

## INTEGRIDAD DE LOS BIOGRÁNULOS ANAEROBIOS EXPUESTOS AL FENOL

Magaly Chávez, Donaldo Mejías, Marielba Mas y Rubí,  
Elsa Chacín y Nola Fernández

Dpto. Ingeniería Sanitaria y Ambiental (DISA), Facultad de Ingeniería,  
Universidad del Zulia (LUZ), Apartado 526. Maracaibo 4001, Venezuela.  
E-mail: mjchavezd@hotmail.com

**Resumen.** Se evaluó la integridad de los gránulos anaerobios expuestos al fenol, a una concentración similar a la descrita para aguas de desecho de la industria petrolera. Los biogránulos, obtenidos en un reactor anaerobio a partir de efluentes de una industria cervecera, se alimentaron con fenol ( $40 \text{ mg/L} = 51,2 \text{ DQOe}$ ) durante un período de 192 h, a una temperatura de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se determinaron parámetros convencionales al efluente obtenido: pH, alcalinidad total, DQO, SS mientras que al lodo anaeróbico, parámetros no convencionales: velocidad de sedimentación, fuerza del lodo y contenido de agua. El incremento en la alcalinidad total y el pH constante sugieren un óptimo funcionamiento del sistema anaerobio. La variación en la DQOs indicó que el fenol es utilizado eficientemente por las bacterias presentes en los gránulos; el porcentaje de remoción de este compuesto incrementó desde un 12 a un 84%. La disminución gradual del contenido de agua de los gránulos, 66-33%, evidencia una buena adaptación de las bacterias al sustrato aplicado al sistema, mientras que los NTU obtenidos sugieren un intervalo de sensibilidad de los gránulos, seguido de otro de recuperación de los mismos. La velocidad de sedimentación no presentó variaciones significativas indicando que los gránulos se mantienen compactos, densos y viables durante el tiempo de exposición. Los resultados obtenidos sugieren que el fenol aplicado al sistema no altera la integridad de los biogránulos, debido probablemente a la capacidad de los microorganismos presentes para remover este compuesto orgánico tóxico.

**Palabras clave:** Fenol, integridad del lodo, lodo granular.

---

*Recibido: 11 Septiembre 2002 / Aceptado: 16 Diciembre 2003*  
*Received: 11 September 2002 / Accepted: 16 December 2003*

## ANAEROBIC BIOGRANULAR INTEGRITY WHEN EXPOSED TO PHENOL

**Abstract.** The integrity of the anaerobics granules exposed to phenol was evaluated in a similar concentration to that described for wastewater in the petroleum industry. The biogranules were obtained in an anaerobic reactor from effluents at a brewery industry. They were fed with phenol ( $40 \text{ mg/L} = 51,2 \text{ CODe}$ ) during a period of 192 h, at a temperature of  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Conventional parameters were determined for effluents obtained: pH, total alkalinity, COD, and SS for anaerobic sludge, while non-conventional parameters were obtained for the effluent: speed of sedimentation, force of the sludge and water content. The increment in the total alkalinity and the pH constant suggested an optimum operation of the anaerobic system. The variation in the CODs indicated that the phenol is utilized efficiently by the bacteria present in the granules; the removal percentage (%) of this compound increased from 12 to 84%. The gradual decrease of the water content of the granules, 66-33%, evidenced a good adaptation of the bacteria to the substrate applied to the system, while the NTU obtained suggested a reaction interval of sensibility of the granules, followed by another of recovery of the same. The sedimentation speed did not present significant variations indicating that the granules are maintained compact, dense and viable during exposure time. The results obtained suggest that the phenol applied to the system does not alter the integrity of the biogranules, due probably to the capacity of the microorganisms present to remove this toxic organic compound.

**Key words:** Phenol, sludge integrity, granular sludge.

### INTRODUCCIÓN

Las aguas de desechos de la industria petrolera presentan frecuentemente compuestos fenólicos altamente tóxicos para los microorganismos (Fernández *et al.* 1988, Hajji *et al.* 1999), lo cual se ha relacionado con el fracaso del tratamiento anaerobio de estos efluentes. Sin embargo, la aplicación de un diseño apropiado y la aclimatación bacteriana, para el tratamiento de algunas sustancias orgánicas complejas, podría revertir la susceptibilidad de estos microorganismos a los tóxicos, y originar así cierto grado de tolerancia

a estas sustancias, y finalmente estimular su capacidad de biodegradación (Malina y Pohland 1992).

La toxicidad de los compuestos fenólicos parece estar relacionada con su hidrofobicidad, afectando el funcionamiento de las membranas citoplasmáticas, lo cual puede ser reversible (Ennik *et al.* 1998). Se ha demostrado que la estructura en capas de los gránulos anaerobios podría proporcionar, a las poblaciones microbianas, la capacidad para resistir la acción de las sustancias químicas tóxicas (Bae y Sung 1999).

Las investigaciones sobre la digestión anaerobia se han realizado con la utilización de los parámetros operacionales convencionales tales como: la producción de gases (Lettinga 1995, Riffat *et al.* 1998), los cuales reflejan únicamente las condiciones fisiológicas de la comunidad microbiana, sin considerar la integridad de los gránulos representada por la velocidad de sedimentación, el contenido de agua y la fuerza del lodo (Morgan y Forster 1992). Estas últimas variables tienen incidencias directas sobre el funcionamiento del lodo (Ennik *et al.* 1998).

El objetivo del presente trabajo es evaluar la integridad de los biogránulos expuestos al Fenol, a una concentración similar a la descrita para las aguas de formación producidas por la industria petrolera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El lodo granular, mesófilo (temperatura óptima de crecimiento de 37°C) se obtuvo en un reactor anaerobio con manto de lodo en flujo ascendente (UASB, en inglés) mediante el tratamiento de efluentes de una industria cervecera en Maracaibo, Venezuela.

Los biogránulos obtenidos se lavaron con una solución buffer ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$ , pH 7,2) y se prealimentaron con agua residual sintética (con 1000 mg/L de glucosa monohidratada como única fuente de carbono) (Lettinga 1995) en un reactor por carga anaerobio de 3 L, con un tiempo de retención para la fase líquida de 24 h, durante un periodo de 15 días.

Posteriormente, el lodo granular se colocó en tubos de ensayos en una cantidad que representa el 30% del volumen total (50 mL) y se suministró una solución de fenol (40 mg/L); la fase líquida se renovó cada 24 horas durante un periodo de tiempo total de 192 horas. Todos los tubos se colocaron en un baño de recirculación a una temperatura de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Las muestras tanto de la fase líquida como del lodo se colectaron con intervalos de tiempo de 24 h.

El efluente obtenido se analizó por medio de las variables: pH, alcalinidad total (mgCaCO<sub>3</sub>/L), Demanda Química de Oxígeno (DQO, mg/L), Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV, mg/L) y Totales (SST, mg/L), como parámetros operacionales convencionales, siguiendo la metodología APHA (1998).

El lodo expuesto al fenol se utilizó para las siguientes determinaciones de los parámetros operacionales no convencionales, relacionados con la integridad de los gránulos: la velocidad de sedimentación (m/s), la fuerza del lodo (NTU) y el contenido de agua (%) (Guiot *et al.* 1992, Morgan y Forster 1992, Francese *et al.* 1998). Para la evaluación estadística de esta investigación se realizó un análisis de varianza de una vía utilizando el programa estadístico Stat Most versión para Windows 3.0.

## RESULTADOS y DISCUSIÓN

Los parámetros operacionales convencionales de la digestión anaerobia de los biogránulos expuestos al fenol se presentan en la Tabla 1. Las variaciones del pH (6,8-7,5) se mantuvieron dentro del rango metabólico óptimo de los microorganismos (Lettinga 1995); por ello se asume que su estado fisiológico no se alteró durante las 192 h de exposición al fenol. Se observó un incremento gradual de la alcalinidad total (80-220 mg/L CaCO<sub>3</sub>), la cual se ha reportado que contribuye a mantener el pH estable dentro del sistema anaerobio (Young y Yang 1989).

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) y totales (SST) presentaron pocas variaciones, el valor más alto fue de 90 mg/L  $\pm$  10, para

TABLA 1. Parámetros operacionales convencionales de la digestión anaerobia de los biogránulos expuesto al fenol.

Tiempo (h)	pH	Alcalinidad Total (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)	Sólidos suspendidos totales (mg/L)
24	7,5±0,8	80±10	50±10	10±10
48	7,2±0,6	100±10	50±5	20±5
72	6,9±0,9	120±10	60±10	60±10
96	6,9±0,5	160±10	90±5	50±5
120	6,8±0,8	140±10	50±10	90±10
144	6,9±0,9	180±10	56±5	30±5
168	7,0±0,1	200±10	50±10	30±10
192	6,8±0,2	220±10	30±5	20±5

ambos parámetros (Tabla 1). Melin *et al.* (1998) reporta que los SSV y SST menores de 100 mg/L no son indicadores confiables de la desadherencia de los gránulos. Por otra parte, se ha reportado que el incremento de este parámetro es ocasionado por los ajustes en el tiempo de retención, entre otros factores; conduciendo a la salida de las partículas finas del reactor (Lettinga 1995). Estas consideraciones indican que la evaluación de los sólidos suspendidos no es suficiente para discriminar la integridad de los gránulos.

La concentración de materia orgánica estimada por medio de la DQO en la fase líquida, DQOe y DQOs, se usa como un indicador del desempeño de los microorganismos anaerobios presentes en el lodo expuesto al Fenol (40 mg/L = 51,2 mg/L DQOe). Se observó una disminución gradual de la DQOs (Fig. 1), lo cual se relaciona directamente con el potencial de biodegradación anaerobio del lodo; a las 24 h se registró un valor de DQOs de 44,63 mg/L, en el intervalo de tiempo de 72 a 120 h se mantuvo relativamente estable, próximo a 40 mg/L, mientras que a las 192 h alcanzó el nivel más bajo (7,34 mg/L). Este comportamiento indica que el Fenol aplicado al

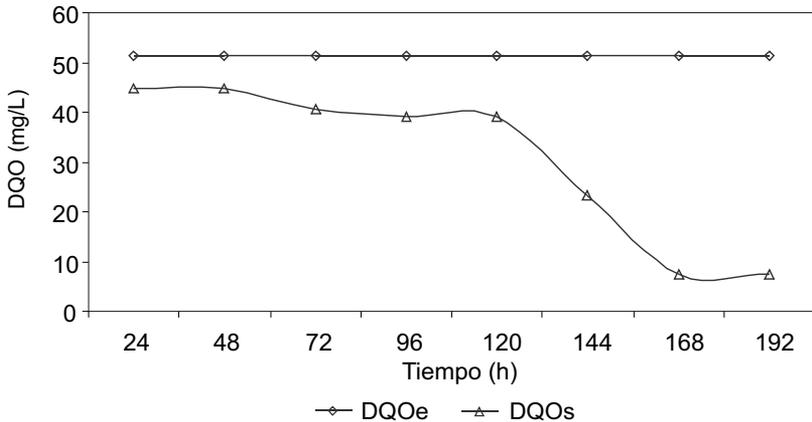


FIGURA 1. Variación de la concentración del Fenol a la entrada y salida del sistema anaerobio. DQOe: Demanda química de oxígeno a la entrada. DQOs: Demanda química de oxígeno a la salida.

sistema es eficientemente utilizado por las bacterias presentes en los gránulos, bajo las condiciones establecidas en esta experimentación.

Malina y Pohland (1992) han reportado que aun cuando una sustancia se ha establecido como tóxica, las aguas de desechos que las contengan podrían ser tratadas eficientemente, puesto que los microorganismos anaerobios pueden desarrollar una tolerancia a esas sustancias. Así mismo con un adecuado periodo de aclimatación, algunos inhibidores orgánicos pueden ser biodegradados y la susceptibilidad a esos tóxicos puede con frecuencia ser revertida; este hecho representa un rol clave debido a que la sustancia degradable no causará riesgos prolongados en el ambiente, como lo señala Pagga (1997).

El porcentaje de remoción del fenol (24%), estimado a partir de los DQOe y DQOs, se mantuvo con poca variabilidad durante un periodo de 120 h (Fig. 2); a partir de 144 h se observó una tendencia al aumento hasta el final de la experimentación, desde un 55 hasta 86%. Estos resultados sugieren que existe una fase de aclimatación para la degradación del Fenol, la cual Fang y Chang (1997) reportan como un periodo de arranque prolongado durante el cual la microestructura en capas de los gránulos permite la protección de las bacterias in-

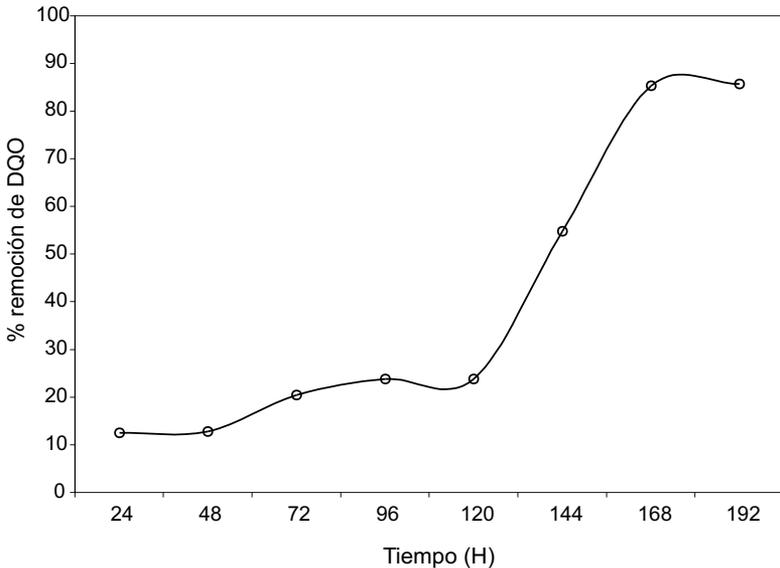


FIGURA 2. Remoción del fenol por los microorganismos anaerobios.

ternas. Los resultados de esta investigación coinciden con los reportados por Bae y Sung (1999), quienes indican que la biodegradación de los compuestos monoaromáticos es posible en condiciones anaerobias.

Durante las 192 h de experimentación se observó una disminución gradual del contenido de agua, desde un 66 hasta 33% (Fig. 3); esta tendencia evidencia una buena adaptación de las bacterias al sustrato aplicado al sistema. Este hecho se relaciona en forma inversamente proporcional con la densidad celular en el gránulo (Wu *et al.* 1987, Morgan y Forster 1992, Lettinga 1995). Schmidt y Ahring (1995) propusieron que la elevada densidad de las células bacterianas, que conforman el gránulo, minimiza la distancia entre las especies favoreciendo el metabolismo anaerobio.

Los niveles de turbidez, durante el periodo de 72 a 120 h, alcanzan un valor máximo (27 NTU) (Fig. 4), lo cual sugiere que existe un intervalo de sensibilidad o debilidad de los gránulos; esto podría conducir a la desintegración de los mismos. Posteriormente, los ni-

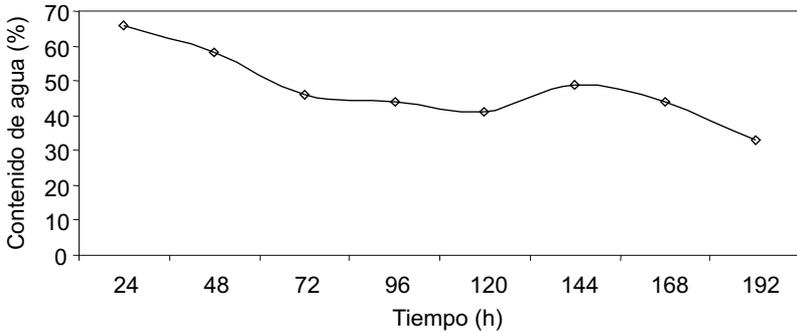


FIGURA 3. Contenido de agua (%) en el lodo granular expuesto al fenol.

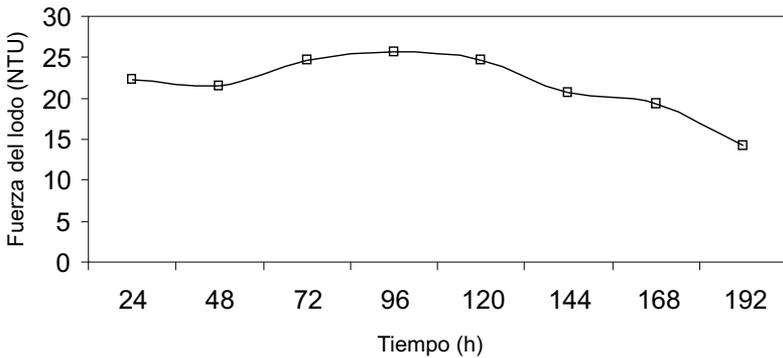


FIGURA 4. Niveles de turbidez (NTU) en el lodo expuesto al fenol.

veles de turbidez disminuyen hasta 14,2 NTU, a las 192 h (Fig. 4), lo cual podría estar relacionado con un incremento en la fuerza del lodo, reflejando la capacidad de los microorganismos de recuperar la estructura en capas de los gránulos.

La velocidad de sedimentación de los gránulos expuestos al fenol no presentó variaciones resaltantes de acuerdo con la desviación estándar calculada, alcanzando un valor promedio de 0,035 m/s (Fig. 5). Esta situación sugiere que los gránulos se mantienen compactos, densos y viables, con mayores probabilidades de mantenerse dentro del sistema, lo cual conduce a la retención de la biomasa en los reactores anaerobios.

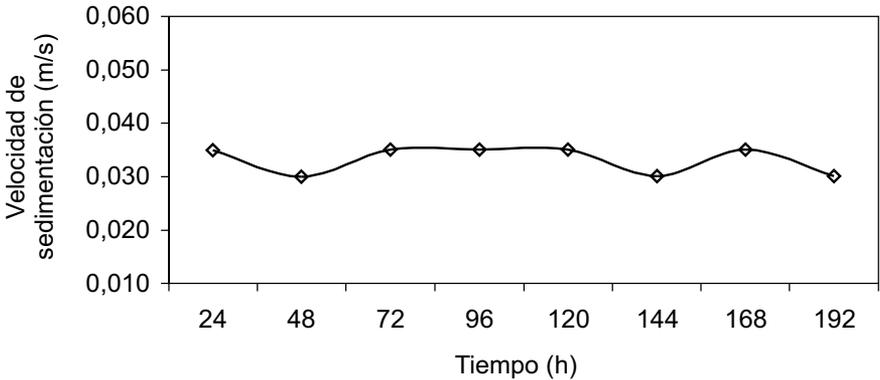


FIGURA 5. Velocidad de sedimentación del lodo granular expuesto al fenol.

## CONCLUSIONES

El fenol aplicado al lodo anaerobio no altera la integridad de los biogránulos, debido probablemente a la capacidad de los microorganismos presentes para degradar este compuesto orgánico tóxico.

## LITERATURA CITADA

- APHA. 1998. Standard methods for examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup> edition. American Public Health Association. 1015 Fifteenth Street, N.W. Washington, D.C.USA.
- BAE J. y L. SUNG. 1999. Layered structure of UASB granules gives microbial populations resistance to toxic chemicals. *Biotechnology Letters* 21(2): 159-162.
- ENNIK K., A. LOUWERSE, W. ROELOFSEN y A. STAMS. 1998. Influence of monochlorophenols on methanogenic activity in granular sludge. *Water Research* 32 (10): 2977-2982.
- FANG H. y O. CHANG. 1997. Toxicity of phenol towards anaerobic biogranules. *Water Research* 31 (9): 2229-2242.

- FERNÁNDEZ N., E. CHOURIO y C. GARCÍA. 1988. Comparación de modelos de difusión en la cinética de adsorción de Fenol en fase acuosa. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Zulia* 11 (2): 99-110.
- FRANCESE A., P. CÓRDOBA, J. DURÁN y F. SIÑERIZ. 1998. High upflow velocity and organic loading rate improved granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactors. *World Journal of Microbiology Biotechnology* 14 (3): 337-314.
- GUIOT S., S. ROCHELEAU, J. HAWARI y R. SAMSON. 1992. Induction of granulation by sulphonated-lignin and calcium in an upflow anaerobic sludge bed reactor. *Journal of Chemistry Technology and Biotechnology* 53: 45-56.
- HAJJI K., F. LÉPINE, J. BISAILLON y R. BEADET. 1999. Simultaneous removal of phenol, ortho- and para- cresol by mixed anaerobic consortia. *Canadian Journal of Microbiology* 45: 318-325.
- LETTINGA G. 1995. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antonie van Leeuwenhoek* 67: 3-28.
- MALINA J. y F. POHLAND. 1992. Design of anaerobic process for the treatment of industrial and municipal wastes. Vol. 7. *Water Quality Management Library*. Editorial Technomic. USA. p. 213.
- MELIN E., K. JÖRVINEN y J. PUHAKKA. 1998. Effects of temperature on chlorophenol biodegradation kinetics in fluidized-bed reactors with different biomass carriers. *Water Research* 32 (1): 81- 90.
- MORGAN J. y C. FORSTER. 1992. A comparative study of the sonication of anaerobic and activated sludges. *Journal of Chemistry Technology and Biotechnology* 55 (1): 53-58.
- PAGGA U. 1997. Testing biodegradability with standardized methods. *Chemosphere* 35 (12): 2953-2972.
- RIFFAT R., W. SAJJAD, y S. DADARAT. 1998. Anaerobic processes. *Water Environmental Research* 70 (4): 518-540.
- SCHMIDT J. y B. AHRING. 1995. Granulation in thermophilic upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Antonie van Leeuwenhoek* 68: 339-344.

- WU W. J. HU, X. GU, Y. ZHAO, y H. ZHANG. 1987. Cultivation of anaerobic granular sludge in UASB reactors with aerobic activated sludge as seed. *Water Research* 21 (7): 789-799.
- YOUNG J. y B. YANG. 1989. Design considerations for full-scale anaerobic filters. *Journal Water Pollution Control Federation* 61: 1576-1585.