por 10 minutos.
- Mediante vaciado rápido se eliminó el sobrenadante y se dejó el centrifugado (sedimento).
- Con pipeta Pasteur estéril se sacó una gota del sedimento y se colocó en el borde de la caja de cultivo.
- Se sembró la muestra con asa redonda por el método de agotamiento, 4 cajas por cada muestra y se incubó a temperatura ambiente.

La tabla 9 ilustra la totalidad de cajas obtenidas para la siembra en los medios modificados. Se utilizaron medios selectivos, de tal forma que los medios de agar nutritivo y cerebro corazón fueron concebidos para el crecimiento de bacterias, y los medios de agár rosa de bengala y extracto de levaduras, para hongos.

Tabla 9. Cajas de cultivo para siembra.

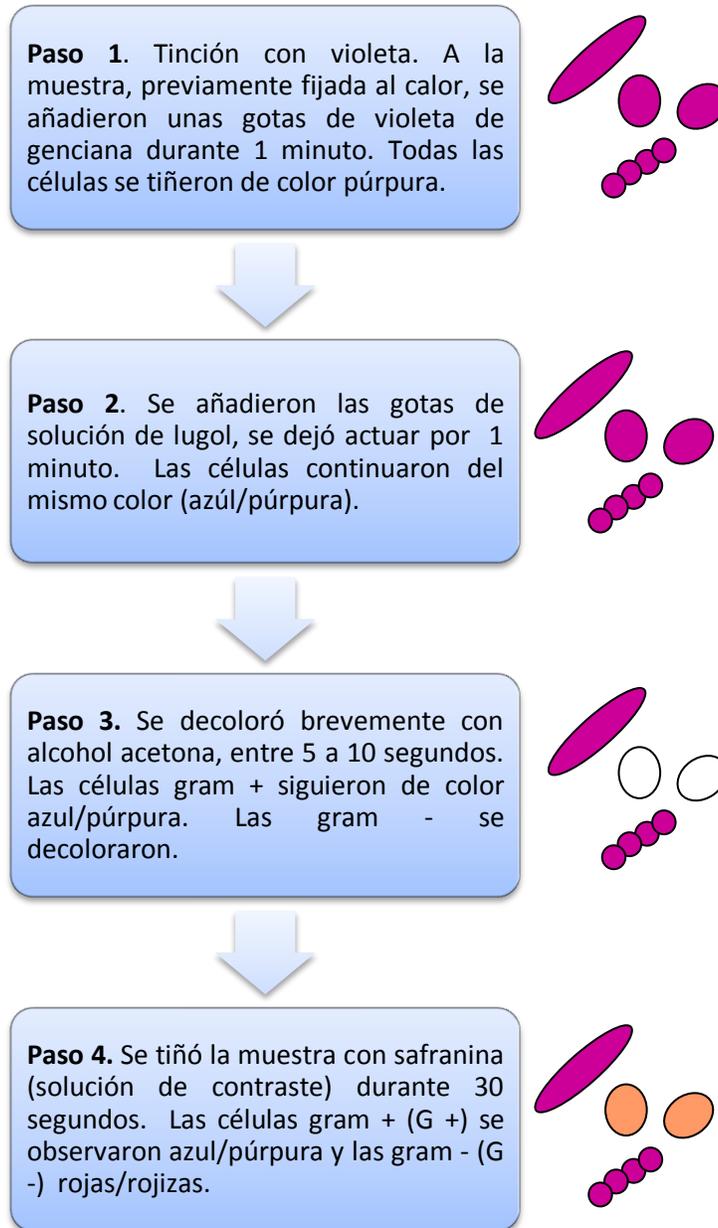
Tipo de muestra	Agar	Cajas de cultivo	Total de cajas de cultivo
Agua residual	Nutritivo	4	4 muestras * 4 medios * 4 repeticiones = 64 cajas 64 cajas para agua residual, denominadas con números arábigos del 1 al 64. 64 cajas para lodos, denominadas con números arábigos del 65 al 128.
A1 A2 B1 B2	Cerebro corazón	4	
Lodo residual	Extracto de levadura	4	
L1 L2 L3 L4	Rosa de bengala	4	

3.1.1.3 Caracterización microbiológica La caracterización microbiológica se realizó teniendo en cuenta los pasos que se describen a continuación.

♠ **Preparación de placas para observación al microscopio** Luego de transcurridos como mínimo un día para las cajas de cultivo de bacterias y una semana para las cajas de hongos, se procedió a la preparación de las placas para observación en el microscopio.

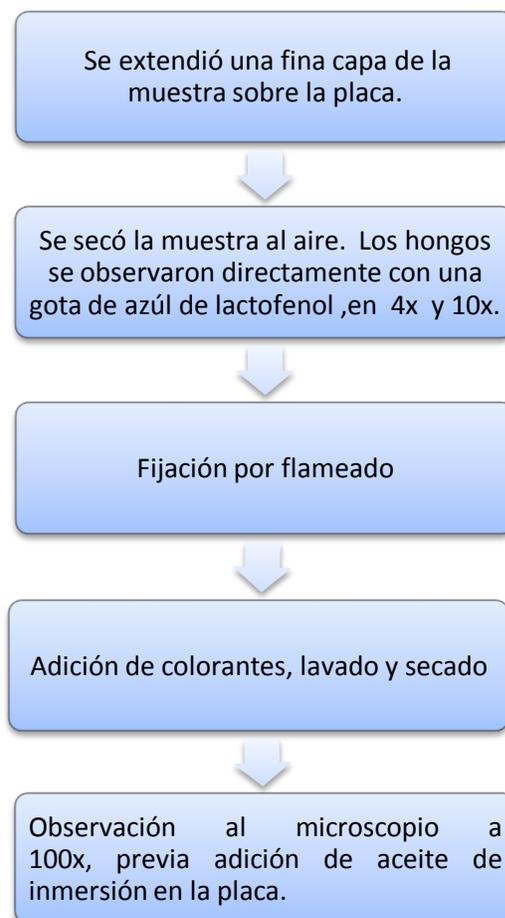
- Inicialmente se realizó una descripción macroscópica de las colonias de bacterias y las formaciones de hongos encontradas en cada caja de cultivo. A cada formación de interés se le asignó un número correspondiente a la caja de cultivo en la cual se encontraba y una letra que la identificaba específicamente dentro de la caja.
- Se prepararon placas con cada una de las muestras seleccionadas en las cajas. A partir de cada punto seleccionado en las cajas, se tomó una muestra representativa, para bacterias se utilizó el asa redonda, para hongos el asa recta.
- Las muestras de bacterias se ubicaban en la placa en una pequeña gota de solución salina estéril y se esparcía la muestra en el área de la placa correspondiente. Las muestras de hongos se tomaban del centro de la formación de hongo en la caja y se ubicaban sobre una gota de azul de lactofenol.
- Las placas de bacterias se llevaron posteriormente a secado, flameado y coloración de gram. Las muestras de hongos se dejaron en secado. La técnica de coloración o tinción de gram se describe en la figura 6.

Figura 6. Técnica de tinción de gram.



♣ **Observación de placas al microscopio** Una vez concluida la preparación de láminas, se procedió a su observación al microscopio. Para cada muestra se registraron los microorganismos encontrados, donde las bacterias se clasificaron de acuerdo a su morfología celular, señalando si se presentaba alguna característica de interés. Para los hongos también se describió la morfología aparente en la observación al microscopio, y se realizó en algunos casos una identificación inicial de género. La figura 7 muestra secuencialmente los pasos realizados para la observación de láminas al microscopio.

Figura 7. Observación de láminas al microscopio.



La identificación de género en los hongos, se realizó en colaboración del Centro de Investigaciones en Biotecnología, Bioética y Ambiente, de la Universidad Autónoma de Bucaramanga. De igual forma, en el anexo D se incluye una tabla con algunas características especiales de cada género, descritas en la literatura, que permitieron identificar los géneros de hongos encontrados.

3.1.2 Selección de microorganismos de interés La caracterización microbiológica fue el punto de partida para la selección de los microorganismos de interés. Los datos registrados al microscopio se compararon con la observación directa en las cajas, con el objetivo de confirmar los hallazgos y seleccionar los microorganismos a utilizar en la fase de adaptación.

Los criterios utilizados para la selección de bacterias fueron:

- Muestras con morfología celular de interés, tales como bacterias fusiformes*, bacilos pleomórficos**, entre otros.
- Bacterias con aparente formación de mucílago. La formación de mucílago puede considerarse una característica de importancia para el tratamiento, ya que se definió el ensayo en laboratorio en un lecho fijo de piedra, en el cual esta secreción mucosa puede contribuir a la adherencia de las bacterias al medio de soporte, y es indicativa del aumento de la población bacteriana.
- Bacterias gram positivas (G +).
- Presencia de endosporas.
- Colonias visiblemente aisladas en las cajas de cultivo.

Los hongos fueron seleccionados teniendo en cuenta los siguientes criterios:

* Bacterias fusiformes: bacilos alargados con las extremidades más estrechas que el centro.

** Pleomórficos: que varía el tamaño de las células y los núcleos.

- Crecimiento individual importante en la caja de cultivo.
- Identificación al microscopio y al ojo coincidente con el género estipulado, el cual según criterio del investigador y la bibliografía encontrada, participa generalmente en los procesos de degradación de aguas residuales.

Las bacterias y hongos seleccionados se marcaron en las cajas de cultivo y en el formato de registro de datos, para ser utilizados en la siguiente fase.

3.1.3 Adaptación y bioaumentación de microorganismos Los microorganismos seleccionados en la etapa anterior fueron sometidos a un proceso de adaptación secuencial en medios líquidos modificados, utilizando diferentes concentraciones de fenol, así obteniendo el pool microbiano adecuado para la degradación de este compuesto.

Las bacterias fueron agrupadas en tres consorcios diferentes, bacterias gram positivas, bacterias gram negativas y *Pseudomonas*. Los hongos se agruparon de acuerdo al género identificado en la etapa anterior, teniendo en cuenta su capacidad de degradación. La tabla 10 muestra los grupos de microorganismos estipulados para la adaptación. Para cada consorcio o género detallado en la tabla, se planteó el proceso completo de adaptación en medio modificado con fenol, con las concentraciones indicadas más adelante.

Tabla 10. Microorganismos seleccionados para la adaptación.

Consortios de bacterias	Géneros de Hongos
1. Pseudomonas	1. Cladosporium
2. Bacterias gram negativas	2. Penicillium
3. Bacterias gram positivas	3. Aspergillus
	4. Mucor
	5. Fusarium
	6. Phoma
	7. Levaduras

3.1.3.1 Preparación de medios modificados para el proceso de adaptación

El medio líquido modificado para la adaptación de bacterias y hongos se preparó con caldo cerebro corazón (BH) y caldo wort, respectivamente, con una proporción 50% agua residual, 50% agua destilada. La preparación se realizó de la siguiente forma:

- Se añadió el caldo BH (bacterias) o wort (hongos) correspondiente al volumen deseado en cada recipiente, como se observa en la tabla 11.

Tabla 11. Proporciones de caldo para los medios en la etapa de adaptación.

Tipo de caldo	Proporción recomendada (g/l)	Volumen a preparar por unidad (ml)	Medio sólido utilizado (g)
Cerebro corazón (BH)	37	50	1.85
Wort	33	300	9.9

- Para bacterias, se vertió la mezcla (50 ml) en recipientes de vidrio de 60 ml. Para los hongos se vertió la preparación (300 ml) en recipientes de 500 ml.
- Se llevaron a esterilización en autoclave.
- Se enfriaron para posterior adición del fenol.
- Una vez estériles, se agregó el fenol a los medios líquidos para obtener concentraciones desde 0.5 mg/l hasta 10 mg/l de fenol, como se observa en la tabla 12.

Estas concentraciones se mantuvieron para la adaptación de bacterias. Los hongos, por el contrario, dada su notoria dificultad para el crecimiento en medio líquido solo se sembraron en concentraciones de 0.5 y 1 mg/l.

Las diluciones se prepararon partiendo del reactivo líquido de fenol (ácido fénico) al 90% (90 g/100 ml). Primero se realizó una dilución inicial para obtener la solución madre con una concentración de 100 mg/l. De esta solución se extrajo el volumen requerido para cada concentración deseada, como se muestra en la tabla 12, de acuerdo a la fórmula 2:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Rightarrow V_1 = \frac{C_2 \text{ mg/l} * V_2 \text{ ml}}{100 \text{ mg/l}} \quad \text{donde:}$$

C_1 = Concentración inicial

V_1 = Volumen a extraer de la solución 1 o inicial

C_2 = Concentración final

V_2 = Volumen a obtener de la solución 2 o final

Tabla 12. Preparación de medios modificados con fenol.

Preparación para bacterias		
[] de Fenol (mg/l)	V extraído de solución (ml)	V final (ml)
0,5	0,25	50
1	0,5	
2	1	
4	2	
6	3	
8	4	
10	5	
Preparación para hongos		
[] de Fenol (mg/l)	V extraído de solución (ml)	V final (ml)
0,5	0,75	300
1	1,5	

El procedimiento general para la preparación de medios modificados con fenol se resume en la figura 8.

Figura 8. Preparación de medios modificados.



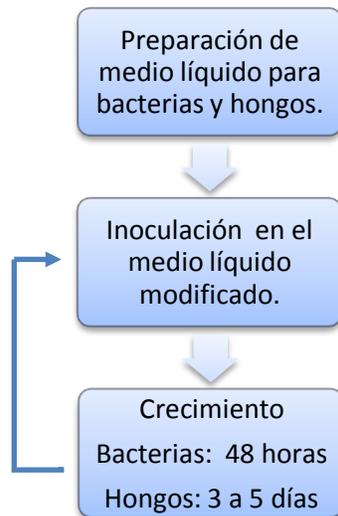
3.1.3.2 Inoculación en medios modificados La inoculación en medios modificados se realizó progresivamente, desde 0,5 mg/l. El proceso de inoculación se detalla a continuación:

- Inicialmente se inoculó el recipiente con 0,5 mg/l de fenol, extrayendo las muestras seleccionadas en las cajas de cultivo y depositándolas en el recipiente correspondiente a cada grupo o género. En el caso de las bacterias, todas las muestras seleccionadas que correspondieran al grupo de las gram positivas se adicionaron juntas, de igual forma se procedió con las gram negativas y las *Pseudomonas*. Los hongos que correspondieran al mismo género en diferentes cajas de cultivo también se ubicaron juntos.
- Posteriormente se adicionaron 3 y 10 ml de aceite mineral estéril en la superficie de los recipientes, para bacterias y hongos respectivamente, garantizando la ausencia de oxígeno.

- La adaptación de las bacterias se realizó cada cuarenta y ocho horas, extrayendo 1 ml de muestra del recipiente con concentración menor, agregándola al medio con la concentración de fenol siguiente. Este procedimiento se llevó a cabo hasta inocular el recipiente de 10 mg/l.
- Para la adaptación de hongos en medio líquido se procedió de la misma forma, una vez detectado el crecimiento. El crecimiento de los hongos no fue satisfactorio en medio líquido, motivo por el cual se ensayó el mismo procedimiento en medio sólido, sin adición de aceite mineral.

El procedimiento general se resume en la figura 9. En la figura, la flecha indica la siguiente inoculación en los medios con concentraciones cada vez más elevadas. Este método de inoculación o siembra secuencial garantizó la obtención de las colonias de bacterias más resistentes al fenol.

Figura 9. Procedimiento desarrollado para la adaptación.



3.1.3.3 Bioaugmentación La fase de bioaugmentación se desarrolló para obtener el caldo microbiano suficiente para adelantar la etapa de optimización del tratamiento. Para llevar a cabo esta fase se plantearon las siguientes alternativas:

- Biomagnificar cada grupo de bacterias individualmente. (Bacterias G +, Bacterias G -, *Pseudomonas*), lo cual implicaría el ensayo del tratamiento con cada grupo por separado.
- Biomagnificar un pool adaptado, formado por los tres grupos bacterianos.

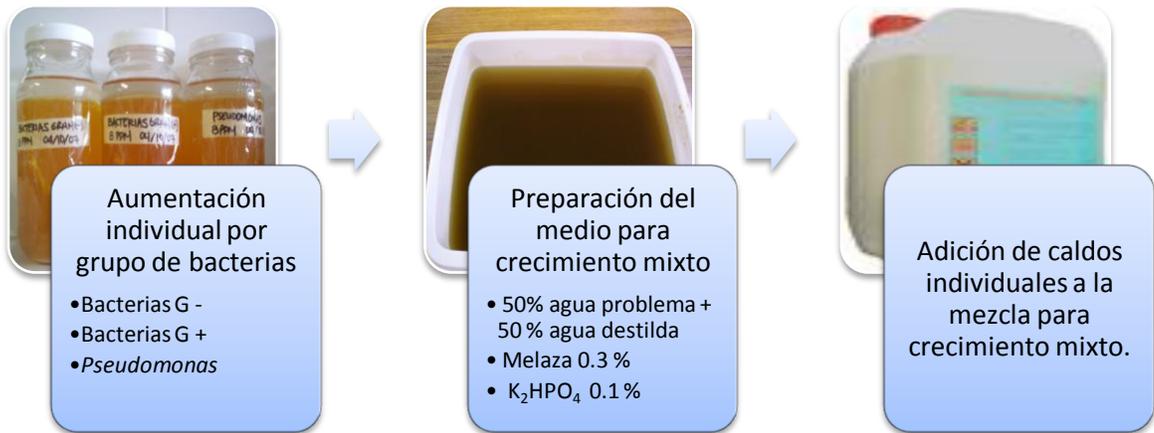
Teniendo en cuenta la aplicación de un pool bacteriano en los ensayos de laboratorio y el tratamiento piloto, se decidió biomagnificar el pool bacteriano mixto conformado por la integración de las bacterias adaptadas al fenol de los tres grupos. Previo al proceso de bioaugmentación del pool se realizó el crecimiento individual de las bacterias adaptadas. El procedimiento desarrollado se describe a continuación:

- Bioaugmentación individual: cada caldo de bacterias contenido en el recipiente de 10 mg/l de fenol se trasladó a un recipiente con 300 ml de medio líquido BH modificado a una concentración de 8 mg/l de fenol, para favorecer el crecimiento de las bacterias. Se dejaron en crecimiento por 1 semana.
- Preparación del medio para crecimiento mixto: se prepararon aproximadamente 25 litros de medio líquido formado por un 50% agua problema y un 50% agua destilada en volumen, con un 0.3 y 0.1 % de contenido de melaza y de fosfato dipotásico (K_2HPO_4) respectivamente.
- Una vez listo el medio para el crecimiento mixto, se adicionaron a este los caldos individuales. La preparación se almacenó en una garrafa de 30 litros, sellada adecuadamente.

El uso de la melaza garantizó el aporte de nutrientes necesarios para el crecimiento y el fosfato un suplemento de fósforo. Se reemplazó el caldo cerebro corazón (BH) por melaza, ya que a escala real tendrían que manejarse grandes volúmenes de caldo bacteriano, que implicarían un costo elevado si se preparan con caldo BH.

En esta fase se contempló únicamente la aumentación de las bacterias que lograron el proceso de adaptación, excluyendo a los hongos, debido a que estos mostraron un crecimiento lento, tanto en medio líquido como en medio sólido, y no se llevó a cabo con estos la adaptación a concentraciones altas de fenol. El procedimiento general para la bioaumentación se resume en la figura 10.

Figura 10. Procedimiento para la bioaumentación



3.2 OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PARA LA REMOCIÓN DE FENOLES A TRAVÉS DE LA BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA.

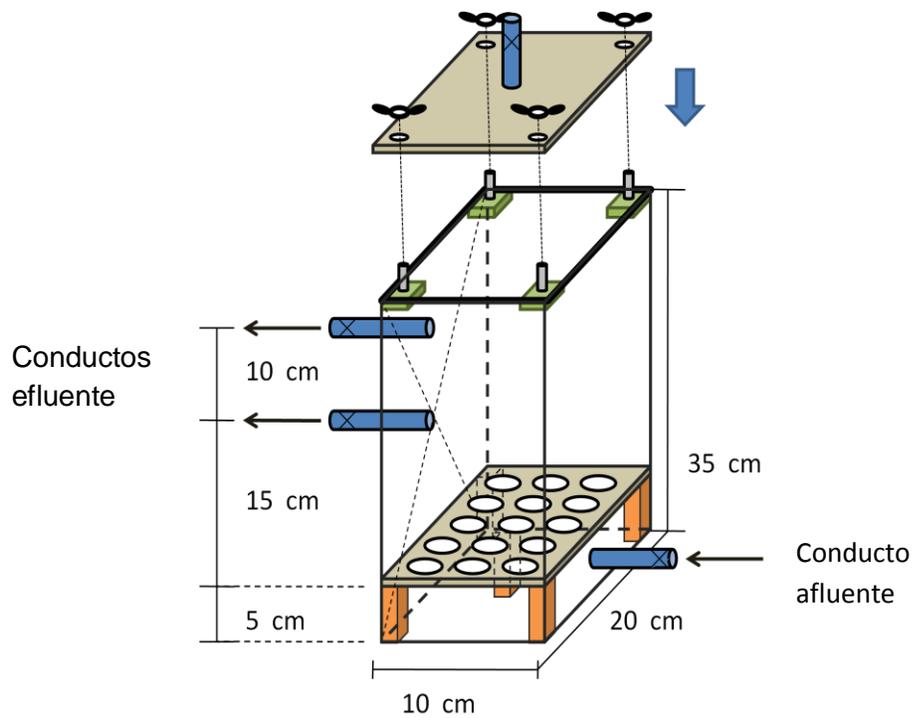
La etapa anterior garantizó la existencia de un grupo diverso de microorganismos con alta tolerancia al fenol, los cuales en sus procesos biológicos utilizan este compuesto como una fuente de carbono y energía. La optimización del sistema se planteó a través de un diseño experimental factorial 2^2 . Los experimentos del diseño factorial se aplicaron en reactores construidos a escala, simulando las condiciones de tratamiento en un reactor de lecho fijo, ya que PetroSantander (Colombia) Inc., manifestó el deseo de implementar un sistema de estos filtros anaerobios para la biodegradación del fenol, en la batería Payoa.

3.2.1 Diseño del reactor a escala laboratorio El reactor a escala laboratorio se diseñó bajo el modelo tradicional de filtro anaerobio de flujo ascendente, de base rectangular, con placa perforada para la distribución del afluente. El modelo elaborado se detalla en la figura 11 y sus dimensiones están consignadas en la tabla 13. La serie de reactores, cada uno para un experimento específico, se construyeron en vidrio, con tapa y placa perforada en acrílico, dispositivos de unión afluente y efluente de vidrio y mangueras plásticas estándar tipo acuario para suministro y recolección del agua residual. Estos reactores se operaran tipo batch.

Tabla 13. Dimensiones del reactor a escala laboratorio.

Dimensión	Valor
Ancho de la base (cm)	10
Profundidad (cm)	20
Altura (cm)	35
Volumen disponible para tratamiento (l)	5
Placa perforada	
Diámetro del orificio (cm)	2
Espacio entre orificios (cm)	1

Figura 11. Modelo del reactor a escala laboratorio.



3.2.2 Acondicionamiento de las unidades Los reactores se sometieron a un proceso de lavado y acondicionamiento para evitar posibles fugas o imprevistos durante la experimentación. Posteriormente se agregó el medio de soporte, compuesto por triturado de cantera procedente de Sábana de Torres, de diámetro variable, entre 1 y 7 cm, en lechos estratificados. El triturado heterogéneo, previamente lavado, se distribuyó en 3 grupos o estratos, como se observa en la foto 7, y se detalla en la tabla 14. Adicionalmente, se agregó en algunos reactores, una capa uniforme de carbón activado granular envuelta en una malla plástica.

Foto 7. Triturado utilizado como medio de soporte en los reactores.*



Registro fotográfico.

* En la figura, al fondo se detalla el triturado de mayor tamaño y al frente, el de menor tamaño.

Tabla 14. Características del lecho de soporte.

Característica		Valor
Altura total del lecho de piedra (cm)		20
Porosidad aprox. del lecho (%)*		45
Pérdida de carga en el lecho (cm)		< 1
Carbón activado granular (kg)		0.25
Altura de los estratos (cm)		
Estrato 1	Θ_1 (5 – 7 cm)	10
Estrato 2	Θ_2 (3 – 5 cm)	5
Estrato 3	Θ_3 (1 – 3 cm)	5

3.2.3 Ensayos hidráulicos El control del suministro de agua para el tratamiento en los reactores se estableció mediante el uso de tanques o botellas de Mariotte, dispositivos sellados herméticamente en contacto con la presión atmosférica a través de un tubo hueco que atraviesa la botella, las cuales permiten la regulación de la velocidad de vaciado. El montaje realizado se observa en la figura 12.

La botella de Mariotte regula la salida del agua mediante la ubicación del tubo hueco que tiene en su interior, así la cabeza de presión se fija a determinada altura y permite controlar el nivel de agua deseado en los reactores. De esta forma, el llenado de los reactores se realizó a través de mangueras conectadas desde la botella de Mariotte. El agua ascendió a través del lecho y hasta el nivel del estrato superior de piedra. En los reactores con carbón activado (GAC), este nivel coincidía con la línea inferior del lecho de GAC. Para la toma de muestras se utilizaron las dos válvulas de salida, dependiendo del nivel de agua. En los reactores con lecho de piedra sin GAC, se tomó la muestra a través del conducto de salida más bajo, y en los reactores con GAC en el conducto superior. En la tabla 15 se registran las especificaciones del montaje realizado. El reactor modelo

* La porosidad se determinó en laboratorio de acuerdo a la metodología estándar.

tenía un volumen disponible para el tratamiento de 5 litros, el lecho de soporte tenía una porosidad promedio del 45%, por lo tanto el volumen útil en el reactor fue de aproximadamente 2,3 litros de agua problema.

Figura 12. Montaje para los ensayos de laboratorio.

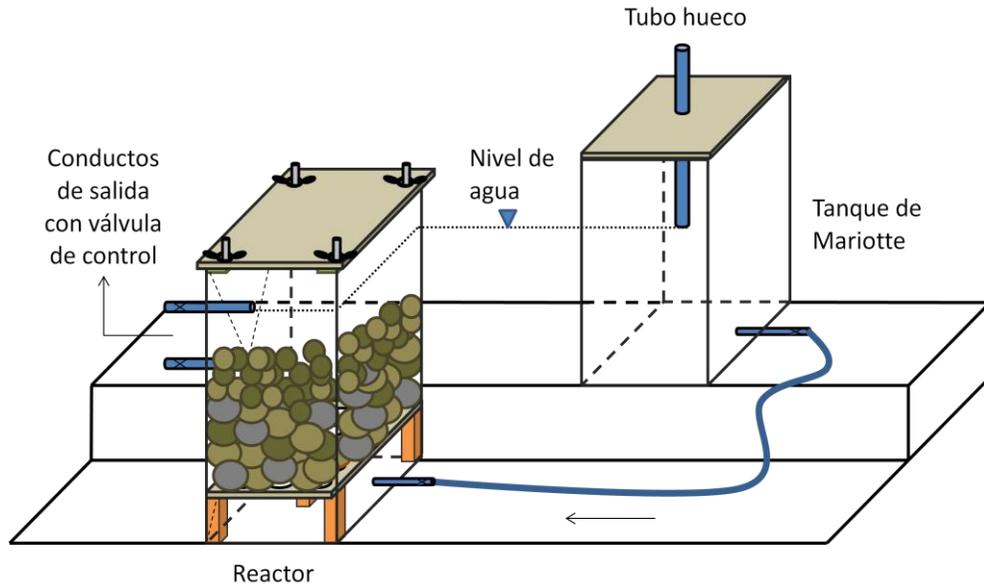


Tabla 15. Especificaciones hidráulicas del montaje de laboratorio.

Característica	Valor
Cabeza de presión o diferencia de nivel (cm)	30
Volumen de la botella de Mariotte (l)	5
Volumen útil (l)	2,3

3.2.4 Planteamiento del diseño factorial experimental para el proceso de optimización

La etapa de optimización del sistema de tratamiento involucró el estudio de las variables que podrían afectar la remoción del contaminante, convirtiéndose en un factor de éxito o fracaso en la biodegradación de los fenoles. Por lo tanto, se realizó un diseño experimental factorial 2^2 , el cual contempla dos variables: tiempo de retención en dos niveles, máximo (+) y mínimo (-), y presencia o ausencia de un lecho de carbón activado. La variable de respuesta fue la concentración de los fenoles. La tabla 16 muestra la matriz de experimentos planteada. Esta matriz se desarrolló para 3 concentraciones iniciales diferentes, baja, media y alta, correspondientes a 2, 6 y 10 mg/l, respectivamente.

Tabla 16. Matriz base de experimentos.

Reactor	2 mg/l		6 mg/l		10 mg/l	
	Tiempo de retención (Tr)	Carbón activado (GAC)	Tiempo de retención (Tr)	Carbón activado (GAC)	Tiempo de retención (Tr)	Carbón activado (GAC)
1	-	-	-	-	-	-
2	+	-	+	-	+	-
3	-	+	-	+	-	+
4	+	+	+	+	+	+

Tiempo de retención (-) = 18 horas
Tiempo de retención (+) = 24 horas
Carbón activado (-) = ausencia
Carbón activado (+) = presencia

La matriz base consta de cuatro ensayos por cada concentración. Además, para garantizar la confiabilidad de los experimentos, se desarrolló esta matriz por triplicado. Los 12 experimentos por cada concentración, se condujeron al mismo tiempo, en unidades diferentes, garantizando las mismas condiciones para todos los reactores.

La variable cuantitativa, tiempo de retención, fue seleccionada para la optimización puesto que es de importancia en el desarrollo de los procesos biológicos. Según la literatura, el tiempo de retención adecuado en reactores de lecho fijo, oscila entre las 18 y 24 horas, motivo por el cual se asignaron estos valores en el diseño. La variable cualitativa, carbón activado, fue incluida en el diseño para determinar el efecto del lecho de carbón activado granular (GAC) en el reactor, y su contribución a la eliminación del fenol. La hipótesis inicial planteada, atribuía al GAC un efecto positivo, mejorando la remoción del fenol cuando la concentración afluente es alta y variable en el tiempo, siendo las bacterias quienes realizarían el proceso de recuperación posteriormente. De esta forma, el GAC puede contribuir al aumento de la eficiencia de remoción, disminuyendo la concentración de fenol a límites permisibles, exigidos por la norma.

Teniendo en cuenta los parámetros adicionales que pueden afectar el fenol presente en el agua contaminada, se establecieron los siguientes controles:

- ♠ Ausencia de tiempo de retención (filtrado rápido).
- ♠ Efecto de la luz con ausencia de la biopelícula.
- ♠ Efecto de la luz en presencia de la biopelícula.

La matriz desarrollada para los controles se ilustra en la tabla 17.

Tabla 17. Matriz desarrollada para los controles del diseño experimental.

Ausencia de tiempo de retención								
2 mg/l			6mg/l			10 mg/l		
Tr	GAC	X 2	Tr	GAC	X 2	Tr	GAC	X 2
0	-		0	-		0	-	
0	+		0	+		0	+	
Efecto de la luz con ausencia de la biopelícula								
			Tr	GAC	Luz			
			-	+	+			
			-	-	-			
			-	-	+			
			-	+	-			
			+	+	+			
			+	-	-			
			+	-	+			
			+	+	-			
Efecto de la luz en presencia de la biopelícula								
			Tr	GAC	Luz			
			-	+	+			
			-	-	-			
			-	-	+			
			-	+	-			
			+	+	+			
			+	-	-			
			+	-	+			
			+	+	-			

El efecto de la luz en los ensayos control, se evaluó únicamente para la concentración de 6 mg/l de fenol, siendo éste, el valor intermedio de las concentraciones ensayadas. Los reactores evaluados en ausencia de luz, se cubrieron con papel aluminio para evitar el paso de ésta.

En resumen, se realizaron 64 ensayos totales, de los cuales 36 corresponden a los experimentos base y 28 a los experimentos de control. El agua problema fue preparada el mismo día de ensayo para todos los reactores, y su concentración fue verificada aplicando la curva de patrones de fenol.

3.2.5 Desarrollo del experimento factorial 2² El procedimiento realizado para el arranque de las pruebas fue el siguiente:

- Se cargaron las botellas de Mariotte con 4,8 litros de agua problema, preparada a partir de agua de grifo libre de cloro y la solución de fenol seleccionada. Para preparar cada concentración se partió de la solución madre de 1000 mg/l de fenol, elaborada con los cristales de fenol*. La preparación del agua problema se realizó mediante diluciones consecutivas. Se utilizó agua preparada, conocida como “agua de laboratorio”, para evitar interferencias en la técnica utilizada para la determinación de fenoles, causadas posiblemente por las altas concentraciones de grasas y aceites, y cloruros que se pueden encontrar en el agua residual de la batería Payoa.
- Una vez cargados los reactores, se tomaron las muestras para verificar la concentración inicial de fenol en el agua problema, y se dio inicio a las pruebas. En la foto 8 se observan los reactores listos para el arranque.

* Los cristales de fenol utilizados fueron de la marca Carlo Erba, con un 99.9% de pureza.

Foto 8. Reactores dispuestos para el arranque.



Registro fotográfico.

- A las 18 y 24 horas se tomaron las muestras en los reactores correspondientes, mediante la apertura de las válvulas en los conductos de salida.
- Finalmente, se analizaron las muestras para determinar la concentración de fenoles.

Los ensayos se realizaron únicamente con agua de laboratorio. Posteriormente, se ensayarán los reactores con agua procedente de la batería Payoa, como fase complementaria al convenio establecido con PetroSantander (Colombia) Inc. Esto se realizará previo a la implementación del tratamiento a escala piloto.

3.2.6 Determinación de fenoles La determinación de fenoles se realizó por medio de fotometría, con el equipo Spectroquant Nova 60, fabricado y estandarizado por la marca Merck. Fue necesaria la utilización del kit fotométrico correspondiente, conocido como Test de Fenol para Spectroquant, método 856, marca Merck. El procedimiento realizado es análogo a EPA 420.1, US Standard Methods 5530 e ISO 6439.

3.2.6.1 Método y campo de aplicación En una solución amortiguadora, el fenol y sus compuestos orto y meta – substituidos reaccionan en presencia de un oxidante con 4 – aminoantipirina dando un compuesto rojo que se determina fotométricamente. El test puede aplicarse para determinar el fenol y los compuestos mencionados anteriormente en muestras de agua superficial y residual.

3.2.6.2 Influencias de sustancias extrañas La determinación de fenol, según la técnica utilizada no es interferida por las concentraciones de sustancias extrañas que se registran en la tabla 18.

Tabla 18. Influencia de sustancias extrañas.

Concentración de sustancias extrañas en mg/l o en %					
Al ³⁺	100	Pb ²⁺	100	Cloro libre	0,2
Cu ²⁺	25	S ₂ O ₃ ²⁻	5	NaCl	20%
Fe ²⁺	100			NaNO ₃	20%
NO ₂ ⁻	100			Na ₂ SO ₄	20%

Test de fenol, método 856, para Spectroquant.

3.2.6.3 Técnica y reactivos utilizados Para la preparación de las muestras se utilizaron los reactivos y procedimiento descritos en la tabla 19.

Tabla 19. Procedimiento para la preparación de muestras.

Reactivo	Cantidad	Procedimiento
Muestra preparada (15 – 40 °C)	10 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Reactivo Ph – 1	1,0 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Reactivo Ph – 2	1 micro cuchara gris rasa (en la tapa del frasco Ph – 2)	Añadir y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
Reactivo Ph – 3	1 micro cuchara gris rasa (en la tapa del frasco Ph – 3)	Añadir y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
Dejar en reposo 10 minutos (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el fotómetro. Determinaciones posibles \cong 250.		

Test de fenol, método 856, para Spectroquant.

3.2.6.4 Curvas de calibración para la determinación de fenol Con el objetivo de asegurar la confiabilidad de las lecturas, se optó por construir las curvas de calibración (concentración vs. absorbancia) para el compuesto a concentración baja y alta. Para la curva baja se utilizaron los patrones: blanco, 0,05 mg/l, 0,1 mg/l, 0,2 mg/l, 0,5 mg/l y 1 mg/l, preparados a partir de la solución madre de fenol de 1000 mg/l a través de diluciones secuenciales a 100, 10 y 1 mg/l, utilizando esta última para preparar los patrones.

Para la curva alta se utilizaron los patrones: blanco, 1 mg/l, 2 mg/l, 4 mg/l, 6 mg/l, 8 mg/l, 10 mg/l y 12 mg/l. Estos patrones se prepararon de forma análoga a la curva baja, a partir de la solución de 100 mg/l. Las curvas de calibración se ensayaron a 450, 500 y 525 nm, longitudes de onda dentro del rango recomendado para la lectura de compuestos rojos, con el fin de determinar la longitud de onda óptima para las lecturas. Los patrones se prepararon utilizando la técnica y reactivos mencionados en el numeral 2.2.6.3. En la foto 9 se observan los patrones para la curva alta, preparados para la lectura en el Spectroquant.

Foto 9. Patrones, curva alta.



Registro fotográfico.

Una vez preparadas las muestras a determinar, producto de los ensayos en los reactores, se llevaron al Spectroquant en cubetas de 20 mm para obtener la lectura de absorbancia a 525 nm. La concentración de fenol se determinó de forma indirecta utilizando las curvas de calibración.

3.2.7 Pretratamiento Previo al desarrollo experimental, algunos de los reactores se sometieron a un esquema de pretratamiento compuesto por los siguientes procesos:

- Adición de un agente adherente, que favorece la adhesión de las bacterias en el caldo microbiano al lecho de soporte: el producto seleccionado fue la goma arábica*, utilizada comercialmente en la industria alimenticia y de pegamentos, debido a sus propiedades adhesivas. Se diluyó 1 Kg de goma arábica en 40 litros de agua tibia y se aplicó a los reactores con un tiempo de residencia de 2 días.

- Adición del caldo microbiano a los reactores: a cada reactor se adicionaron aproximadamente 2,5 litros de caldo y 2,5 litros de medio líquido, igual al utilizado para la bioaumentación. Se adicionó nuevamente medio líquido para favorecer el crecimiento de los microorganismos en los reactores. El caldo se mantuvo en cada reactor por 6 días y se realizó monitoreo de turbiedad diariamente.

Adicionalmente al monitoreo de turbiedad, se tomaron registros de masa húmeda de una piedra seleccionada en cada filtro, de tal forma que fuera posible tener una diferencia de masa, indicativa de la formación del biofilm en el lecho de soporte. En la foto 10 se observan los reactores en la fase de pretratamiento con la goma arábica.

* Polisacárido de origen natural extraído de la resina de árboles sub-saharianos (acacias) como parte del proceso de cicatrización de estos, conocido como gummosis. Esta resina es de color ámbar y altamente soluble en agua.

Foto 10. Reactores en pretratamiento.



Registro fotográfico.

3.2.8 Análisis del diseño factorial 2^2 La interpretación de resultados del experimento factorial, se realizó partiendo del cálculo de las medias de los datos obtenidos por triplicado, y las respuestas a cada factor, de acuerdo a la tabla 20.

Tabla 20. Modelo para el cálculo de la eficiencia media de tratamiento.

Tr (h)	Carbón Activado		Media	Respuesta a C+
	C -	C +		
18	Y_1	Y_3	$(Y_1 + Y_3)/2$	$Y_3 - Y_1$
24	Y_2	Y_4	$(Y_2 + Y_4)/2$	$Y_4 - Y_2$
Media	X_1	X_2	$(X_2 + X_2)/2$	
Respuesta a Tr 24 h - 18 h	$Y_2 - Y_1$	$Y_4 - Y_3$		

El autor/Diseños Experimentales. Centro de Estadística y Cálculo del Colegio de Posgraduados de la Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México.

Para dar mayor claridad, se analizaron separadamente, para dar mayor claridad, las cuatros respuestas posibles del experimento, para obtener cuatro efectos factoriales, utilizando las fórmulas incluidas en la tabla 20. Esto constituyó una herramienta de verificación e interpretación paralela al cálculo de los efectos descritos en la tabla 21, donde no se incluyó el efecto de interacción, que se explica a continuación.

Tabla 21. Efecto factoriales posibles en el diseño experimental 2^2 .

Efecto factorial	Notación	Combinación del tratamiento				Divisor	Fórmula
		Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄		
Valor promedio	M	+	+	+	+	4	$(Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4) / 4$
Efecto principal del tiempo de reacción	Btr	-	+	-	+	2	$(-Y_1 + Y_2 - Y_3 + Y_4) / 2$
Efecto principal del carbón activado	Bca	-	-	+	+	2	$(-Y_1 - Y_2 + Y_3 + Y_4) / 2$
Efecto de interacción entre el tiempo de retención y el carbón activado	B trxca	+	-	-	+	2	$(Y_1 - Y_2 - Y_3 + Y_4) / 2$

De acuerdo a la tabla, los efectos factoriales analizados tienen el significado que se describe a continuación:

- ♠ **El valor promedio** indica alrededor de qué valor están distribuidas las respuestas. Cuando ningún factor tiene efecto, esta distribución corresponde a la incertidumbre experimental. M es también el valor predicho en el centro del dominio experimental, si el fenómeno se comporta linealmente.
- ♠ **El efecto principal** de cada factor indica la variación promedio de la respuesta cuando cambia ese factor. Se calculó como la respuesta media cuando el factor está en el nivel + menos la respuesta media cuando el factor está en el nivel - .

♣ **Efecto de interacción.** Existe interacción cuando el efecto de un factor depende de qué valor tome el otro factor.

Adicionalmente se construyeron gráficos de dominio experimental y gráficos de interacción. En estos últimos, las líneas paralelas indican ausencia de interacción y las líneas que se intersecan indican interacción entre los factores analizados.

3.3 DISEÑO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA BATERÍA PAYOA, PETROSANTANDER (COLOMBIA) Inc.

Los resultados de la optimización fueron el punto de partida para el diseño del sistema de tratamiento. Se realizó el diseño en base a las recomendaciones establecidas en el Reglamento Técnico del sector de agua potable y saneamiento básico (RAS 2000), y la Norma para diseño de sistemas de tratamiento en el sitio de origen, de la Corporación Autónoma Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB), referentes al diseño de filtros anaerobios.

Se proyectó diseñar las unidades piloto para tratar un caudal equivalente al 10%. Esto, con el fin de evaluar el funcionamiento del sistema previo a la construcción y disposición de áreas para el mismo, justificando a escala real las inversiones que deberá realizar la empresa para tratar todo el caudal generado en Campo Payoa. Los criterios generales de diseño utilizados, se incluyen en la tabla 22.

Tabla 22. Criterios de diseño del reactor de lecho fijo.

Criterio	Valor
Ancho máximo (m)	5,4
Altura máxima del lecho (m)	1,8
Volumen mínimo (m ³)	1,25
Tamaño de la piedra triturada/ diámetro (cm)	4 – 7
Porosidad del lecho (%)	45
Relación entre ancho (a) y largo (L)	$b \leq L \leq 3b$

RAS 2000, Título E. Norma para diseño de sistemas de tratamiento en el sitio de origen, Corporación Autónoma Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB).

4. DATOS Y ANÁLISIS

4.1 EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DEL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL DE LA BATERÍA PAYOA A TRAVÉS DEL ESTUDIO DE LA FLORA MICROBIANA NATIVA.

4.1.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual de la batería Payoa Los resultados de esta caracterización se presentan de acuerdo a los datos obtenidos en el muestreo de campo, el análisis fisicoquímico realizado en laboratorio a las muestras de agua recolectadas y el análisis microbiológico aplicado a las muestras de lodo y agua residual.

4.1.1.1 Muestreo fisicoquímico y microbiológico La tabla 23 muestra el registro de datos de campo que se obtuvieron en el muestreo inicial realizado en Campo Payoa. Como se observa en la tabla, se efectuaron mediciones directas de pH, temperatura y oxígeno disuelto, para cada una de las muestras de agua residual recolectadas en los diferentes puntos de muestreo. Las muestras 1 a 8 corresponden al monitoreo horario para la composición, y las 9 a 12 son las muestras puntuales recolectadas para el análisis microbiológico. Adicionalmente se registró la presencia o ausencia de material flotante, olor, y burbujas en las muestras. En la última columna se consigna el caudal promedio horario, medido previo a la toma de muestras puntuales.

Tabla 23. Registro de datos de campo, muestreo inicial.

UBICACIÓN: PetroSantander (Colombia) Inc., Campo Payoa.												
NOMBRE DEL RESPONSABLE:					IDENTIFICACIÓN DE LA DESCARGA:							
Luz Adriana Puentes Jácome					Efluente Piscina de Tratamiento B							
FECHA DE INICIO DEL MUESTREO:					FECHA DE TERMINACIÓN DEL MUESTREO:							
Mayo 10 de 2007					Mayo 10 de 2007							
Nº	Identificación de la muestra	Hora	Temperatura (°C)		pH	O.D (mg/l)	Material flotante	Olor		Burbujas		Caudal (l/s)
			Agua	Ambiente				SI	NO	SI	NO	
1	Efluente P-B	9:20	27,9	29	7,19	1,6	No	X			X	3,42
2	Efluente P-B	10:20	32,1	29	7,16	1,4	Si	X			X	1,98
3	Efluente P-B	11:20	32,8	32	7,21	2,8	Si	X			X	4,79
4	Efluente P-B	12:20	32,9	33	7,19	1,6	Si	X			X	3,11
5	Efluente P-B	13:20	33,6	34	7,17	1,7	Si	X			X	1,93
6	Efluente P-B	14:20	34	34	7,16	1,8	Si	X			X	4,58
7	Efluente P-B	15:20	34,4	36	7,16	1,8	Si	X			X	4,96
8	Efluente P-B	16:20	34	35,5	7,16	1,5	Si	X			X	6,08
9	A1	2:00	36	38	8	0,3	Si	X			X	-
10	A2	2:10	36	38	8	0,3	Si	X			X	-
11	A3	2:15	36	38	7	0,3	Si	X			X	-
12	A4	2:20	36	38	7	0,3	Si	X			X	-
PARÁMETROS A DETERMINAR (muestra compuesta): DBO: Demanda biológica de oxígeno, DQO: Demanda química de oxígeno, Oxígeno disuelto, Grasas y aceites, Sólidos, Fenoles Totales, Bario, TPH's: Hidrocarburos totales del petróleo.												
OBSERVACIONES: La muestra 7, presentó intenso olor a hidrocarburos.												

♣ **Muestreo fisicoquímico** Los datos obtenidos anteriormente, resultaron ser característicos del agua residual en estudio. La variable temperatura presentó un aumento progresivo con el avance del día, lo cual se ajusta al comportamiento esperado. El pH se mantuvo cercano a 7 (neutro), con excepción en las muestras 9 y 10, de la cámara 1 de la piscina B, con un valor de 8. El oxígeno disuelto (O.D.) presentó valores similares, entre 1,4 y 2,8 mg/l, sin embargo, estos son ligeramente superiores a los esperados, lo cual puede explicarse por la aireación que sufre el agua a la salida de la conducción. Este incremento en el oxígeno de las muestras efluente se confirma como producto de la aireación, observando los valores encontrados en las cámaras de la piscina B, muestras 9 a 12, en donde los valores de O.D, son efectivamente muy bajos (0.3 mg/l).

El caudal promedio obtenido, 3,86 l/s, es característico del efluente, el cual según registros periódicos, mantiene un caudal promedio diario entre 3 y 4 l/s. Las lecturas de caudal presentan un aumento progresivo a partir del medio día. La tabla 24 muestra el cálculo realizado para la elaboración de la muestra compuesta, en base a un volumen total de 2 litros, requerido por el laboratorio.

Tabla 24. Volúmenes para composición de muestra única.

Muestra	Hora	Caudal (l/s)	Volumen (ml)
1	9:20	3,42	220
2	10:20	1,98	130
3	11:20	4,79	310
4	12:20	3,11	200
5	13:20	1,93	125
6	14:20	4,58	300
7	15:20	4,96	325
8	16:20	6,08	390
Q prom		3,86	2000

En la tabla 25 se muestran los resultados de las pruebas de laboratorio realizadas a la muestra compuesta, por el Laboratorio de aguas residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana, el cual se encuentra acreditado bajo la norma ISO 17025 Resolución 0184 del 3 de agosto del 2005.

Tabla 25. Resultados de los análisis de laboratorio, muestreo mayo de 2007.

ANÁLISIS	UNIDADES	VALOR	INCERTIDUMBRE	MÉTODO
DQO	mg O ₂ /L	1199,4	0,95	5220-B
DBO	mg O ₂ /L	384,0	3,5	5210-B
Sólidos suspendidos	mg sólidos suspen./L	40,0	5	2540-D
Grasas y aceites	mg G y A/L	32,0	-	5520-D
Oxígeno disuelto	mg O ₂ /L	1,202	-	4500-O-C
Fenoles	mg/L de fenol	8,02	-	5530-C
Bario	mg/L de Ba	N.D	-	3500-BA
TPH	mg/L	7,4	-	SM 5520 F

La tabla 26, muestra los resultados de un monitoreo de control realizado por la empresa en el mes de octubre.

Tabla 26. Resultados muestreo octubre de 2007.

ANÁLISIS	UNIDADES	VALOR	INCERTIDUMBRE	MÉTODO
DQO	mg O ₂ /L	224	0,95	5220-B
DBO	mg O ₂ /L	178	3,5	5210-B
Sólidos suspendidos	mg SS/L	24	5	2540-D
Grasas y aceites	mg G y A/L	8,4	-	5520-D
Fenoles	mg/L de fenol	N.D (< 0,025)	-	5530-C
Bario	mg/L de Ba	0,85	-	3500-BA
TPH	mg/L	5,9	-	SM 5520 F

Según el muestreo de mayo, la DQO presenta un valor elevado en comparación con la DBO, estableciéndose una relación DBO/DQO igual a 0,32, lo que indicaría una baja biodegradabilidad. Sin embargo, de acuerdo al monitoreo realizado en octubre de 2007, la relación DBO/DQO es de 0,79, indicando por el contrario, alta biodegradabilidad. Se observa gran variación en los resultados, indicativo de un desajuste en el tratamiento actual de la batería Payoa.

El valor reportado en mayo de 2007 para el fenol, de 8,02 mg/l, supera los rangos encontrados en muestreos anteriores, realizados directamente por la empresa. En un muestreo realizado en marzo de 2007, se encontró un valor de 4,6 mg/l de fenol, lo cual refleja un incremento sustancial, de marzo a mayo en la concentración de fenoles en este efluente. En el muestreo realizado en octubre de 2007, la concentración de fenoles no fue detectable. Estas variaciones sustanciales en la concentración de fenoles, pueden ser atribuibles a los fenómenos climáticos o estacionales y a las variables internas de producción del campo petrolero. Sin embargo, la variación es muy grande, lo cual nuevamente puede sugerir una falencia en el tratamiento. De esta forma, fue necesario investigar el comportamiento de los reactores a escala laboratorio aplicando diferentes rangos de concentración de fenoles, el componente de interés en este trabajo.

Los parámetros sólidos suspendidos, y grasas y aceites, reflejan una disminución en su concentración de mayo a octubre. El agua residual analizada presenta adicionalmente, según el monitoreo de octubre, alta concentración de cloruros ($\cong 7000 \text{ mg Cl}^-/\text{l}$) y metales pesados como arsénico, bario, cadmio, plomo, níquel, cobre, hierro y vanadio. Estos resultados se incluyen en el anexo E.

♠ **Muestreo microbiológico** Las muestras microbiológicas de agua residual presentaron características similares, en cuanto a olor y color. Los datos de pH, temperatura y oxígeno disuelto, se incluyeron en la tabla 19, presentada anteriormente. En cuanto a las muestras de lodo, estas presentaron características distintivas. Las muestras L1 y L3 fueron similares, en cuanto al contenido de material inorgánico (arenas y finos), lo cual se observa en su aspecto macroscópico, olor y textura. La muestra L2 presentó un mayor contenido de hidrocarburos, lo cual se pudo identificar por su color oscuro y fuerte olor característico. La foto 10 ilustra las muestras de lodo recolectadas, en su orden de L1 a L4.

Foto 10. Muestras de lodo.



Registro fotográfico de campo.

4.1.1.2 Aislamiento de microorganismos Una vez recolectadas las muestras, se procedió a la siembra y aislamiento. En general, se encontró crecimiento de microorganismos en las 128 cajas de cultivo sembradas por la técnica de agotamiento. El crecimiento bacteriano se observó en las 64 cajas dispuestas para estas, y en algunas cajas para hongos, del medio extracto de levadura. De igual forma hubo crecimiento de hongos, en la mayoría de cajas de cultivo, con excepción de aquellas en las cuales crecieron bacterias. Este fenómeno se presentó en las cajas 118 a 128. En el anexo F y G se incluye la identificación macroscópica completa de las colonias de bacterias y de hongos de interés para el tratamiento, respectivamente, con las observaciones realizadas al microscopio.

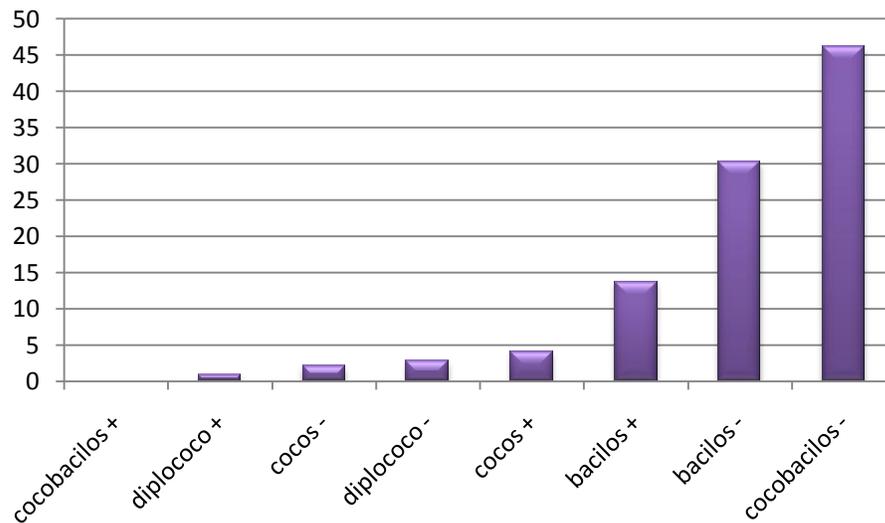
De las muestras de bacterias observadas en las cajas, alrededor de 14 muestras se presumen como colonias aisladas, ya que al microscopio se identificó una misma morfología celular, y en la observación directa la colonia se encontró aislada en el medio. También se encontraron numerosas bacterias formadoras de mucilago, lo cual representa una ventaja en el tratamiento de lecho fijo en cuanto a la adherencia al medio de soporte; la formación de mucilago también es indicativa de una gran población bacteriana.

La tabulación de los datos de todas las cajas de bacterias al microscopio, arrojó los datos que se resumen en la tabla 27. Se encontró diversidad en cuanto a la morfología de las bacterias, apareciendo con mayor frecuencia los bacilos y cocobacilos gram negativos. También hay una importante presencia de bacterias gram positivas representadas por los cocos y bacilos. La grafica 1 muestra el porcentaje equivalente a esta clasificación según morfología, en orden ascendente.

Tabla 27. Datos recolectados de cajas de bacterias, agrupación según morfología.

Grupo según morfología	Frecuencia	%	% acumulado
cocobacilos +	0	0,00	100,00
diplococo +	4	0,92	100,00
cocos -	9	2,06	99,08
diplococo -	12	2,75	97,02
cocos +	18	4,13	94,27
bacilos +	60	13,76	90,14
bacilos -	132	30,28	76,38
cocobacilos -	201	46,10	46,10
TOTAL muestras	436	100	0,00

Gráfica 1. Porcentaje de muestras según grupo morfológico.

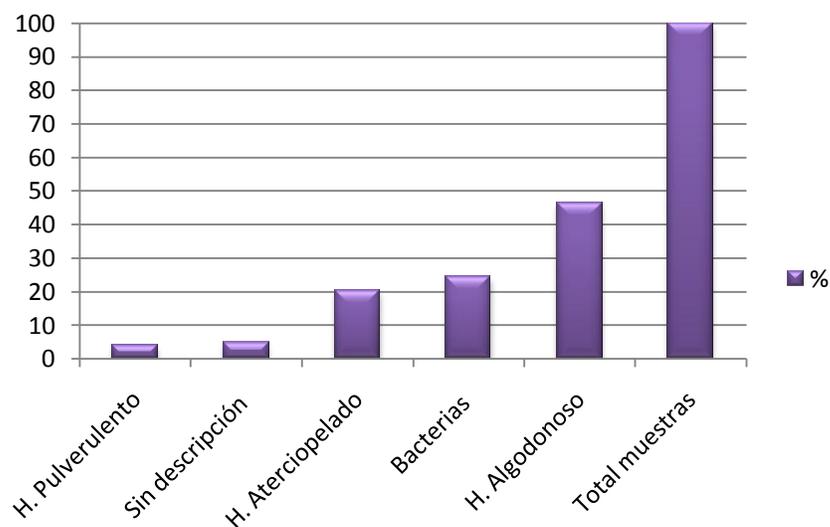


En las cajas de cultivo de hongos, también se encontraron diferentes morfologías. En la tabla 28 se muestran los datos tabulados para las morfología encontradas. Se recolectaron 168 muestras en total, sobresalen los hongos algodonosos y la colonización de las bacterias en medio de extracto de levadura, lo cual se puede observar con mayor detalle en la gráfica 2.

Tabla 28. Datos recolectados de cajas de hongos.

Morfología	Frecuencia	%	% acumulado
H. Pulverulento	7	4,17	100,00
Sin descripción	8	4,76	95,83
H. Aterciopelado	34	20,24	91,07
Bacterias	41	24,40	70,83
H. Algodonoso	78	46,43	46,43
Total muestras	168	100	0,00

Gráfica 2. Porcentaje según muestras de hongos encontradas.



4.1.1.3 Caracterización microbiológica Se hallaron diferentes tipos de bacterias, entre las cuáles se pudo determinar claramente la existencia de por lo menos cinco especies diferentes de *Pseudomonas*. La identificación de estas fue posible comparando los datos del microscopio con las características de las cajas de cultivo que las contenían, en las cuales se identificó la secreción de pioverdina*, sustancia característica en algunas especies de *Pseudomonas*. En la foto 11 se observan las cajas de cultivo con las *Pseudomonas*.

Foto 11. *Pseudomonas**



Registro fotográfico.

Con respecto a las cajas de hongos se identificaron los géneros: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phoma*, y *Levaduras*. El crecimiento de estos hongos en las cajas de cultivo se observa en la foto 12 y 13.

* Sideróforo (compuesto quelante del hierro) fluorescente de color amarillo verdoso, aparece bajo condiciones limitadas de hierro.

* En la foto, las *Pseudomonas* tienen ya un crecimiento de varios días, y presentan el pigmento verde amarillento translúcido y olor fuerte característico.

Foto 12. Hongos identificados 1.



Penicillium



Fusarium



Cladosporium



Phoma

Registro fotográfico.

Foto 13. Hongos identificados 2.



Mucor



N.I.



Aspergillus 1



Aspergillus 2

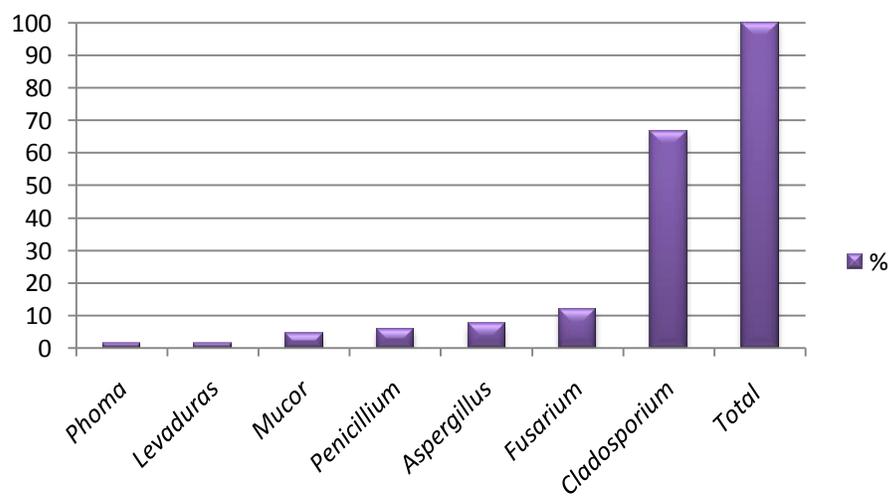
Registro fotográfico.

En la tabla 29 se observan todos los géneros encontrados en las cajas de cultivo, en orden ascendente de acuerdo a la frecuencia con la cual se presentaron. El porcentaje correspondiente a cada grupo se observa claramente en la gráfica 3.

Tabla 29. Grupos de hongos identificados.

Hongo	Frecuencia	%	% acumulado
<i>Phoma</i>	1	1,52	100
<i>Levaduras</i>	1	1,52	98,48
<i>Mucor</i>	3	4,55	96,97
<i>Penicillium</i>	4	6,06	92,42
<i>Aspergillus</i>	5	7,58	86,36
<i>Fusarium</i>	8	12,12	78,79
<i>Cladosporium</i>	44	66,67	66,67
Total encontrado	66	100	0,00

Gráfica 3. Porcentaje de grupos de hongos encontrados.



El género con mayor representación es el *Cladosporium*, sus especies están presentes frecuentemente en el medio ambiente, especialmente en zonas muy húmedas y en el aire. Este hongo es encontrado comúnmente en los lodos de las aguas residuales domésticas, como es el caso también del *Penicillium*, el cual aparece en cuarto lugar dentro de los géneros identificados.

La variedad de géneros de hongos y de bacterias encontrados, demuestra la riqueza biológica de las muestras analizadas, aún cuando éstas provienen de zonas altamente contaminadas no solo con fenol, sino con hidrocarburos, cloruros, metales pesados y otros compuestos con efectos negativos en el medio ambiente. De esta forma, se encuentran evidencias de un crecimiento diverso de microorganismos, donde posiblemente existen grandes cantidades de asociaciones entre estos (bacterias y hongos), sobreviviendo en el medio contaminado y utilizando posiblemente, diversos compuestos como el fenol, como fuente de alimento y en sus funciones biológicas.

4.1.2 Selección de microorganismos de interés Las muestras seleccionadas para conformar el pool bacteriano, según los criterios descritos en la metodología, aparecen en el anexo F, donde la muestra seleccionada aparece con la anotación: “tomar” o “agregar al pool”. Para conformar el pool de bacterias gram negativas y gram positivas se tomaron 12 y 8 muestras, respectivamente. Las 5 muestras distintas de *Pseudomonas* previamente aisladas también se seleccionaron para la adaptación, juntas en un mismo medio.

4.1.3 Adaptación de microorganismos La adaptación fue un proceso exitoso para los grupos bacterianos trabajados. El crecimiento fue apreciable debido al cambio en la coloración y la turbiedad de los medios de cultivo líquidos. Este cambio se observa en la foto 14, en donde es visible el aumento de la turbiedad conforme al aumento de la concentración de fenol, siendo constante la cantidad de caldo nutritivo, indicando de esta manera, el consumo de fenol por las bacterias.

Foto 14. Adaptación de *Pseudomonas* a concentraciones crecientes de fenol.



Registro fotográfico.

La adaptación de hongos ensayada en medio líquido no resultó satisfactoria. Esto puede explicarse por la dificultad que experimentan estos organismos para crecer en ausencia de un medio o lecho que les provea soporte para su desarrollo, además de las condiciones de escasez de oxígeno a la cual se sometieron. El proceso de adaptación en medio sólido mostró un crecimiento y desarrollo mayor de las estructuras fúngicas, sin embargo, a un ritmo muy lento. Por esta razón, se determinó finalizar el proceso de adaptación de los hongos (llevado a cabo hasta 1

mg/l) y continuar la siguiente etapa con las bacterias. Las foto 15 muestra el crecimiento de los hongos en el medio líquido.

Foto 15. Crecimiento de hongos en medio líquido.



Registro fotográfico.

En una caracterización posterior, realizada a muestras tomadas en los reactores de laboratorio, se confirmó la presencia de un pool microbiano diverso, actuando en conjunto para efectuar la degradación del fenol. En el anexo H se presentan los resultados de esta caracterización microbiológica.

4.2 OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PARA LA REMOCIÓN DE FENOLES A TRAVÉS DE LA BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA

4.2.1 Curvas de calibración para determinación de fenoles Los datos para la construcción de las curvas de calibración a diferentes longitudes de onda se muestran en la tablas 30 y 31, para curva baja y alta, respectivamente.

Tabla 30. Patrones de fenol, con su respectiva absorbancia, utilizados para elaborar las curvas bajas de calibración.

Patrón (mg/l)	Absorbancia (nm)		
	445	500	525
0,00	0,274	0,284	0,272
0,05	0,244	0,301	0,288
0,1	0,256	0,318	0,305
0,2	0,29	0,334	0,320
0,5	0,294	0,401	0,386
1	0,333	0,515	0,498

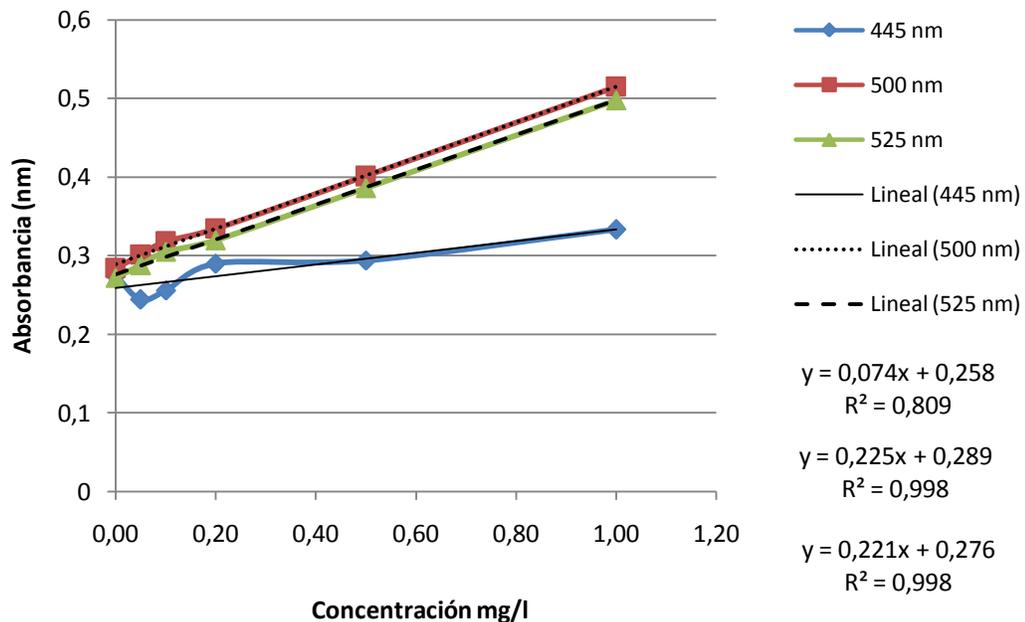
Tabla 31. Patrones de fenol, con su respectiva absorbancia, utilizados para elaborar las curvas altas de calibración.

Patrón (mg/l)	Absorbancia (nm)		
	445	500	525
0,00	0,271	0,304	0,297
1	0,334	0,48	0,469
2	0,483	0,724	0,708
4	0,657	1,174	1,151
6	0,86	1,590	1,56
8	1,098	2,064	2,026
10	1,302	2,504	2,451
12	1,506	2,885	2,838

En las gráficas 4 y 5 se observan las curvas construidas para cada longitud de onda, con la regresión lineal respectiva y el coeficiente lineal R^2 . Las ecuaciones

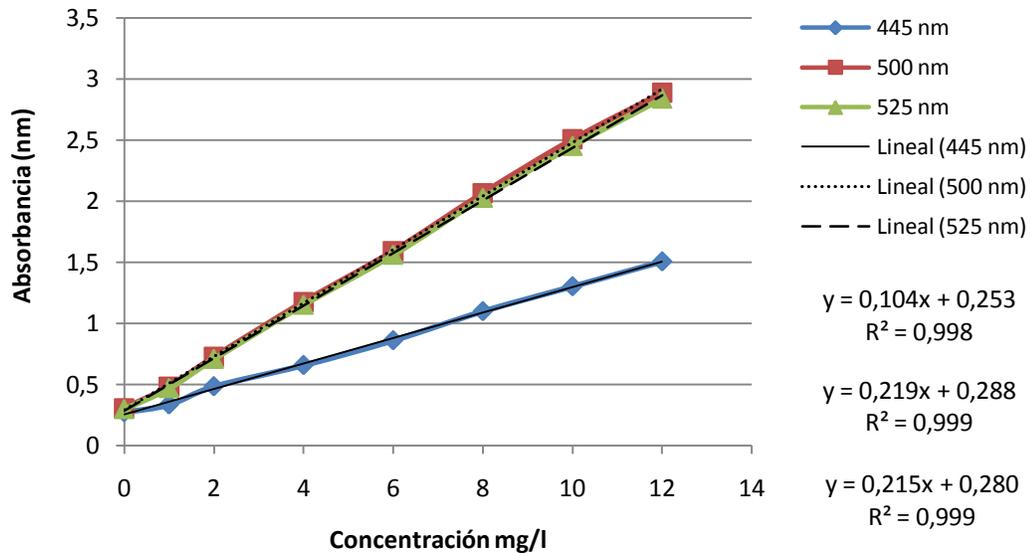
señaladas en las gráficas, aparecen en el orden de longitudes de onda mencionadas en la misma.

Gráfica 4. Curvas de patrones para el fenol, en rango de concentración baja.



Se muestra una excelente correlación para las longitudes de onda de 500 y 525 nm, en donde el coeficiente de correlación R^2 , para ambas, es igual a 0,998. Se comprueba que la relación entre absorbancia y los patrones preparados con el kit colorimétrico, en estas longitudes de onda, muestran una tendencia lineal, cumpliendo la Ley de Beer. Por lo tanto, la absorbancia se utilizó como una medida indirecta y confiable de la concentración de fenoles, aún en muy bajas concentraciones, por debajo de los 0,2 mg/l que establece el Decreto 1594 de 1984 como carga máxima de fenoles en los vertimientos.

Gráfica 5. Curvas de patrones para el fenol, en rango de concentración alta.



La gráfica 5, al igual que la anterior, muestra la tendencia lineal de las lecturas de absorbancia para los patrones de alta concentración, con valores óptimos de R^2 (0,999) para todas las longitudes de onda. Se determinó adoptar la longitud de onda de 525 nm para realizar las lecturas indirectas de absorbancia, y calcular la concentración mediante la ecuación correspondiente a las rectas.

4.2.2 Pretratamiento Los datos del monitoreo diario de turbiedad en los reactores de laboratorio con el caldo bacteriano bioaumentado, se presentan en la tabla 32. En esta tabla se incluyen los datos recolectados los días 1 a 6, con excepción del día 4, en el cual no fue posible tomar lecturas, debido a las restricciones de acceso al laboratorio. Además, se muestra el promedio de las lecturas diarias por reactor, y la media diaria en todos los reactores, cada día.

Teniendo en cuenta la aplicación de un pretratamiento al lecho fijo en los reactores, se agregó a estos iguales volúmenes del medio líquido, para garantizar la disponibilidad de alimento, el crecimiento de las bacterias y su adherencia al lecho.

Tabla 32. Monitoreo de turbiedad.

Reactor	Turbiedad (UNT)					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 5	Día 6	Promedio por reactor
1	45,1	70,3	38,0	51,3	72,2	55,4
2	73,5	90,2	68,7	83,7	116,0	86,4
3	56,2	69,3	56,6	92,1	113,0	77,4
4	62,2	76,5	55,1	79,0	109,0	76,4
5	55,6	73,2	61,5	88,0	100,0	75,7
6	55,9	67,2	58,5	95,3	133,0	82,0
7	52,4	56,0	54,3	87,2	110,0	72,0
8	37,1	39,1	36,7	52,7	73,4	47,8
9	56,9	58,6	72,0	64,8	91,5	68,8
10	95,7	95,4	79,4	77,1	86,5	86,8
11	65,8	67,9	57,1	114,0	130,0	87,0
12	168,0	108,0	83,6	130,0	150,0	127,9
Promedio diario	68,7	72,6	60,1	84,6	107,1	78,6

La gráfica 6 muestra la evolución de la turbiedad según los datos reportados en la tabla anterior. Cada serie, indica la evolución de la turbiedad en el tiempo, en cada reactor. Se puede observar que los valores de la turbiedad presentan un comportamiento variable en el tiempo. La turbiedad al día uno registró valores bajos, en la mayoría de reactores, debido a la adición de medio nutritivo líquido, causando un efecto de dilución. El comportamiento de los reactores 10 y 12, no obedece a este patrón, lo cual puede explicarse como una fluctuación temporal debida al arranque.

En el transcurso de los días la turbiedad en los reactores presentó grandes fluctuaciones; al día 2 se incrementó la turbiedad, para volver a descender al día 3 y aumentar en los días 5 y 6 progresivamente. Se observó, que aunque los valores de turbiedad fueron variables, hay una misma tendencia o evolución creciente de la turbiedad en el tiempo en cada reactor, correspondiente al aumento de la población bacteriana en el caldo, dada la adición inicial del nutriente. Las fluctuaciones pueden indicar la formación de la biopelícula en el lecho de piedra.

Adicionalmente se empleó la Metodología McFarland, la cual se explica en el anexo I, para confirmar el análisis de la turbiedad con los datos en términos de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC /ml). La tabla 33 muestra los patrones McFarland utilizados, la turbiedad registrada en el aparato para estos patrones y su equivalente en unidades formadoras de colonias.

Gráfica 6. Monitoreo de turbiedad, valores por cada reactor en estudio.

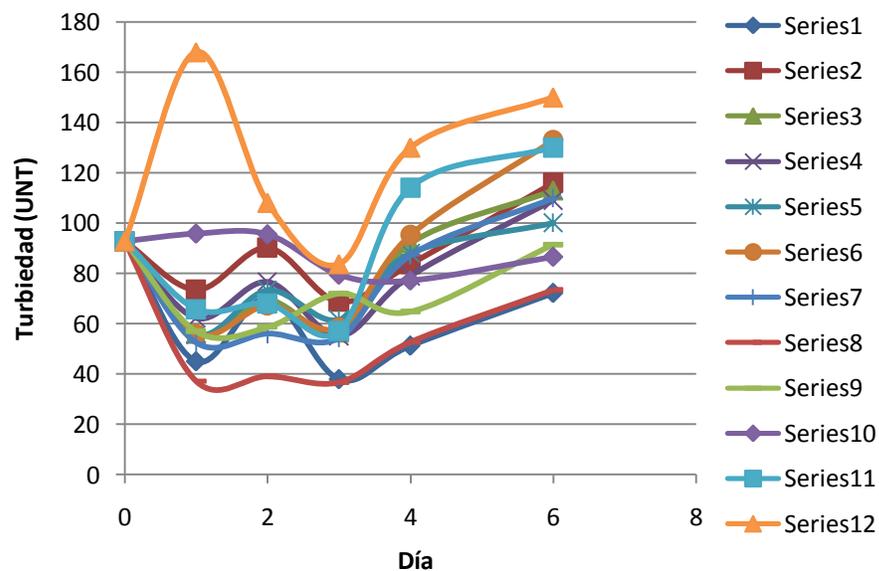
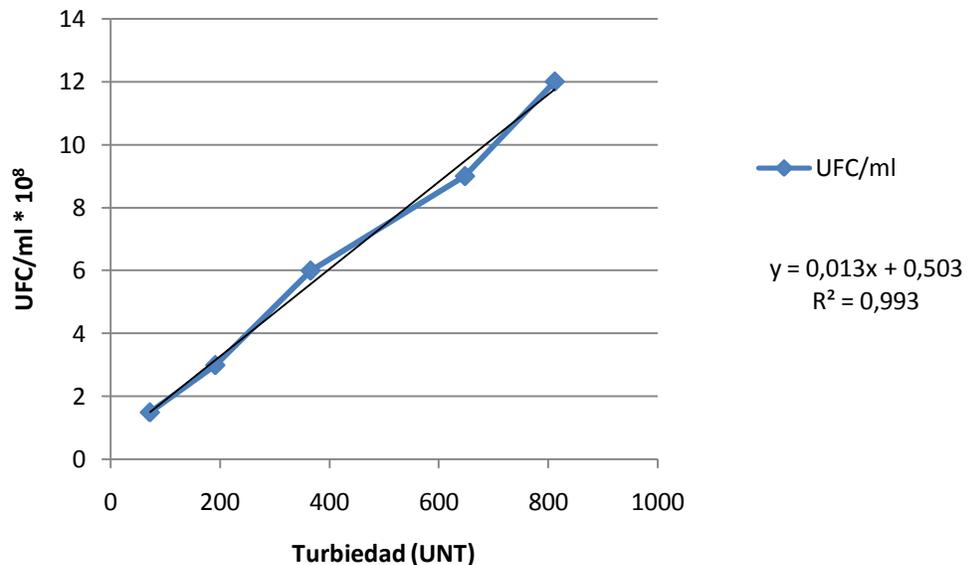


Tabla 33. Patrones McFarland utilizados.

Tubo	Turbiedad (UNT)	UFC/ml * 10 ⁸
0,5	72,5	1,5
1,0	192,0	3,0
2,0	366,0	6,0
3,0	648,0	9,0
4,0	812,0	12,0

En la gráfica 7 se puede detallar la curva construida para convertir las UNT en unidades formadoras de colonias sobre ml. Cada punto en la gráfica corresponde a un patrón utilizado, desde 0,5 hasta 4. La curva se ajusta claramente a la tendencia lineal esperada, con un coeficiente R^2 igual a 0,993. La ecuación correspondiente a esta curva se utilizó para convertir los datos del monitoreo de turbiedad a unidades formadoras de colonias por mililitro, lo cual se observa en la tabla 34.

Gráfica 7. Curva de patrones McFarland.



Los valores de la tabla 34 fueron ilustrados en la gráfica 8, donde se puede visualizar claramente, un comportamiento semejante en todos los reactores, excepto los ya señalados, reactores 10 y 12. De igual manera el crecimiento bacteriano corresponde a los cambios de la turbiedad en los reactores, lo cual se analizó anteriormente.

Tabla 34. Concentración de bacterias por mililitro en los reactores.

Reactor	Concentración de bacterias en UFC/ml * 10 ⁸					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 5	Día 6	Promedio reactor
1	1,1	1,4	1,0	1,2	1,4	1,2
2	1,5	1,7	1,4	1,6	2,0	1,6
3	1,2	1,4	1,2	1,7	2,0	1,5
4	1,3	1,5	1,2	1,5	1,9	1,5
5	1,2	1,5	1,3	1,6	1,8	1,5
6	1,2	1,4	1,3	1,7	2,2	1,6
7	1,2	1,2	1,2	1,6	1,9	1,4
8	1,0	1,0	1,0	1,2	1,5	1,1
9	1,2	1,3	1,4	1,3	1,7	1,4
10	1,7	1,7	1,5	1,5	1,6	1,6
11	1,4	1,4	1,2	2,0	2,2	1,6
12	2,7	1,9	1,6	2,2	2,5	2,2
Promedio diario	1,4	1,4	1,3	1,6	1,9	1,5

Como se mencionó en la metodología, con el objetivo de confirmar que las fluctuaciones diarias de turbiedad en los reactores se deben a la formación de la biopelícula, se incluyen en la tabla 35 las lecturas de masa húmeda de las piedras modelo, tomadas en el día 2 y 5, y su respectiva diferencia.

Gráfica 8. Evolución de la concentración de bacterias en el tiempo, para cada reactor en estudio.

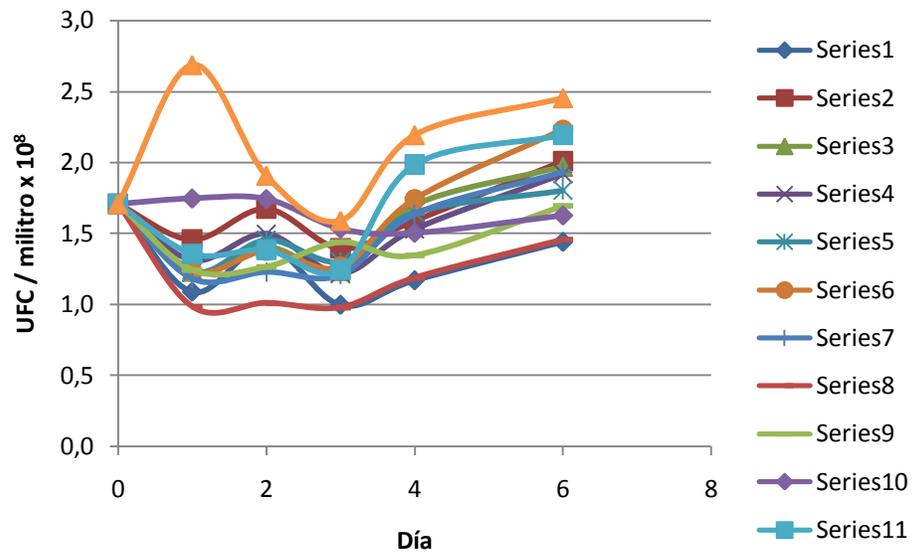


Tabla 35. Lecturas de masa de las piedras en los reactores.

Reactor	Masa día 2 (g)	Masa día 5 (g)	Diferencia (g)	Diferencia (mg)
1	8,3	8,33	0,03	30
2	9,87	9,93	0,06	60
3	7,2	7,27	0,07	70
4	11,66	11,71	0,05	50
5	2,83	2,86	0,03	30
6	5,26	5,27	0,01	10
7	5,29	5,31	0,02	20
8	9,96	10	0,04	40
9	8,59	8,6	0,01	10
10	4,94	4,95	0,01	10
11	12,12	12,15	0,03	30
12	13,18	13,19	0,01	10

Según los datos de la tabla, se encontró una diferencia en masa en las piedras seleccionadas en todos los reactores, que oscila entre 10 y 70 mg. Esta variación confirma la formación de la biopelícula en el lecho de piedra.

4.2.3 Desarrollo del experimento factorial A continuación, en la tabla 36 se muestran el consolidado de los datos obtenidos en el desarrollo experimental factorial adelantado para las concentraciones en estudio.

Tabla 36. Consolidado de datos obtenidos en la optimización.

Experimento	Ci = 2,14 mg/l			Ci = 6,13 mg/l			Ci = 9,30mg/l		
	Tr	GAC	Eficiencia promedio (%)	Tr	GAC	Eficiencia promedio (%)	Tr	GAC	Eficiencia promedio (%)
1	-	-	77	-	-	72	-	-	78
2	+	-	79	+	-	63	+	-	85
3	-	+	83	-	+	75	-	+	86
4	+	+	81	+	+	81	+	+	81

Tiempo de retención (-) = 18 horas
 Tiempo de retención (+) = 24 horas
 Carbón activado (-) = ausencia
 Carbón activado (+) = presencia
 Ci = Concentración inicial en los biorreactores

Los ensayos básicos en las tres concentraciones de fenol aplicadas en condiciones anaerobias, mostraron altos porcentajes de eficiencia, entre el 72 y 86%. Esto sugiere un potencial alto en cuanto a la biodegradabilidad de los fenoles en el agua sujeta a investigación, en las condiciones señaladas.

Las condiciones de tratamiento más favorables para baja y alta concentración de fenol (2,14 y 9,30 mg/l) fueron con presencia de carbón activado a 18 horas de tiempo de retención. Para la concentración intermedia de (6,13 mg/l) de fenol, se genera un mayor rendimiento (81%) a las 24 horas de tiempo de retención, con la presencia de carbón activado.

4.2.4 Análisis del diseño factorial 2² Desde el punto de vista estadístico se analiza el efecto de los factores, tiempo de retención y carbón activado (GAC) en el tratamiento, sobre la concentración de fenoles.

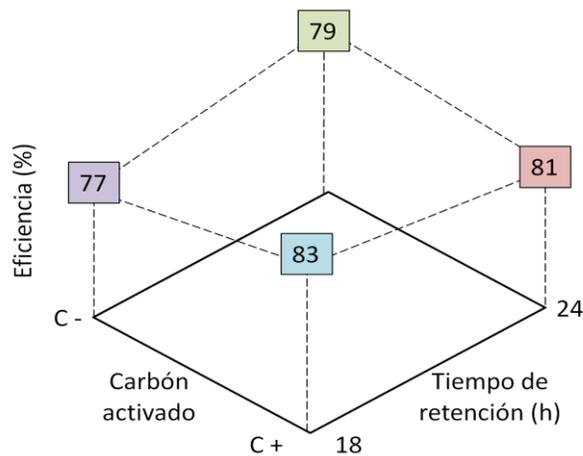
4.2.4.1 Ensayos a concentración baja (2 mg/l de fenol) En la tabla 37 se muestran los resultados del cálculo de los efectos, con la aplicación del tiempo de retención considerado, como se describió en la metodología en numeral 3.2.8. En el anexo I, se incluyen los resultados completos para cada reactor utilizado, para 2, 6 y 10 mg/l de fenol.

Tabla 37. Respuestas al tratamiento con 2 mg/l, medidas como eficiencia de remoción.

Tr (h)	Carbón Activado		Media Eficiencia	Respuesta a C+
	C -	C +		
18	77	83	80	6
24	79	81	80	2
Media	78	82	80	
Respuesta a Tr 24 h - 18 h	2	-2	0	Media C + : $\bar{x} = 4$

La gráfica 9 ilustra más claramente las diferencias encontradas en los rendimientos del tratamiento y su posición en el domino experimental.

Gráfica 9. Eficiencia de remoción de los tratamientos para 2 mg/l de fenol.



Se pueden interpretar los resultados de la siguiente manera:

- ♣ Considerando el efecto del carbón activado, se puede afirmar que la presencia de este en el lecho de soporte aumentó los rendimientos en un 6 y 2% para 18 y 24 horas, respectivamente.
- ♣ Considerando el efecto del tiempo de retención, un aumento de 18 a 24 horas, en ausencia de GAC, incrementa la eficiencia en un 2%. En presencia de carbón activado la eficiencia disminuye en un 2%.

Como la respuesta al carbón activado para 18 y 24 horas es la misma (valor positivo o incremento en la eficiencia), el efecto simple de la presencia del carbón activado puede considerarse igual a la media de estas respuestas, con un valor de

4%. Luego la utilización de carbón activado en el tratamiento con 2 mg/l de fenol, incrementa la eficiencia en promedio, en un 4%.

De la misma forma, el efecto principal del tiempo de retención corresponde al promedio entre las respuestas al tiempo de retención. Para el caso en estudio, este promedio es igual a 0, lo cual indica que no hay una relación directa entre el incremento en tiempo de retención y el uso del carbón activado.

Cuando el tratamiento se prolonga de 18 a 24 horas, el uso de carbón activado disminuye la eficiencia, posiblemente por el efecto de retención del fenol en el GAC. Esto genera una biopelícula con bajo grado de desarrollo. Además, teniendo en cuenta la cinética de la reacción, la cual relaciona la velocidad con la concentración, la velocidad de la biodegradación debe ser baja a baja concentración, identificándose solamente el efecto de adsorción. Por esta misma razón, el tiempo de retención no ejerce efecto sobre la eficiencia.

En los reactores sin GAC la eficiencia aumenta ligeramente, solo un 2%, con el paso de 6 horas más de tratamiento, lo cual evidencia la poca importancia del aumento en el tiempo de retención en el tratamiento a baja concentración de fenoles.

La tabla 38 registra el resultado del cálculo de los efectos para 2 mg/l, se incluyen únicamente estos valores, utilizando las fórmulas y notación mostradas en la metodología, en la tabla 21. Estos resultados son equivalentes a la tabla anterior, pero se incluye el efecto de interacción.

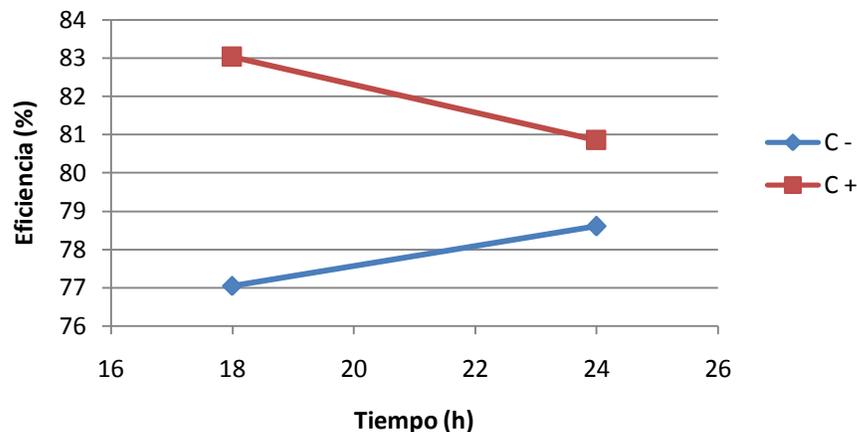
Tabla 38. Efectos principales y de interacción para ensayos con 2 mg/l de fenol.

Efectos	Valor (%)
M	80
Btr	0
Bca	4
B trxca	-2

De acuerdo a la tabla 38, e ilustrando nuevamente los resultados de los efectos, se puede considerar lo siguiente:

- ♣ El valor promedio del tratamiento correspondió a un 80%.
- ♣ El efecto principal del tiempo de retención fue nulo.
- ♣ El efecto principal del carbón activado fue 4%, indicativo de un incremento bajo en la eficiencia.
- ♣ Efecto de interacción. De acuerdo al cálculo (-2), se demuestra que existe interacción entre los factores, tal como se identifica en la gráfica 10. Esta interacción, aunque existente, no tiene mayor importancia, lo cual se verifica en la gráfica, ya que las líneas no se intersecan.

Gráfica 10. Gráfico de interacción de los factores para 2 mg/l de fenol.

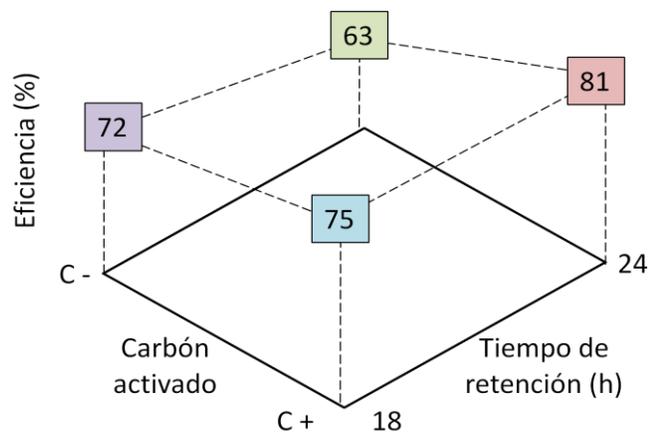


4.2.4.2 Ensayos a concentración media (6 mg/l de fenol) En la tabla 39, homóloga a la tabla 37, se muestran los resultados de los efectos para 6 mg/l de fenol. La gráfica 11 muestra los resultados de este experimento y su posición en el domino experimental.

Tabla 39. Respuestas al tratamiento con 6 mg/l, medidas como eficiencia de remoción.

Tr (h)	Carbón Activado		Media	Respuesta a C+
	C -	C +		
18	72	75	74	2
24	63	81	72	18
Media	68	78	73	Media C+ $\bar{x} = 10$
Respuesta a Tr 24 h - 18 h	-9	7	$\bar{x} = -1$	

Gráfica 11. Eficiencia de remoción de los tratamientos para 6 mg/l de fenol.



Se pueden interpretar los resultados de la siguiente manera:

- ♠ Considerando el efecto del carbón activado, se puede afirmar que la presencia del GAC en el lecho de soporte, aumentó los rendimientos en un 2 y 18% en 18 y 24 horas respectivamente.
- ♠ Considerando el efecto del tiempo de retención, un aumento de 18 a 24 horas, en ausencia de GAC, disminuye la eficiencia en un 9%. En presencia de carbón activado la eficiencia aumenta en un 7%.

La respuesta al carbón activado para 18 y 24 horas es positiva, al igual que para 2 mg/l, el efecto simple de la presencia del carbón activado se calcula como la media de estas respuestas, resultando un valor del 10%. La utilización de carbón activado en el tratamiento con 6 mg/l incrementa la eficiencia en promedio, en un 10%, a medida que aumenta el tiempo de retención. Sin embargo, el aumento en la eficiencia es poco significativo, si se toma como referencia el incremento del 2% para 18 horas de tratamiento.

En cuanto al tiempo de retención, el efecto principal, es igual a -1, lo cual indicaría que la eficiencia no tiene un incremento sustancial con la diferencia de 6 horas de tratamiento. El comportamiento observado es opuesto al ensayo a concentración baja, ya que en el tratamiento por 24 horas, el uso de carbón activado si aumentó la eficiencia. La ausencia del GAC, con el tratamiento a 24 horas, indica una disminución grande en la eficiencia, en comparación con las 18 horas, de 72 a 63%, por su efecto inhibidor en el crecimiento de las bacterias.

La tabla 40, muestra el cálculo de los efectos para 6 mg/l, incluyendo los efectos simples y el efecto de interacción, retomando los datos mostrados en la tabla 39.

Tabla 40. Efectos principales y de interacción para ensayos con 6 mg/l de fenol.

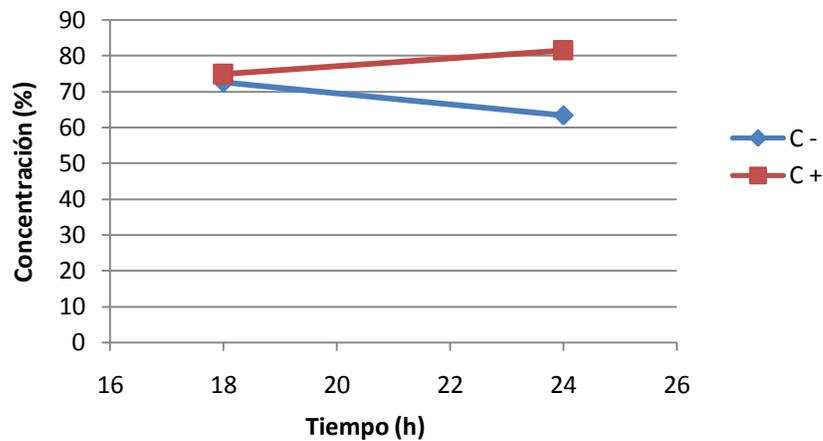
Efectos	Valor (%)
M	73
Btr	-1
Bca	10
B trxca	8

De acuerdo a la tabla, e ilustrando nuevamente los resultados de los efectos, se puede considerar lo siguiente:

- ♣ El valor promedio de la eficiencia del tratamiento corresponde a un 73%.
- ♣ El efecto principal del tiempo de retención es -1, lo cual sugiere un efecto casi nulo del tiempo de retención.
- ♣ El efecto principal del carbón activado es 10, indicativo de un incremento significativo de la eficiencia, equivalente al 10%.
- ♣ Efecto de interacción. Se demuestra que existe interacción entre los factores, tal como se muestra en la gráfica, y en el valor de B trxca. De esta forma, aunque el efecto simple del tiempo de retención indica poca variabilidad, en el gráfico de interacción se muestra que variar el tiempo de retención de 18 a 24 horas, sin GAC, disminuye la eficiencia en un 9%, y con carbón aumenta en un 7%.

La gráfica 12 a continuación, confirma el comportamiento contrario de la eficiencia en el tratamiento realizado en los reactores con la solución de 6 mg/l de fenol, comparado con 2mg/l de fenol.

Gráfica 12. Gráfico de interacción de los factores para 6 mg/l de fenol.



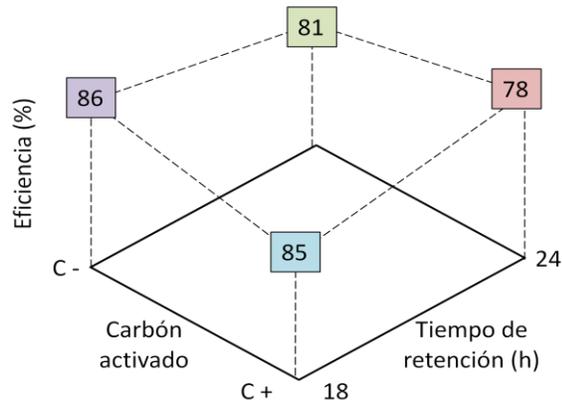
A altas concentraciones de fenol, se manifiesta un efecto tóxico, generando un medio estresante para las bacterias, lo cual se refleja en un aumento de la eficiencia cuando hay presencia del GAC.

4.2.4.3 Ensayos a concentración alta (10 mg/l de fenol) En la tabla 41 se observan los efectos para la solución de 10 mg/l de fenol. La gráfica 10 muestra los resultados del experimento y su posición en el domino experimental.

Tabla 41. Respuestas al tratamiento con 10 mg/l, medidas como eficiencia de remoción.

Tr (h)	Carbón Activado		Media	Respuesta a C+
	C -	C +		
18	78	86	82	8
24	85	81	83	-3
Media	81	83	82	$\bar{x} = 2,5$
Respuesta a Tr 24 h - 18 h	7	-4	$\bar{x} = -1,5$	

Gráfica 12. Eficiencia de remoción obtenida en los tratamientos.



Se pueden interpretar los resultados de la siguiente manera:

- ♣ Considerando el efecto del carbón activado, se puede afirmar que la presencia del GAC en el lecho de soporte, aumentó el rendimiento en un 8% y lo disminuyó en un 3%, en 18 y 24 horas respectivamente.
- ♣ Considerando el efecto del tiempo de retención, un aumento de 18 a 24 horas, en ausencia de GAC, aumenta la eficiencia en un 7%. En presencia de carbón activado la eficiencia disminuye en un 4%.

La respuesta al carbón activado para 18 y 24 horas fue diferente al comportamiento observado en la concentración anterior (6 mg/l). El efecto simple promedio de la presencia del carbón activado es igual a 2,5%.

El efecto principal del tiempo de retención, es igual a -1,5, lo cual indicaría que la eficiencia no tiene un incremento sustancial con la diferencia de 6 horas de tratamiento. La ausencia del GAC, prolongando el tratamiento a 24 horas indica un aumento de la eficiencia, comportamiento esperado.

El ensayo a 10 mg/l de fenol se realizó en los mismos biorreactores utilizados para 2 y 6 mg/l. Se evidencia, entonces, la adaptación de los microorganismos a alta concentración y la posible formación de una biopelícula más resistente al tóxico. Esto refleja un aumento de la eficiencia, a medida que aumenta el tiempo de retención en ausencia de carbón activado, y la disminución en la presencia del GAC, en las mismas condiciones.

La tabla 42 muestra el cálculo de los efectos para 10 mg/l, incluyendo los efectos simples y el efecto de interacción, retomando los datos mostrados en la tabla 41.

Tabla 42. Efectos principales e interacciones para 10 mg/l.

Efectos	Valor (%)
M	82,4
Btr	1,3
Bca	2,2
B trxca	-5,5

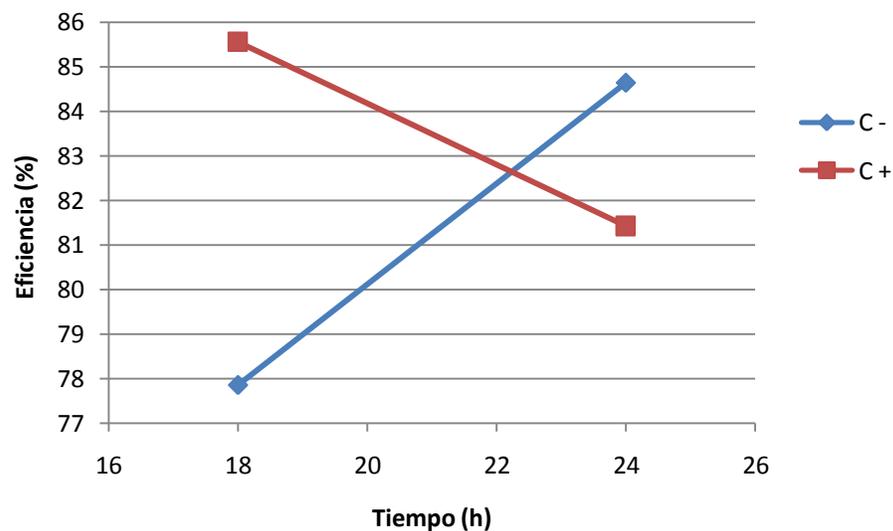
El autor.

De acuerdo a la tabla 42, se puede considerar lo siguiente:

- ♣ El valor promedio de la eficiencia del tratamiento, corresponde a un 82,4%.
- ♣ El efecto principal del tiempo de retención es 1,3, lo cual sugiere un efecto casi nulo del tiempo de retención, sobre el tratamiento.
- ♣ El efecto principal del carbón activado es 2,2, indicativo de un incremento del 2,2% en la eficiencia, lo cual no es un incremento representativo.
- ♣ Efecto de interacción. Existe interacción entre los factores, tal como se muestra en la gráfica, y en el valor de B trxca. Luego, aunque el efecto simple del

tiempo de retención indica poca variabilidad, en el gráfico de interacción se muestra que al variar el tiempo de retención de 18 a 24 horas, sin carbón aumenta la eficiencia (7 %), y con carbón disminuye (4%).

Gráfica 13. Gráfico de interacción de los factores para 10 mg/l de fenol.



4.2.4.4 Ensayos control A continuación, la tabla 43 resumen los datos obtenidos en los experimentos control. En la tabla, analizando el comportamiento de los ensayos control de filtrado rápido, se observa que el efecto del carbón activado adquiere importancia en altas concentraciones de la solución problema.

La incidencia de la luz en ausencia de la biopelícula, se hace muy evidente, especialmente re combinada con la presencia del carbón activado. Esto se debe a que la luz puede participar en la serie de reacciones de biodegradación contribuyendo al proceso de descomposición del fenol.

Tabla 43. Resultados de ensayos control.

Ausencia de tiempo de retención								
Ci = 2,14 mg/l			Ci = 6,13 mg/l			Ci = 9,30 mg/l		
Tr	GAC	Eficiencia (%)	Tr	GAC	Eficiencia (%)	Tr	GAC	Eficiencia (%)
0	-	-13	0	-	14	0	-	17
0	+	2	0	+	19	0	+	34
Efecto de la luz con ausencia de la biopelícula								
			Tr	GAC	Luz	Eficiencia (%)		
			-	+	+	59		
			-	-	-	1		
			-	-	+	4		
			-	+	-	20		
			+	+	+	45		
			+	-	-	-6		
			+	-	+	4		
			+	+	-	-47		
Efecto de la luz en presencia de la biopelícula								
			Tr	GAC	Luz	Eficiencia (%)		
			-	+	+	96		
			-	-	-	85		
			-	-	+	76		
			-	+	-	81		
			+	+	+	97		
			+	-	-	81		
			+	-	+	86		
			+	+	-	81		

En presencia de la biopelícula, hay una relevante importancia de la luz, la cual conduce a unos porcentajes de eficiencia hasta del 96%. Esto se debe al efecto recombinao de la luz, el GAC y la biopelícula adaptada. La ausencia de cualquiera de estos factores, se refleja en la disminuci3n de la eficiencia. Cabe mencionar, que estos ensayos muestran rendimientos m1s elevados en comparaci3n con los ensayos base, debido a la progresiva adaptaci3n y aumento de tama1o la biopelícula en los reactores.

4.2.4.5 An1lisis global de la optimizaci3n Seg1n los resultados encontrados, se puede determinar que la presencia de un lecho de carb3n activado en el reactor no constituye una ventaja significativa en el tratamiento, especialmente, si las concentraciones de fenol son altas, debido a que el aumento en los rendimientos calculados, generalmente no supera el 10%. Sin embargo, para 2 y 10 mg/l de fenol, los mejores rendimientos se obtuvieron en 18 horas de tratamiento, con la presencia del GAC. Como se mencion3 en el an1lisis de los factores, este fen3meno (menores rendimientos en 24 horas) se puede asociar en el ensayo a 2mg/l, al estr3s al cual se someten las bacterias cuando hay baja concentraci3n de fenol disponible para consumir, ya que el fenol se ha adsorbido previamente en el lecho de GAC. Para concentraciones altas (10 mg/l), se puede afirmar que las bacterias degradan el fenol en el tiempo transcurrido entre las 0 y 18 horas, para lo cual prolongar el tiempo a 24 horas, no representa una ventaja importante. En el ensayo a concentraci3n media, la diferencia en rendimientos entre 18 y 24 horas, es tan solo de un 2%, confirmando la degradaci3n del compuesto t3xico en gran medida durante las primeras 18 horas de tratamiento. Por lo tanto, teniendo en cuenta el posible costo – beneficio, se identifica claramente que el costo de la implementaci3n del lecho de carb3n activado a escala piloto no justifica la acci3n del GAC en el tratamiento. De forma similar, seg1n lo expuesto anteriormente, el incremento en el tiempo de tratamiento, de 18 a 24 horas no refleja un aumento importante en la eficiencia de remoci3n a concentraciones altas.

4.2.4.6 Análisis del escenario crítico de tratamiento Las tablas 44 a 45, muestran los cálculos de los efectos utilizando los valores de concentración de fenol (mg/l), donde se incluyen para observar el comportamiento del tratamiento en términos de la concentración final lograda y la mínima esperada de 0,2 mg/l.

Tabla 44. Respuesta a factores para 2 mg/l.

Tr (h)	Carbón Activado		Media	Respuesta a C+
	C -	C +		
18	0,49	0,36	0,43	-0,13
24	0,46	0,41	0,43	-0,05
Media	0,48	0,39	0,43	
24 h - 18 h	-0,03	0,05		

Tabla 45. Respuesta a factores para 6 mg/l.

Tr (h)	Carbón Activado		Media	Respuesta a C+
	C -	C +		
18	1,69	1,55	1,62	-0,14
24	2,24	1,13	1,69	-1,11
Media	1,97	1,34	1,65	
24 h - 18 h	0,56	-0,41		

Tabla 46. Respuesta a factores para 10 mg/l

Tr (h)	Carbón Activado		Media	Respuesta a C+
	C -	C +		
18	2,06	1,34	1,70	-0,72
24	1,43	1,73	1,58	0,30
Media	1,74	1,53	1,64	
24 h - 18 h	-0,63	0,38		

Según se observa en las tablas, en el ensayo a 2 mg/l de fenol, se logró reducir la concentración a valores cercanos a la norma (0,2 mg/l). Para 6 y 10 mg/l, se logró reducir la concentración a valores que oscilan entre 1,5 y 2 mg/l. De esta forma, para lograr cumplir la norma establecida, debe considerarse para el diseño del sistema, la circulación del agua tratada a un reactor secundario, o la recirculación al mismo reactor, de tal forma que se logre llevar la concentración de fenol a valores aceptables.

4.3 DISEÑO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA BATERÍA PAYOA, PETROSANTANDER (COLOMBIA) Inc.

La alternativa más adecuada de tratamiento se proyectó para un tiempo de retención de 18 horas, con la posibilidad de enviar el efluente a un filtro secundario. En la tabla 47 se muestran los datos de diseño y las características de la unidad de tratamiento. Para el cálculo de las dimensiones del reactor, se tuvo en cuenta el incremento del volumen por el porcentaje de espacios vacíos disponibles (porosidad del lecho, equivalente al 45%).

El sistema de tratamiento, deberá estar integrado como mínimo por tres reactores anaerobios de lecho fijo, funcionando en paralelo. El suministro del agua deberá realizarse a través de un sistema de bombeo, desde la piscina B a los reactores. El sistema de bombeo además, garantizará la limpieza del filtro mediante el retrolavado con la bomba. Para dar el cumplimiento a la norma, PetroSantander (Colombia) Inc., debe estudiar la posibilidad de implementar tres reactores adicionales, de tal forma que el agua circule desde la primera serie de tres reactores a estas otras unidades. También puede considerar la posibilidad de

recircular el agua tratada al mismo reactor. Con esta alternativa el tratamiento se realizaría de forma intermitente.

Tabla 47. Datos de diseño del sistema de tratamiento.

Variable	Valor
Tiempo de retención (h)	18
Q (barriles/día)	2000
Q (l/s)	3,68
Q a tratar (10%) (l/s)	0,4
Volumen total (m ³)	52,99
Altura del reactor(m)	1,5
Ancho del reactor (m)	2,5
Largo del reactor (m)	5
Volumen unitario (m ³)	18,75
Número de unidades	3
Q real unitario (l/s)	0,3
Q real unitario (gal/min)	4,58

Las características del sistema de bombeo propuesto se presentan en la tabla 48. Los detalles específicos de la bomba recomendada se incluyen en el anexo K. La configuración del sistema, con el correspondiente diseño a escala de los reactores se muestra en el anexo L.

Tabla 48. Características del sistema de bombeo.

Característica	Valor
Diámetro tubería succión (in) (PVC)	3
Diámetro tubería impulsión (in) (PVC)	2
Reducción excéntrica (succión a bomba) (in)	2 a 1 ½
Longitud recta de succión (in)	10 diámetro de la succión
Sumergencia (in)	2 diámetro de la succión
Diámetro tubería afluente al reactor (in)	1 ½
Potencia de la bomba (HP)	1,5
Accesorios del sistema de bombeo	Manómetro de glicerina de 10 psi máx. (succión) Manómetro de glicerina de 60 psi máx. (impulsión)

5. CONCLUSIONES

La gran abundancia de los microorganismos aislados de las muestras de agua residual y lodo provenientes de las piscinas de tratamiento de la batería Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc., así como la notoria adaptación de las bacterias a altas concentraciones de fenol, junto con el alto rendimiento de los ensayos de tratamiento realizados, indica el elevado potencial de biodegradación del fenol en estas aguas.

Las óptimas condiciones de tratamiento para baja y alta concentración de fenol (2,14 y 9,30 mg/l) se lograron con presencia de carbón activado y tiempo de retención de 18 horas; así mismo, para la concentración intermedia (6,13 mg/l) de fenol, se generó un mayor rendimiento a las 24 horas de tiempo de retención, con la presencia de carbón activado.

En altas concentraciones de fenol, se revela la importancia del incremento del tiempo de retención de 18 a 24 horas en el tratamiento, con el uso del carbón activado granular; en contraposición, a bajas concentraciones de fenol, carece de importancia el tiempo de retención, y la eficiencia aumenta en un 4% en promedio con el uso del carbón activado.

En el proceso de filtrado rápido, la presencia de carbón activado granular se hace más relevante con el aumento de la concentración de fenoles aplicada a los reactores; a su vez, el proceso general recombinado con la presencia de la luz, la biopelícula y el carbón activado, conduce a altas eficiencias de remoción de fenol.

Con el propósito de dar cumplimiento a la norma establecida, debe considerarse para el diseño del sistema, la circulación del agua tratada a un reactor secundario, o la recirculación al mismo reactor, de tal forma que se logre llevar la concentración de fenol a valores aceptables.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados de la primera etapa del proyecto, se sugiere explorar la posibilidad del tratamiento para la remoción de fenoles, utilizando los géneros de hongos identificados, ya que estos podrían adherirse a los reactores con gran facilidad, mejorando las condiciones del lecho de soporte para la biodegradación.

Debido al elevado potencial de biodegradación del fenol en el agua objeto de estudio, puede resultar de gran interés estudiar las eficiencias del tratamiento con el caldo bacteriano utilizado, en un lecho suspendido o fluidizado.

En posteriores investigaciones con reactores de lecho fijo, debe considerarse el uso de unidades de menor tamaño que faciliten la adecuación y manipulación de las mismas, también disminuyendo el volumen de agua necesario para los ensayos.

Con el fin de incrementar la capacidad de agua a tratar en los reactores de lecho fijo, y facilitar la manipulación del material de soporte, puede estudiarse la formación de la biopelícula adaptada y la eficiencia del tratamiento, en unidades con lechos de soporte alterno, de mayor porosidad, como la guadua o el material plástico, entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

BRAVO, Elizabeth. Los Impactos de la Explotación Petrolera en Ecosistemas tropicales y la Biodiversidad. OILWATCH. Red de Resistencia a las actividades petroleras en los países tropicales. (Mayo, 2007). p. 13.

CARRILLO, Leonor. Microbiología Agrícola. [en línea]. Salta: Universidad de Salta, 2003. Disponible en: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/>

COCHRAN, William G., COX, Gertrude M. Diseños Experimentales. México: Trillas, Inc., 1965. 661 p.

COLOMBIA. MINISTERIO DE DESARROLLO ECONÓMICO. DIRECCIÓN DE AGUA POTABLE Y SANEAMIENTO BÁSICO RAS 2000. Reglamento Técnico del Sector de Agua Potable y Saneamiento Básico. Bogotá: El ministerio, 2000. 144 p. Sección II, Título E, p. 85 - 86.

CRAVEIRO, Fernando. Anaerobic degradation of phenol and bioregeneration of granular activated carbon. 1991. p. 239. Doctoral thesis (Ph. D). University of Microfilms International, University of Texas at Austin. USA.

DELGADO, Jacob, LEÓN, José Guillermo, SUAREZ, Carlos Alberto. Remoción de fenoles mediante la técnica de la biodegradación. Aplicación a Efluentes de Refinería. Trabajo de grado (Posgraduado en Ingeniería Ambiental) ECOPETROL – CIB, Universidad Pontificia Bolivariana. Bucaramanga. 1993.

FIELD, Jim. Degradación anaeróbica de compuestos orgánicos. Toxicidad metanogénica. FIELD, Jim. SIERRA, R. Biodegradability and toxicity lecture series. International course on Anaerobic Wastewater treatment. Agricultural University of Wageningen. The Netherlands. 1989.

FOLSOM, B.R., CHAPAMAN, P.J., PRITCHAR, P.H. Degradación de fenol y tricloroetileno por *Pseudomonas cepacia*. En: Applied and Environmental Microbiology. (Mayo, 1990). p. 1279-1285.

GARCÍA F., Carlos A. Tratamiento Biológico de aguas de desecho. México: Limusa, 1993. 338 p. ISBN 968-18-1926

HOLGUIN ZEIFFUSS, Gina. Censos poblacionales bacterianos. La Jornada: Lunes en la ciencia [en línea], mayo 2000. Disponible en: <http://www.jornada.unam.mx/2000/05/29/cien-gina.html>.

KNOLL, Gertrud; and WINTER, Josef. Degradación del fenol vía carboxilación a benzoato por un consorcio sintrópico obligado de bacterias anaeróbicas. En: Applied Microbiology and Biotechnology. 1989. p. 318 – 324

KOCH, B et al. Arena y carbón activado como soporte de la biopelícula para degradación microbiana de fenoles y compuestos aromáticos nitrogenados. En: Water Resources. Vol. 25, No 1. (1991); p. 1 - 8.

MADIGAN, Michael, MARTINKO, John y PARKER, Jack. Biología de los microorganismos. 8 ed. Madrid: Prentice Hall Iberia, 1997. 1064 p. ISBN 84-89660-36-0

RESTREPO, Ricardo et al. Aplicación de Tecnologías combinadas para el tratamiento de fenoles en aguas residuales de producción. En: XII Congreso Colombiano de Petróleo y Gas. Asociación Colombiana de Ingenieros de Petróleos (ACIPET). ECOPETROL. 2007

RINCÓN, Nancy et al. Tiempo de retención hidráulico óptimo para el tratamiento anaerobio de aguas de producción de petróleo liviano. En: Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia. Vol. 25, No 2 (ago. 2002). ISSN 0254-0770

SHIMP Robert J. and PFAENDER, Frederick K. Effects of Surface Area and Flow Rate on Marine Bacterial Growth in Activated Carbon Columns. En: Applied and Environmental Microbiology. Vol. 44, no. 2 (aug. 1982); p. 475 - 477.

Textos científicos. Carbón activado. [en línea]. Disponible en:
<http://www.textoscientificos.com/quimica/carbon-activo>

YOUNG, L.Y; and HÄGGBLOM, Max. La microbiología anaeróbica y la biodegradación de compuestos aromáticos. *Biotechnology and Biodegradation. Advances in applied biotechnology*, citado por DELGADO, Jacob, LEÓN, José SUAREZ, Carlos Alberto. Remoción de fenoles mediante la técnica de la biodegradación. Aplicación a Efluentes de Refinería. ECOPETROL – CIB. 1993. p. 44.

YUCEL, Tokuz, R. Biodegradación y remoción de fenoles en un contactor biológico rotatorio. En: *Water Science and Technology*, Vol. 1, no. 12. 1989. p. 1751-1754.

ANEXOS

ANEXO A - COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS AGUAS DE PRODUCCIÓN

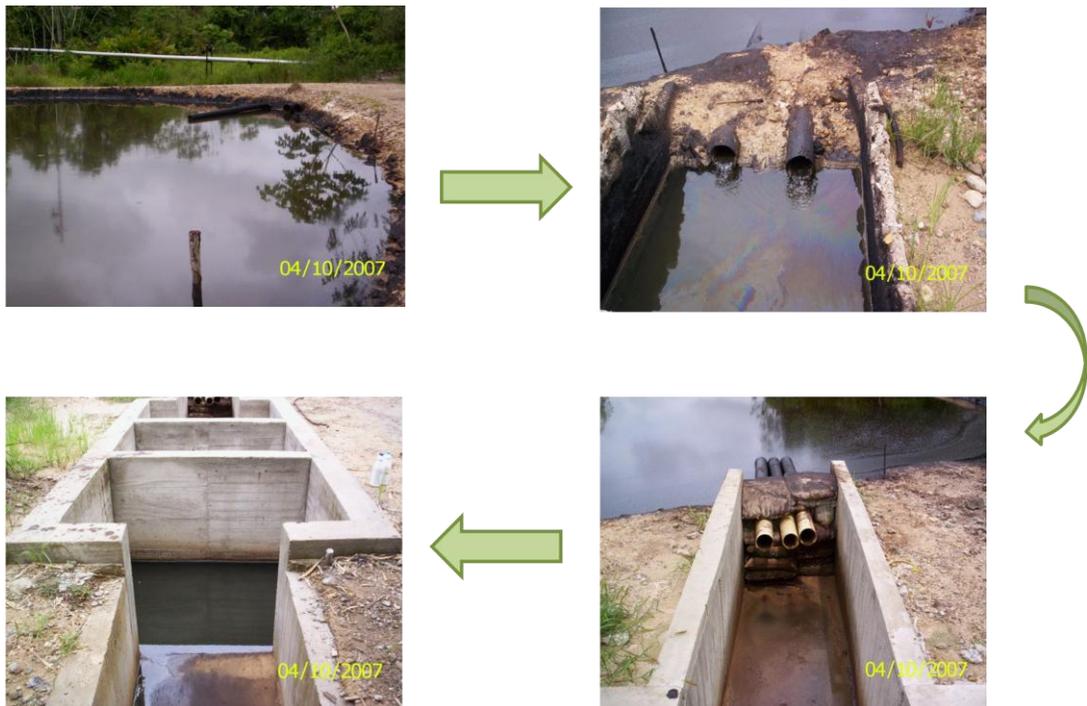
Compuesto	Descripción	Efectos
Sales	De: Calcio Cianuro Magnesio Manganeso	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Las sales de cianuro pueden causar muerte inmediata, dolores de cabeza intensos, sabor amargo y pérdida del olfato y el gusto, mareos y vómitos. ▪ Dificultad respiratoria, angustia, convulsiones, pérdida de conocimiento. ▪ En intoxicación crónica puede dar bocio. ▪ Otros derivados son muy irritantes de piel, ojos y vías respiratorias.
	De Sodio	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La concentración de sales de sodio puede oscilar entre 150 -180.000 ppm (seis veces más salada que el agua del mar - 35,000 ppm). ▪ Esta agua no es apta para el consumo humano o animal, y es letal para las plantas. ▪ Asociadas a sales de sulfato generan severos problemas a la salud y cuadros de intensa diarrea.
	De Cloruro	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Son corrosivas, hacen al agua no apta para consumo humano.
	De Azufre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Son letales para los peces, causan el mal olor y sabor del agua.
Metales pesados	Bario, cromo, mercurio, zinc, arsénico, selenio, plomo, antimonio, cadmio, cobalto, manganeso, vanadio.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Se acumulan en peces y moluscos y pasan a la cadena alimenticia. Al consumirlos se acumulan y pueden producir intoxicación crónica.
Radiactivos	Estroncio 90 Radio 226	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Se pueden acumular en los peces y moluscos.
Hidrocarburos aromáticos	Benceno, Xileno Tolueno Fenol	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Son muy tóxicos y cancerígenos. Se asocian a la producción de malformaciones.
Hidrocarburos policíclicos	Antraceno Pireno Fenantreno Benzopirenos Otros.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Son fuertemente irritantes de la piel, pueden producir cáncer de piel, de testículos y de pulmones.

Gases	Monóxido de carbono (CO) Dióxido de carbono (CO ₂), Ácido Sulfhídrico (SH ₂)	<ul style="list-style-type: none"> Disminuyen la posibilidad de sobrevivencia de los peces en el agua, afectando la vida acuática y las cadenas tróficas.
--------------	--	--

Manual de Monitoreo Ambiental para la industria petrolera. OILWATCH. Red de Resistencia a las actividades petroleras en los países tropicales.

ANEXO B – RUTA DEL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL EN CAMPO PAYOA

El agua residual en PetroSantander (Colombia) Inc., llega a las piscinas de tratamiento después de separarse del crudo y pasar por el sistema de trampas de grasa. En la imagen, se observa el recorrido desde las piscinas hasta la estructura de vertimiento de excesos, la cual funciona en eventos de caudal máximo.



El agua residual es vertida a la quebrada a través de una tubería enterrada en el suelo que lleva el agua desde la cámara de salida de la piscina B hasta el canal natural en roca, y finalmente a la fuente de agua, como se observa en la siguiente imagen.



ANEXO C – FICHA INTERNACIONAL DE SEGURIDAD QUÍMICA PARA EL FENOL

FENOL Hidróxibenceno $C_6H_6O/C_6H_5 OH$ Masa molecular: 94.1 CAS: 108-95-2 RTECS: SJ3325000 ICSC: 0070 NU: 1671 (fenol, sólido) CE: 604-001-00-2			
TIPOS DE PELIGRO/ EXPOSICION	PELIGROS/SINTOMAS AGUDOS	PREVENCION	LUCHA CONTRA INCENDIOS/ PRIMEROS AUXILIOS
INCENDIO	Combustible.	Evitar las llamas. NO poner en contacto con oxidantes fuertes.	Espuma resistente al alcohol, polvo, agua pulverizada, espuma, dióxido de carbono (véanse Notas).
EXPLOSION	Por encima de 79°C: se pueden formar mezclas explosivas vapor/aire.	Por encima de 79°C: sistema cerrado, ventilación.	En caso de incendio: mantener fríos los bidones y demás instalaciones rociando con agua (véanse Notas).
EXPOSICION		¡EVITAR LA FORMACION DE NIEBLA DEL PRODUCTO! ¡HIGIENE ESTRICTA!	¡CONSULTAR AL MEDICO EN TODOS LOS CASOS!
Inhalación	(Síntomas no inmediatos: véanse Notas).	Evitar la inhalación de polvo fino y niebla. Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo, posición de semiincorporado, respiración artificial si estuviera indicada y proporcionar asistencia médica.

Piel	¡PUEDE ABSORBERSE! Quemaduras cutáneas graves (véanse Notas). (Para mayor información, véase Inhalación).	Guantes protectores y traje de protección.	Quitar las ropas contaminadas, aclarar la piel con agua abundante o ducharse y proporcionar asistencia médica (véanse Notas).
Ojos	Pérdida de visión, quemaduras profundas graves.	Pantalla facial o protección ocular combinada con la protección respiratoria.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto, si puede hacerse con facilidad) y proporcionar asistencia médica.
Ingestión	Corrosivo. Dolor abdominal, convulsiones, diarrea, dolor de garganta, coloración oscura de la orina.	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca, NO provocar el vómito, dar a beber agua abundante, reposo y proporcionar asistencia médica. Dar a beber gran cantidad de aceite vegetal, NO agua.
DERRAMES Y FUGAS		ALMACENAMIENTO	ENVASADO Y ETIQUETADO
NO verterlo al alcantarillado, barrer la sustancia derramada e introducirla en un recipiente precintable, recoger cuidadosamente el residuo y trasladarlo a continuación a un lugar seguro. (Protección personal adicional: traje de protección completa, incluyendo equipo autónomo de respiración).		Medidas para contener el efluente de extinción de incendios. Separado de oxidantes fuertes y alimentos y piensos. Mantener bien cerrado en lugar fresco, seco y bien ventilado.	No transportar con alimentos y piensos. Clasificación de Peligros NU: 6.1 Grupo de Envasado NU: II CE: T R: 24/25-34 S: (1/2-)28-45
ICSC: 0070		Preparada en colaboración entre el IPCS y la CCE. © CCE, IPCS, 1991. Versión española traducida y editada por el INSHT	

Fichas Internacionales de Seguridad Química

FENOL

ICSC: 0070

D A T O S I M P O R T A N T E	<p>ESTADO FISICO; ASPECTO Cristales de incoloros a amarillos o ligeramente rosados, de olor característico.</p>	<p>RIESGO DE INHALACION Por evaporación de esta sustancia a 20°C, se puede alcanzar bastante lentamente una concentración nociva en el aire.</p>
	<p>PELIGROS FISICOS El vapor es más denso que el aire y puede extenderse a ras del suelo; posible ignición en punto distante.</p> <p>PELIGROS QUIMICOS Puede explotar por calentamiento intenso por encima de 78°C. La disolución en agua es un ácido débil. Reacciona con oxidantes, originando peligro de incendio y explosión.</p> <p>LIMITES DE EXPOSICION TLV (como TWA): 5 ppm; 19 mg/m³ (piel) (ACGIH 1993-1994). MAK: 5 ppm; 19 mg/m³; (piel) (1994).</p> <p>VIAS DE EXPOSICION La sustancia se puede absorber rapidamente por inhalación del vapor, a través de la piel y por ingestión. El vapor puede ser absorbido!</p>	<p>EFFECTOS DE EXPOSICION DE CORTA DURACION El vapor de la sustancia es corrosiva para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. La inhalación del vapor de la sustancia puede originar edema pulmonar (véanse Notas). La sustancia puede causar efectos en el sistema nervioso central, el corazón y el riñón, dando lugar a convulsiones, alteraciones cardíacas, fallo respiratorio, colapso y coma. La exposición puede causar la muerte. Los efectos pueden aparecer de forma no inmediata. Se recomienda vigilancia médica.</p> <p>EFFECTOS DE EXPOSICION PROLONGADA O REPETIDA El contacto prolongado o repetido con la piel puede producir dermatitis. La sustancia puede afectar al hígado y al riñón.</p>
PROPIEDADES FISICAS	<p>Punto de ebullición: 182°C Punto de fusión: 43°C Densidad relativa (agua = 1): 1.06 Solubilidad en agua, g/100 ml: 7 Solubilidad en agua: Moderada Presión de vapor, Pa a 20°C: 47</p>	<p>Densidad relativa de vapor (aire = 1): 3.2 Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1): 1.001 Punto de inflamación: 79°C (c.c.) Temperatura de autoignición: 715°C Límites de explosividad, % en volumen en el aire: 1.36-10</p>

DATOS	
--------------	--

AMBIENTALES	La sustancia es tóxica para los organismos acuáticos.
NOTAS	
<p>Otros números NU: 2312 (fundido); 2821 (solución). El consumo de bebidas alcohólicas aumenta el efecto nocivo. Está indicado examen médico periódico dependiendo del grado de exposición. Los síntomas del edema pulmonar no se ponen de manifiesto, a menudo, hasta pasadas algunas horas y se ven agravados por el esfuerzo físico. Reposo y vigilancia médica son, por ello, imprescindibles. Debe considerarse la inmediata administración de un aerosol adecuado por un médico o persona por él autorizada. NO utilizar cerca de llamas, de superficies calientes o de operaciones de soldadura. INCENDIO/LUCHA CONTRA INCENDIOS: Los bomberos deberían emplear indumentaria de protección completa, incluyendo equipo autónomo de respiración. EXPLOSION/LUCHA CONTRA INCENDIOS: Los bomberos deberían emplear indumentaria de protección completa, incluyendo equipo autónomo de respiración. INHALACION/SINTOMAS: Sensación de quemazón, tos, vértigo, dolor de cabeza, náuseas, jadeo, vómitos, pérdida del conocimiento. PIEL/SINTOMAS: Efecto anestésico local, convulsiones, shock, colapso, coma, muerte. PIEL/PRIMEROS AUXILIOS: Utilizar guantes protectores cuando se presten primeros auxilios. Para eliminar o neutralizar la sustancia, utilizar polietilenglicol 300 o aceite vegetal. Ficha de emergencia de transporte (Transport Emergency Card): TEC (R)-8A Código NFPA: H 3; F 2; R 0;</p>	

ANEXO D - CARÁCTERÍSTICAS PARA IDENTIFICACIÓN DE HONGOS EN MUESTRAS ESTUDIADAS

Hongo	Característica para identificación
<i>Phoma</i>	Presenta esporas unicelulares e incoloras, los picnidios* son de color negro.
<i>Levaduras</i>	Colonias pastosas, opacas.
<i>Mucor</i>	Colonias blanca, beige, o gris. Crecen varios centímetros en altura. Son de rápido crecimiento, las colonias maduras se vuelven grises o marrones al desarrollar esporas.
<i>Penicillium</i>	Forman conidios** en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides.
<i>Aspergillus</i>	Color en tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales presentan bajo el microscopio cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme. A simple vista las más grandes suelen parecer diminutas alfileres sobre el sustrato
<i>Fusarium</i>	La forma y tamaño de las esporas es la característica principal para el reconocimiento de los fusarios. Las esporas están dispersas en el micelio aéreo o en esporodoquios o masas limosas (pionotos). Los macroconidios son curvados, pluriseptados, con una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie.
<i>Cladosporium</i>	Colonias de color verde oliva a marrones y negras. Forma conidios pigmentadas de negro en cadenas simples o ramificadas.

* Los conidios nacen de los conidióforos, y estos últimos pueden estar agrupados en un haz de hifas entrelazadas formando un conidioma. Los picnidios son un conidioma de tipo globoso o en forma de pera.

** Los conidios o conidiosporas son las esporas asexuadas externas. Cuando están implantadas directamente sobre la hifa se llaman sésiles. La parte del micelio que origina y sostiene a las esporas se denomina esporóforo y si se trata de conidios se dice conidióforo.

ANEXO E – RESULTADOS MONITOREO REALIZADO POR PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC. EN OCTUBRE DE 2007

ANÁLISIS	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA		UNIDADES	METODO DE ANALISIS	DECRETO 1594 DE 1984 (1)	DECRETO 1575 DE 2007 (2)
	ENTRADA PTAR INDUSTRIAL CAMPO PAYOA	SALIDA PTAR INDUSTRIAL CAMPO PAYOA				
pH	7.3	7.4	Unidades	S.M. 4500-H	6.5 – 9.0	5 - 9
TURBIEDAD	99	24	NTU	S.M. 2130	50	5.0
CONDUCTIVIDAD	36500	35700	μS /cm	S.M. 2510	*	1000
SOLIDOS SEDIMENTABLE	0.40	<0.10	mL/L	CONO IMHNOFF	-	AUSENTES
SOLIDOS SUSPENDIDOS	141	24	mg/L	S.M.2540.D	-	AUSENTES
DBO ₅	781	178	mg O ₂ /L	EPA 405,1 S.M. 5210 B	-	AUSENTE
DQO	946	224	mg O ₂ /L	EPA 410,1 S.M. 5220 B	-	AUSENTE

HIDROCARBUROS TOTALES TPH	137	5.9	mgTPH/L	EPA 418.1 S.M.5520	AUSENTES	AUSENTES
NITRATO	13.6	10.6	mg NO ₃ ⁻¹ /L	S.M. 4500-NO ₃ ⁻ .B	10.0	*
CLORUROS	7289	7136	mg Cl- / L	S.M. 4500 – Cl ⁻	250	250
DUREZA TOTAL	1559	1423	mg CaCO ₃ / L	S.M. 2340	500	160
GRASAS Y ACEITES	142	8.4	mg G&A /L	S.M. 5520 - G&A	AUSENTES	AUSENTES
FENOLES	0.15	NO DETECTADO <0.025	mg Fenol /L	S.M. 6420- Phenol	0.2	AUSENTES
ARSENICO	0.16	0.08	mg As /L	S.M.3500 - As	0.5	AUSENTES
BARIO	2.3	0.85	mg Ba /L	S.M.3500 - Ba	5.0	AUSENTES
CADMIO	0.74	0.36	mg Cd /L	S.M.3500 - Cd	0.1	AUSENTES
PLOMO	0.53	0.44	mg Pb /L	S.M.3500 - Pb	0.5	AUSENTES
NIQUEL	0.56	0.34	mg Ni /L	S.M.3500 - Ni	0.5	AUSENTES
COBRE	0.58	0.52	mg Cu /L	S.M.3500 - Cu	1.0	2.0

VANADIO	0.22	0.16	mg V /L	S.M.3500 - V	0.5	AUSENTES
HIERRO	0.63	0.45	mg Fe /L	S.M.3500 - Fe	5.0	0.3

S.M.: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition, 1998, APHA. AWWA, WEF.

(1) Decreto de Vertimientos, valores máximos permitidos

(2) Decreto del agua potable, valores máximos permitidos

Observaciones: * La norma no contempla valores

Análisis realizados por el laboratorio *PSL PROANALISIS LTDA*, acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.

ANEXO F - IDENTIFICACIÓN MACROSCÓPICA DE CAJAS DE CULTIVO DE BACTERIAS

Caja	Cod.	Descripción de caja	Observaciones					
1	a	Muestra transparente, redonda.	cocobacilos -	Muestra mucoide.				
1	f	Muestra de color amarillo claro, redonda, pequeña.	cocobacilos -					
2	b	Muestra blanca, extendida en forma de tapete, con bordes corrugados.	cocobacilos -					
3	f	Muestra de color blanco, transparente, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos fusiformes -	endosporas	Tomar colonia blanca.		
4	d	Muestra de color blanco, opaco, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos -				
5	e	Muestra amarilla y blanca.	cocobacilos -					
6	b	Muestra blanca, redonda y pequeña	cocobacilos -					
6	e	Muestra blanca, redonda y pequeña	cocobacilos -	endosporados				
7	a	Muestra amarilla, redonda y plana.	cocobacilos -	bacilos -				

10	a	Bacteria blanquecina, extendida sobre la caja.	cocobacilos -	bacilos - cortos	bacilos - filamentosos			
12	b	Muestra de color rosa, con elevación de apariencia mucoide.	cocobacilos -			Tomar colonia mucoide.		
13	d	Muestra amarilla, de textura suave, transparente.	cocobacilos -	Interesante				
14	d	Muestra blanca, de textura suave.	cocobacilos -	Mucoide?				
15	a	Muestra blanca, opaca, presenta olor fuerte.	cocobacilos -	Morfología diferente				
15	d	Muestra blanca, con elevación, de tamaño pequeño.	cocobacilos -			Tomar.		
16	a	Muestra de color carmelita, de apariencia transparente, presenta olor fuerte.	cocobacilos -			Tomar.		
18	e	Muestra de color blanco, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos delgados +		bacilos endosporados +		
19	f	Muestra de color blanco, no tiene área definida.	cocobacilos -					
20	a	Muestra de color blanco, translúcido, de forma redonda, tamaño medio.	cocobacilos -	bacilos -	cocos + SARCINA	Tomar		

20	d	Muestra de color blanco, no tiene área definida.	cocobacilos -	DIFERENTE				
21	c	Muestra de color blanco, no tiene área definida.	cocobacilos -	Interesante				
21	d	Muestra de color blanco, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos - tipo klebsiella		Tomar		
21	f	Muestra de color blanco, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos - **	Muestra mucoide.	Tomar		
22	a	Muestra de color blanco y rosa, pequeña.	cocobacilos -	cocos +	bacilos fusiformes -			
22	c	Muestra de color rosa y blanco, no muy definido.	cocobacilos -	bacilos -	bacilos con gránulos metacromáticos +			
22	d	Muestra de color rosa y blanco, no muy definido.	cocobacilos -	bacilo -	bacilos + cortos y en pares	bacilos + delgados fusiformes	bacilos endosporados +	levaduras escasas
25	b	Muestra de color blanco, oscuro, no hay aislamiento.	bacilos -	bacilos - fusiformes	endosporas sueltas			
25	c	Muestra de color blanco, opaco, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos + sueltos	cocos +	levaduras escasas (ACTIVAR)		
26	a	Muestra translúcida, presenta olor fuerte, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos endosporados -	endosporas sueltas	bacilos + delgados	bacilos + con gránulos metacromáticos	bacterias filamentosas
26	c	Muestra rosa claro, pequeña, apariencia mucoide, redonda.	cocobacilos -	bacilos negativos fusiformes	bacilos + delgados	endosporas sueltas abundantes	bacilos endosporados +	Tomar, caja importante.

26	e	Muestra similar a 26a, color blanco/rosa, translúcido.	cocobacilos -	bacilos + con gránulos metacromáticos				
27	c	Muestra similar a 26a, color blanco/rosa, translúcido.	cocobacilos -	bacilos -	bacilos - fusiformes	bacilos + con gránulos metacromáticos endosporados	Tomar, agregar al pool.	
27	d	Muestra translúcida, rosa/amarillo presenta olor fuerte, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos -	bacterias formadoras de mucílago	bacilos +	bacilos endosporados +	
27	f	Muestra translúcida, presenta olor fuerte, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos -	bacilos endosporados + escasos	bacilos + delgados		
28	a		bacilos +	cocos irregulares +	bacilos + con gránulos metacromáticos escasos		Tomar para trabajar.	
28	e		cocobacilos -	cocos + sueltos	bacilos +			
29	b	Muestra de color rosa, apariencia suave, no tiene área definida.	bacilos delgados +	diplococo -	bacilos + tipo corynebacterium		Tomar para trabajar.	
30	d		cocobacilos -	cocos + sueltos	bacilos + cortos y gruesos en forma de V	Bacterias formadoras de mucílago.	Tomar.	
31	e	Muestra de color rosa, opaca, no tiene área definida, presenta olor fuerte.	cocobacilos -	bacilos delgados +	cocos +	cocos en cadena		
32	a		bacilos -	cocobacilos -	cocos + en cadena			

65	f	Muestra blanca, opaca, no tiene área definida.	cocobacilos -	bacilos -	endosporas sueltas	bacilos + endosporados con deformación terminal, palillo de tambor		
66	c	Muestra de color blanco, translúcida, tamaño pequeño, circular y de superficie corrugada.	cocobacilos -	diplococo -	bacilos - con gránulos metacromáticos tipo corynebacterium			
70	c		cocobacilos -	bacilos -	bacilos pleomórficos simosos -			
70	d		cocobacilos -	bacilos -	diplococos -	bacilos en forma de coma		
71	f	Muestra de color blanco, translúcido.	cocobacilos -					
73	a	Muestra de apariencia lisa, color amarillo, opaco.	cocobacilos -	cocos +, parecen estafilococos				
73	d	Muestra de color amarillo claro, translúcida, de apariencia corrugada.	bacilos delgados -	bacilos + muy pleomórficos		Tomar		
73	e	Muestra de color del medio, brillante, translúcida.	cocobacilos -	bacilos + muy pleomórficos		Tomar		

74	d	Muestra de color rosa pálido, opaca, de apariencia corrugada, de forma no definida.		cocos +				
74	e	Muestra de color amarillo blanquecino, de forma redonda.	bacilos -	tetrádas				
75	a		cocobacilos -	bacilos + endosporados	endosporas sueltas bastante subterminales, no deforman el cuerpo del bacilo	bacilos + delgados cortos, diferente a los otros		
75	b	Muestra de color blanco, opaca, abundante.	bacilos +	endosporados +	bacilos delgados -	endosporas	Tomar, con gram +	
76	b	Muestra de color rosa pálido, sin apariencia definida.	cocobacilos -	coco +				
76	e	Muestra redonda, blanquecina, opaca.	cocobacilos -	bacilos - pleomórficos				
76	h		cocobacilos -	bacilos -	bacilos - delgados			
77	a	Muestra de color blanco, apariencia corrugada y opaca.	cocobacilos -	diplococos + lanceolados				
77	e	Muestra de color del medio, mezcla de varias.	cocobacilos -	igual a E	endosporas sueltas	bacilos palillo de tambor		
78	d	Muestra de color del medio, translúcida.	bacilos +	cocos -	cocos +	bacilos - de extremos rectos		

78	e	Muestra de color del medio.	bacilos +	tipo corynebacterium		Tomar, con gram +		
79	f		cocobacilos -	bacilos + delgados	bacilos - en escuadra			
80	d		cocobacilos -			Tomar		
81	e		cocobacilos -	cocos -	bacilos -			
82	a		cocobacilos -					
82	b		cocobacilos -	cocobacilos - encapsulados	bacilos pleomórficos, algunos en forma de V	Tomar, interesante mucilaginoso		
83	g		cocobacilos -	bacilos -	bacilos - con gránulos metacromáticos terminales	bacilos - ligermente curvos		
83	h		cocobacilos -	igual a G				
84	a	Muestra de color blanco, brillante, extendida en el área. OLOR INTENSO	cocobacilos -	bacilos -	bacilos - curvos	bacilos con gránulos metacromáticos en forma de V	Tomar	
84	c	Similar a la anterior, color menos intenso.	cocobacilos -	bacilos -	bacilos - cortos y paralelos	bacilos en espiral		
84	f	Muestra de color del medio, extendido.	bacilos -					
85	a	Muestra de color blanco, opaco, extendida, de olor intenso.	bacilos -	paralelos	bacilos endosporados cortos	cocos -	endosporas sueltas	

85	c		bacilos -	abundantes endosporas	esporas de hongos			
86	b		bacilos +	bacilos - curvados		<i>Pseudomonas (a)</i> <i>Para trabajar, muy interesantes.</i>		
87	d	Muestra de color verde intenso.	cocobacilos -	bacilos -		<i>Pseudomonas (b)</i> <i>Para trabajar.</i>		
88	c	Muestra de color del medio, extendida, apariencia mucilaginosa.	cocobacilos -					
88	e	Muestra de color verde, extendida, mucilaginosa, olor intenso.	cocobacilos -	distinto a otros				
89	e	Muestra de color del medio, de apariencia corrugada.	cocobacilos -	bacilos - delgados con fragmentación	bacterias - filamentosas	bacilos - con gránulos metacromáticos		
90	a	Muestra de color del medio, tamaño pequeño, brillante.	cocobacilos -	bacilos -, regulares		Tomar		
91	a	Muestra de color blanco, sobresale en el medio.	bacilos +	bacilos + en cadena, extremos rectos.	endosporas abundantes	Tomar		
91	b	Muestra de color blanco, extendida.	cocobacilos -	bacilos endosporados	presencia de mucílago	endosporas		
92	a	Muestra de color amarillo, olor intenso, de apariencia corrugada.	diplococo -	cocos - en cadena		Tomar		

93	e	Muestra de color rosa pálido, brillante, de forma redonda, sobresale del medio.	bacilos +	con gránulos metacromáticos		Tomar		
94	a	Muestra de color rosa pálido, opaca, cubre toda la caja.	bacilos +	endosporados en cadenas cortas de a 2 con gránulos metacromáticos	endospora subterminal			
95	c	Muestra redonda, de color curubo, opaca.		cocos +	cocos irregulares			

ANEXO G - IDENTIFICACIÓN MACROSCÓPICA DE CAJAS DE CULTIVO DE HONGOS

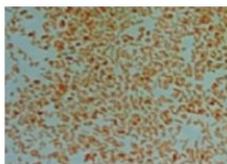
Caja	Cod.	Descripción de caja	Nota	Observaciones			
38	a	Blanco, pequeño, exudación transparente, apariencia algodonosa.		microconidias	clamidosporas	levaduras	
38	b	Blanco, algodonoso, centro oscuro-amarillento.		Hifas septadas	microconidias	clamidosporas germinadas	
42	a	Blanco algodonoso, aparente exudación.		clamidosporas de doble pares	microconidias	conidias de doble pared	penicillium, ascos
46	a	Redondo, con apariencia no definida, blanco, con exudación.	Ojo: dematiaceo Producto de picnidiosporas y picnidio	Hifas septadas	microconidias de doble pared	clamidosporas	cleistotecios
51	a	Aterciopelado, verde.		Hifas septadas	Hormodendo		
51	b	Aterciopelado, verde. (Similar al anterior).		cladosporium			
54	b	Blanco, algodonoso, de gran tamaño.	* = macroconidias fusiformes	hifas septadas delgadas	clamidosporas grandes	fusarium	
56	e	Verde, aterciopelado.	Observación anterior: microconidias, hifas septadas delgadas. Trabajar con él.	microconidias	hifas septadas delgadas		
57	a	Blanco, verdoso, aterciopelado.	Para utilizar	cladosporium	conidias en germinación		
58	d	Blanco, algodonoso., centro amarillo.	UTILIZAR: Hepicopu	Hifas septadas	hongo dematiaceo		
60	a	Algodonoso, centro blanco, extendido por	MUCOR, Utilizar	Hifas septadas	esporangiosporas	esporangios	

		toda la caja.					
60	b	Algodonos, blanco.	MUCOR, Utilizar				
63	a	Blanco, algodonoso, cuerpo negro.	Picnidos. Hongo: phoma	Hifas septadas	hongo dematiaceo		
64	a	Gris, verdoso, aterciopleado, abundante en caja.	Para trabajar	cladosporium			
99	a	Blanco, algodonoso.	FUSARIUM: guardar, utilizar	Hifas septadas	clamidosporas	microconidias	macroconidias fusiformes
99	b	Blanco, algodonoso, pequeño, blanco.	Mirar caja para confirmar	microconidias fusiformes formando agrupaciones			
100	a	Pulverulento, verde. Grande, con bordes en extensiones verdes.	Mirar caja para confirmar	Hifas septadas oscuras	Microconidias redondas de bordes estrellados y rugosos, abundantes	hifas anchas de color café oscuro.	
101	a	Amarillo, elevado en la caja, blanco, textura gruesa.	Tener en cuenta	Hifas septadas	nigrosporas		
101	b	Verde, aterciopelado.		hifas septadas verdosas, abundantes	conidias multivariadas	cladosporium	
105	c	Verde algodonoso, superficie blanca.		Hifas septadas	conidias		Hifas septadas de color café, forma parte de cleistotecia
109	a	Blanco, pulverulento.	Aspergillus, utilizar	microconidias			
109	c	Verde, pulverulento, elevado en la caja.	Aspergillus, diferente al anterior. Utilizar	Hifas septadas	microconidias		

118	a	Bacterias con coloración blanquecina-verdosa, aparecen unas estructuras como ramificaciones verdes.	Revisar	bacterias			<i>Pseudomonas</i> (c)
119	a	igual a 118 a	Revisar	bacterias			<i>Pseudomonas</i> (d)
120	a	bacterias, color blanco.	Revisar	bacterias			<i>Pseudomonas</i> (e)

ANEXO H - IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN REACTORES DE LABORATORIO

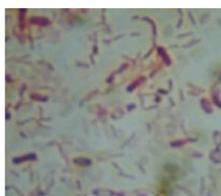
El pool bacteriano, aislado, seleccionado y adaptado, utilizado para la biodegradación del fenol a escala laboratorio, se encontraba integrado por una microbiota diversa, donde sobresalen los siguientes microorganismos: *Bacillus* var I, *Bacillus* var.II, *Bacillus* var.III, *Bacillus* var.IV, *Bacillus* var.V, *Proteus* spp, *Enterobacter* spp., *Lactobacillus* spp., *Diplococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Alkaligenes* spp., *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp., y *Corynebacterium* spp. Este consorcio de microorganismos se encontró formando parte de la biopelícula adherida al lecho de soporte en los reactores ensayados a escala laboratorio. A continuación se muestran algunas imágenes al microscopio.



Alkaligenes spp



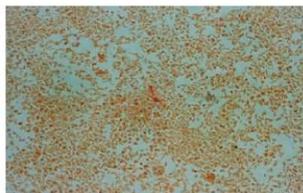
Bacillus var. III



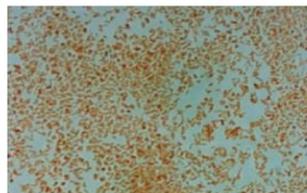
Bacillus var. IV spp



Bacillus var. II spp



Pseudomonas spp



Serratia spp

ANEXO I- MÉTODO NEFELOMÉTRICO DE McFARLAND PARA ESTIMAR NÚMEROS DE BACTERIA

En este método, suspensiones de sulfato de bario son preparadas con diferentes densidades ópticas, las cuales han sido calculadas específicamente para ser comparables con las densidades de suspensiones de bacterias. Para determinar el número de bacterias en suspensiones de cultivos varios, se compara la densidad experimental de la suspensión (absorbancia o transmitancia) con aquella correspondiente al conjunto de patrones de referencia. Los patrones de referencia se preparan adicionando soluciones stock de cloruro de bario acuoso al 1% y ácido sulfúrico acuoso al 1%, en tubos apropiados para el nefelómetro o turbidímetro. Se utilizan diferentes proporciones de las soluciones para preparar un rango amplio de patrones McFarland.

Las cantidades de cada solución stock y sus correspondientes densidades de bacteria se muestran en la tabla:

Partes de BaCl ₂ (1%) en 1 ml	Partes de H ₂ SO ₄ (1%) en 1 ml	UFC (millones/ml)
0.1	9.9	300
0.2	9.8	600
0.3	9.7	900
0.4	9.6	1200
0.5	9.5	1500
0.6	9.4	1800
0.7	9.3	2100
0.8	9.2	2400
0.9	9.1	2700
1.0	9.0	3000

ANEXO J – RESULTADOS ENSAYOS BASE, ETAPA DE OPTIMIZACIÓN

CONCENTRACIÓN AFLUENTE DE FENOL = 2,14 mg/l					
Reactor	Carbón Activado	Tr (h)	Absorbancia (525 nm)	[] mg/l	% Eficiencia
1	+	18	0,326	0,23	89,44
2	+	24	0,348	0,33	84,80
3	-	18	0,452	0,80	62,84
4	-	24	0,373	0,44	79,52
5	+	18	0,392	0,52	75,51
6	+	24	0,383	0,48	77,41
7	-	18	0,345	0,31	85,43
8	-	24	0,372	0,43	79,73
9	+	18	0,351	0,34	84,16
10	-	18	0,357	0,37	82,90
11	+	24	0,369	0,42	80,36
12	-	24	0,387	0,50	76,56

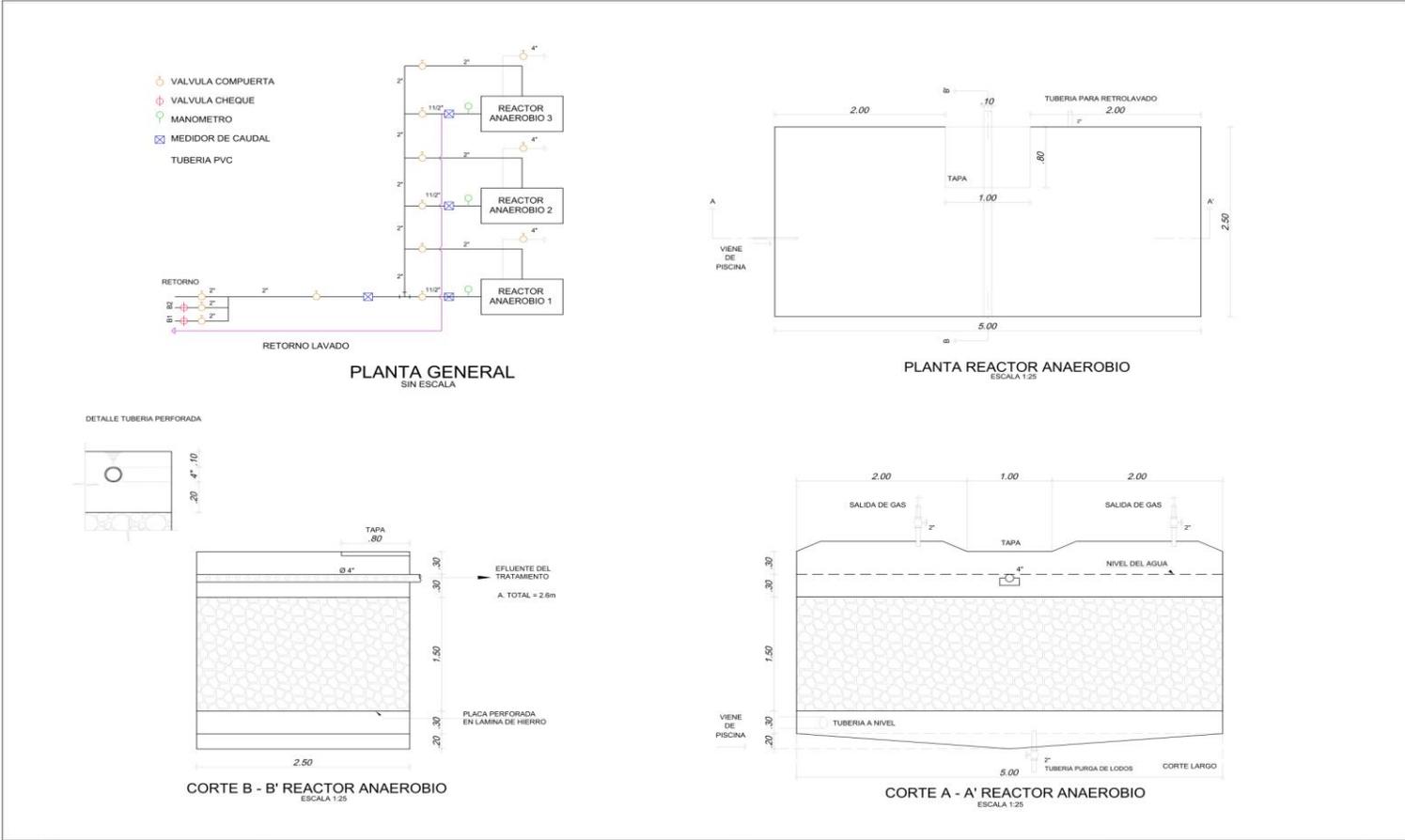
CONCENTRACIÓN AFLUENTE DE FENOL = 6,13 mg/l					
Reactor	Carbón Activado	Tr (h)	Absorbancia (525 nm)	[] mg/l	% Eficiencia
1	+	18	0,470	0,88	85,59
2	+	24	0,611	1,54	74,90
3	-	18	0,725	2,07	66,25
4	-	24	0,761	2,24	63,52
5	+	18	0,681	1,87	69,59
6	+	24	0,583	1,41	77,02
7	-	18	0,601	1,49	75,65
8	-	24	0,660	1,77	71,18
9	+	18	0,686	1,89	69,21
10	-	18	0,603	1,50	75,50
11	+	24	0,378	0,46	92,57
12	-	24	0,867	2,73	55,48

CONCENTRACIÓN AFLUENTE DE FENOL = 9,30 mg/l					
Reactor	Carbón Activado	Tr (h)	Absorbancia (525 nm)	[] mg/l	% Eficiencia
1	+	18	0,544	1,23	86,79
2	+	24	0,689	1,90	79,53
3	-	18	0,815	2,49	73,23
4	-	24	0,857	2,68	71,13
5	+	18	0,703	1,97	78,83
6	+	24	0,674	1,83	80,29
7	-	18	0,862	2,71	70,88
8	-	24	0,597	1,47	84,14
9	+	18	0,459	0,83	91,04
10	-	18	0,491	0,98	89,44
11	+	24	0,591	1,45	84,44
12	-	24	0,307	0,13	98,65

ANEXO K – DETALLES DE LA BOMBA RECOMENDADA PARA EL SISTEMA DE TRATAMIENTO PILOTO

MOTOBOMBA		MOTOR	
Tipo	: CENTRIFUGA	Marca	: WEG
Marca	: IHM HY- FLO	Potencia	: 2.0 HP
Modelo	: 15H - 2TW	Factor de servicio	: 1.15
Construcción	: HIERRO	Velocidad	: 3500 RPM
Rotor	: BRONCE	Fases	: TRES
Diámetro de rotor	: 154 mm	Voltaje	: 220 / 440 VOLTIOS
Eje	: Acero al carbón	Motor Tipo	: Eléctrico – Trifásico
Diámetro Succión	: 1-1/2 " NPT	Protección	: IP 55
Diám. Descarga	: 1-1/2 " NPT	Cerramiento	: TEFC
Sello	: MECÁNICO VITON Carbón Cerámica	Aislamiento	: Clase "F"
Potencia Req	: 1.5 HP		
Líquido Bombeo	: agua+ cloruros		
Caudal Medio	: 15 gal/min		
A.D.T. Media	: 25 PSI.		
Acoplamiento	: MONOBLOQUE		

ANEXO L - SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA BIODEGRADACIÓN DE FENOLES



	SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA BIODEGRADACIÓN DE FENOLES EN UN REACTOR ANAEROBIO DE LECHO FIJO	PLANTA REACTOR ANAEROBIO CORTES REACTOR ANAEROBIO PLANTA GENERAL SISTEMA DE REACTORES DETALLE TUBERIA PERFORADA	REVISADO: _____ DISEÑADO: _____ VERIFICADO: _____ APROBADO: _____
	LUZ ADRIANA PUNTES JACOME	ING. JUAN DIEGO NAVARRO INGENIERIA AMBIENTAL	FECHA: _____ ESCALA: _____ TÍTULO: _____ MATERIA: _____ GRUPO: _____