

**DEGRADACIÓN BIOLÓGICA DE FENOL UTILIZANDO TÉCNICAS
RESPIROMÉTRICAS**

María Elisa Albertario¹: Ingeniera Química de la Universidad Nacional de La Plata, becaria de ANPCyT.

Edgardo M. Contreras¹: Bioquímico y Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, Investigador Asistente del CONICET y docente de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP, Argentina.

Nora C. Bertola¹: Ingeniero Químico y Doctor en Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata, Investigador Adjunto del CONICET, Profesor de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP, Argentina.

Noemi E. Zaritzky^{1,2}: Ingeniero Químico de la Universidad Nacional de La Plata y Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires, Investigador Principal del CONICET, Profesor Titular de la Facultad de Ingeniería de la UNLP, Argentina. Director del Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA).

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) - CONICET - Fac. de Ciencias Exactas. ²Fac. de Ingeniería - UNLP.
47 y 116 (1900) La Plata, Argentina.
e-mail: nbertola@ing.unlp.edu.ar

RESUMEN

El fenol es un constituyente común de las aguas residuales originarias de varias industrias. Es tóxico aun a bajas concentraciones y es por ello que son necesarios métodos de tratamiento eficientes para reducir la concentración de fenol en las aguas residuales a niveles aceptables. En la provincia de Buenos Aires el límite de descarga en agua superficial es de 0.5 mg/L (Res. N° 287). De los muchos métodos existentes aplicables para la degradación de fenol, el tratamiento biológico es especialmente recomendable porque tiene un potencial capaz de degradar casi completamente el fenol generándose productos finales inocuos.

Los objetivos del presente trabajo fueron analizar la degradación biológica de fenol utilizando barros activados aclimatados y no aclimatados a dicho sustrato y determinar los parámetros cinéticos y estequiométricos correspondientes utilizando medidas respirométricas.

Se utilizaron reactores semi-continuos a escala laboratorio para generar barros activados aclimatados y no aclimatados a fenol. Para evaluar el efecto del fenol sobre la respiración microbiana se utilizó un respirómetro cerrado. Se llenó el reactor con barros (aclimatados o sin aclimatar) previamente lavados y resuspendidos en buffer de pH=7 y se agregaron distintos pulsos de fenol a fin de obtener valores de concentración entre 20 y 4000 mg/L. Se representó la concentración de oxígeno en función del tiempo y de la pendiente se obtuvo el valor de velocidad de respiración. En el caso de la biomasa no aclimatada se observó que el fenol produce un efecto de inhibición sobre los microorganismos a concentraciones mayores a 20mg/L. Para la biomasa aclimatada se observó un rápido ascenso en la velocidad de respiración e inmediatamente una disminución a medida que la concentración de fenol aumentaba. Se ajustaron los datos de velocidad de respiración a la ecuación de Haldane, que contempla inhibición por sustrato, obteniéndose los siguientes valores para las constantes cinéticas: $q_{O_2}^* = 0.047 \text{ mgO}_2 \cdot \text{mgDQO}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $K_s = 14.04 \text{ mgfenol/L}$ y $K_i = 1912.09 \text{ mgfenol/L}$.

Por otra parte se realizaron ensayos utilizando un respirómetro abierto para obtener el coeficiente de oxidación del fenol obteniéndose un valor de $Y_{O/S} = 0.74 \text{ mgO}_2/\text{mgfenol}$.

PALABRAS CLAVES: degradación de fenol, respirometría, barros activados

INTRODUCCIÓN

Existen evidencias de la presencia de fenoles en el Río de La Plata los cuales no pueden ser depurados por el sistema de potabilización tradicional actualmente en uso (Anónimo, 1992). Dichas sustancias pueden generar compuestos cancerígenos con serias implicancias para la salud de la población. Los fenoles llegan a los cursos de agua como efluentes de algunas industrias, tales como las de plásticos, fibras sintéticas, refinerías de petróleo, detergentes, pesticidas, pinturas, farmacéuticas, etc. En la provincia de Buenos Aires el límite de descarga en agua superficial es de 0.5 mg/L (Res. N° 287).

Procesos fisicoquímicos como adsorción sobre carbón activado y procesos biológicos se utilizan frecuentemente para eliminar el fenol y sus derivados de aguas residuales (Annaduraia y col., 2002). Muchas bacterias aeróbicas son capaces de usar compuestos aromáticos como fuente de carbono y energía. Una típica ruta para metabolizar un compuesto aromático es dihidroxilar el anillo de benceno para formar un derivado de catecol y luego abrir el anillo por oxidación (Karegoudar y Kim, 2000).

La mayoría de los estudios realizados sobre la biodegradación de fenol se llevaron a cabo en cultivos puros de microorganismos bajo condiciones de esterilidad (Kumaran y Paruchuri, 1997, Yan y col., 2005). Solamente unos pocos trabajos han sido realizados utilizando cultivos mixtos. Melo y col. (2005) usaron barros activados aclimatados para estudiar la degradación de fenol en reactores discontinuos y en sistemas continuos de discos rotativos. Amor y col. (2005) analizaron la biodegradación de fenol y su efecto sobre la nitrificación utilizando barros activados bajo condiciones aeróbicas. Observaron que el fenol fue completamente biodegradado en cultivos batch con concentraciones iniciales en el rango de 100 a 2500 mg/L. Orupold y col. (2001) investigaron la oxidación de fenol y otros compuestos fenólicos a través de medidas respirométricas utilizando barros activados no aclimatados. Goudar y col. (2000) también estudiaron la biodegradación de fenol en reactores batch usando un cultivo mixto adaptado a fenol. Estos autores utilizaron concentraciones iniciales de fenol en el rango de 100 a 1300 mg/L observando la inhibición de la biodegradación del fenol a altas concentraciones.

La información sobre la cinética microbiana resulta necesaria para el adecuado diseño y operación de los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales. Existe gran cantidad de literatura respecto a estudios cinéticos sobre desarrollo de bacterias, particularmente aplicando la ecuación de Monod. El modelo de Monod se ha utilizado extensamente para estimar las constantes cinéticas para el crecimiento de bacterias utilizando sustratos no inhibitorios (Kumaran y Paruchuri, 1997, Goudar y col., 2000, Orupold y col., 2001). Sin embargo la velocidad específica de crecimiento de especies que pueden desarrollar a partir de sustancias tóxicas tiende a aumentar cuando aumenta la concentración del sustrato (relación tipo Monod) pero también tiende a disminuir debido al efecto inhibitorio del sustrato cuando la concentración de este se incrementa. Una de las ecuaciones frecuentemente utilizada para ajustar los datos experimentales es similar a la desarrollada para reacciones de cinética enzimática por Haldane (Haldane, 1930, Andrew, 1968, Kumar y col., 2005). Los objetivos del presente trabajo fueron analizar la degradación biológica de fenol utilizando barros activados aclimatados y no aclimatados a dicho sustrato y determinar los parámetros cinéticos y estequiométricos correspondientes utilizando medidas respirométricas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Biorreactores y condiciones de cultivo

Se utilizaron reactores semi-continuos a escala laboratorio de 2.5 L para generar barros activados aclimatados y no aclimatados a fenol. El sistema de aireación consistía en una bomba con un caudal de 1 L/min. En el caso de los microorganismos sin aclimatar la alimentación de los reactores fue con un efluente sintético cuyos componentes se encuentran descriptos en la Tabla I. Para los microorganismos aclimatados se utilizó un medio basal conteniendo fenol como única fuente de carbono, el cual se muestra en la Tabla II (Nuhoglu y Yalcin, 2005). Para ambos casos, biomasa aclimatada y sin aclimatar, el tiempo de residencia celular fue mantenido en 60 días y el tiempo de residencia hidráulico en 2 días. En todos los casos la concentración de biomasa se determinó como DQO (Contreras y col., 2002) utilizando un sistema de refluo cerrado (Hach cop., Loveland). La concentración de fenol fue evaluada espectrofotométricamente por el método de Folin-Ciocalteu usando un espectrofotómetro Hach a una longitud de onda de 760nm (Tziotzios y col., 2005).

Tabla I. Medio de cultivo correspondiente a los microorganismos no aclimatados

Constituyentes	Concentración (mg/l)
Suero de queso deshidratado	1500
Sulfato de Amonio, (NH ₄) ₂ SO ₄	940
Bicarbonato de Sodio, HNaCO ₃	1030

Tabla II. Medio de cultivo correspondiente a los microorganismos aclimatados

Constituyentes	Concentración (mg/l)
Sulfato de Amonio, (NH ₄) ₂ SO ₄	227
Sulfato de Magnesio, MgSO ₄ .7H ₂ O	100
Cloruro Férrico, FeCl ₃	0.5
Sulfato de Manganeso, MnSO ₄ .H ₂ O	100
Cloruro de Calcio, CaCl ₂	7.5
Fosfato de Potasio (monobásico), KH ₂ PO ₄	250
Fosfato de Potasio (dibásico), K ₂ HPO ₄	500
Fenol	300

Aclimatación de los Barros Activados

Los microorganismos fueron primero desarrollados en un medio sintético conteniendo suero de queso deshidratado (Tabla I). El cultivo fue aclimatado disminuyendo el contenido de suero de queso deshidratado hasta ser reemplazado totalmente por el medio conteniendo sales minerales y fenol como única fuente de carbono (Tabla II). El contenido de fenol se fue incrementando gradualmente desde 5mg/L de fenol hasta llegar a 300mg/L. Los microorganismos se consideraron aclimatados cuando la medida de la concentración de fenol se mantuvo constante durante un período de tiempo de una semana.

Métodos respirométricos

Con el fin de evaluar el efecto del fenol sobre la respiración microbiana, se utilizó una técnica respirométrica, realizándose experiencias en un respirómetro abierto y en uno cerrado. Los respirómetros estaban compuestos por un biorreactor de 700ml, un medidor de oxígeno disuelto (YSI Modelo 58), un aireador, agitación magnética y control de temperatura (25°C). El electrodo de oxígeno fue calibrado en una atmósfera saturante de oxígeno y los datos fueron adquiridos mediante un microprocesador con una frecuencia de 1 dato/seg.

Para los ensayos de respirometría abierta se llenó el respirómetro con un volumen conocido (500ml) de la suspensión de microorganismos aclimatados y se ajustó la agitación, el caudal de aireación y la temperatura a los valores deseados. La muestra se acondicionó para que no hubiera sustrato oxidable antes de iniciar las mediciones, mediante el lavado del cultivo con buffer fosfato de pH=7, asimismo se aireó la muestra hasta que los propios microorganismos consumieran todo el sustrato presente. La concentración de biomasa utilizada en estos ensayos fue de 1300 ± 200 mgDQO/L. Mediante un método dinámico (Roš, 1993) se determinó el coeficiente global de transferencia de oxígeno (K_La), la velocidad de respiración endógena (OUR_{en}) y la concentración de oxígeno disuelto de saturación en condiciones experimentales (C_s). Se calibró el electrodo y se determinó la velocidad de respiración exógena (OUR_{ex}), que se produce como respuesta al agregado de sustrato.

Cuando se agrega un pulso de sustrato (fenol) la velocidad de respiración aumenta y consecuentemente la concentración de oxígeno disuelto (OD) disminuye. El balance de materia para el oxígeno disuelto (OD) en el respirómetro resulta (Vanrolleghem y col., 1994):

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_s - C) - OUR_T \quad (1)$$

donde C es la concentración de OD y OUR_T es la velocidad de respiración total. Teniendo en cuenta que:

$$OUR_T = OUR_{en} + OUR_{ex} \quad (2)$$

se obtiene:

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_s - C) - OUR_{en} - OUR_{ex} \quad (3)$$

Reordenando la ecuación (3) se obtiene la expresión que permite calcular OUR_{ex} para todo instante del experimento. El oxígeno consumido (OC, mg/L) durante la oxidación del sustrato se calcula mediante la siguiente expresión (Vanrolleghem y col., 1994):

$$OC = \int OUR_{ex} dt \quad (4)$$

A partir del valor de OC obtenido para cada concentración de sustrato agregado (S_0) se puede hallar el coeficiente de oxidación del fenol ($Y_{O/S}$) como:

$$Y_{O/S} = \frac{OC}{S_0} \quad (5)$$

Para los ensayos de respirometría cerrada se llenó el reactor con 500ml de barros (aclimatados o sin aclimatar) previamente lavados y resuspendidos en buffer de pH=7. Los barros fueron aireados hasta llegar a condiciones saturantes de oxígeno y se agregaron distintos pulsos de fenol con el fin de obtener valores de concentración entre 25 y 4000 mg/L. La concentración de biomasa utilizada en los experimentos de respirometría cerrada fue de 3000 ± 200 mgDQO/L.

Para el caso particular de un respirómetro cerrado la ecuación (1) puede escribirse como:

$$\frac{dC}{dt} = - OUR_T = - (OUR_{en} + OUR_{ex}) \quad (6)$$

Se graficó la concentración de oxígeno en función del tiempo y de la pendiente se obtuvo el valor de velocidad de respiración. Se determinó la velocidad de respiración exógena (OUR_{ex}), que se produce como respuesta al agregado de un pulso de sustrato (S), restando al valor de OUR hallado el valor obtenido para la velocidad de respiración endógena (concentración de fenol = 0). Además se calculó un índice de inhibición para cada concentración de fenol utilizada mediante la siguiente ecuación:

$$\%inhibición = \frac{OUR_{en} - OUR_T}{OUR_{en}} * 100 \quad (7)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respirometría abierta

Calibración del respirómetro

La calibración es clave para el correcto cálculo de los parámetros cinéticos y estequiométricos. En éste trabajo se seleccionó el método en estado estacionario (método dinámico) utilizando un electrodo para la medición continua de la concentración de oxígeno disuelto. Este método tiene una gran ventaja ya que la determinación es rápida, precisa y se realiza en las condiciones de

operación del experimento.

La calibración debe hacerse experimentalmente en una etapa previa al ensayo, con el objetivo de determinar K_{La} , C_s y OUR_{en} para poder aplicar las ecuaciones (3) y (4) y así obtener OUR_{ex} y OC. La calibración se realizó en dos etapas, primero se llenó el reactor con 500ml de barros activados aclimatados y se ajustaron las condiciones de agitación, aireación y temperatura. Una vez que los microorganismos agotaron el sustrato, se llega a las condiciones de respiración endógena ($OUR_T = OUR_{en}$). En éste momento se interrumpe la aireación y se registra el descenso de la concentración de OD en función del tiempo (Figura 1, Etapa I). Es importante aclarar que el ingreso de oxígeno desde la superficie puede ser significativo, observándose una disminución no lineal de la concentración de OD en función del tiempo. Integrando la ecuación (3) se obtiene la siguiente expresión:

$$C = C_s - \frac{OUR_{en}}{K_{La1}} - \left(C_s - C_i - \frac{OUR_{en}}{K_{La1}} \right) \exp^{-K_{La1} t} \quad (8)$$

donde C_i es la concentración de OD para $t=0$ y K_{La1} el valor de K_{La} en la Etapa I correspondiente al ingreso de oxígeno por agitación (sin burbujeo de aire).

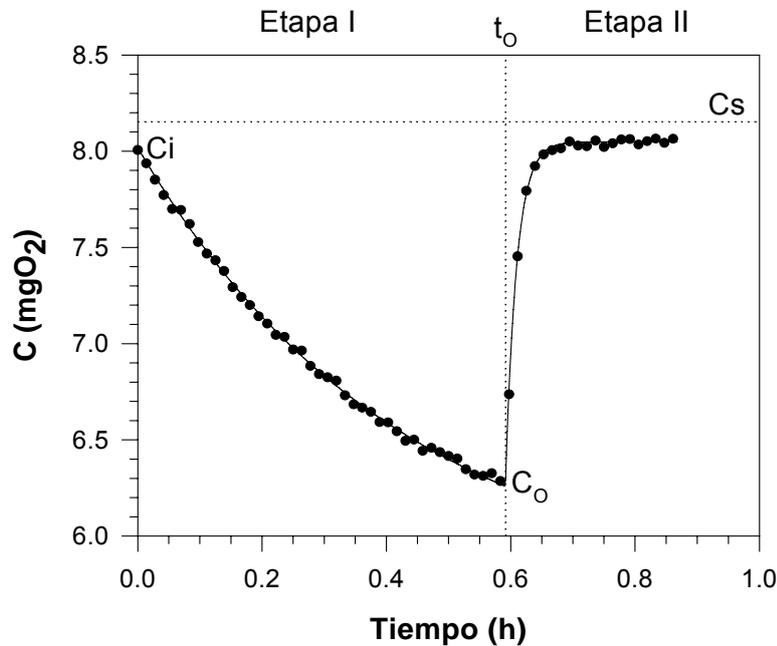


Figura 1. Calibración del respirómetro abierto mediante el método dinámico.

(●) Datos experimentales, (—) Ecs. (8) y (9).

A un cierto tiempo t_0 se conecta la aireación y se registra el aumento de la concentración de OD en función del tiempo (Figura 1, Etapa II). En este caso la integración de la ecuación (3) resulta en una expresión similar a la anterior:

$$C = C_s - \frac{OUR_{en}}{K_{La2}} - \left(C_s - C_0 - \frac{OUR_{en}}{K_{La2}} \right) \exp^{-K_{La2} (t - t_0)} \quad (9)$$

donde C_0 es la concentración de OD cuando $t=t_0$ y K_{La2} el valor de K_{La} correspondiente a las condiciones de operación con el aireador encendido (Etapa II). Estas dos ecuaciones fueron ajustadas a los datos experimentales mediante regresión no lineal utilizando el programa Sigma Plot 2.0, pudiendo obtenerse los valores de C_i , C_s , OUR_{en} , K_{La1} y K_{La2} . Cabe aclarar que en

nuestro trabajo el valor de K_{La1} fue cero en todas las respirometrías realizadas.

Determinación del coeficiente de oxidación

Para analizar el efecto de la adición de fenol a la biomasa aclimatada se realizaron ensayos de respirometría abierta con el agregado de un pulso de fenol de 300 mg/L. La figura 2 muestra un ejemplo de estos ensayos en los cuales se midieron OUR_{ex} (a), concentración de fenol (b) y DQO soluble (c).

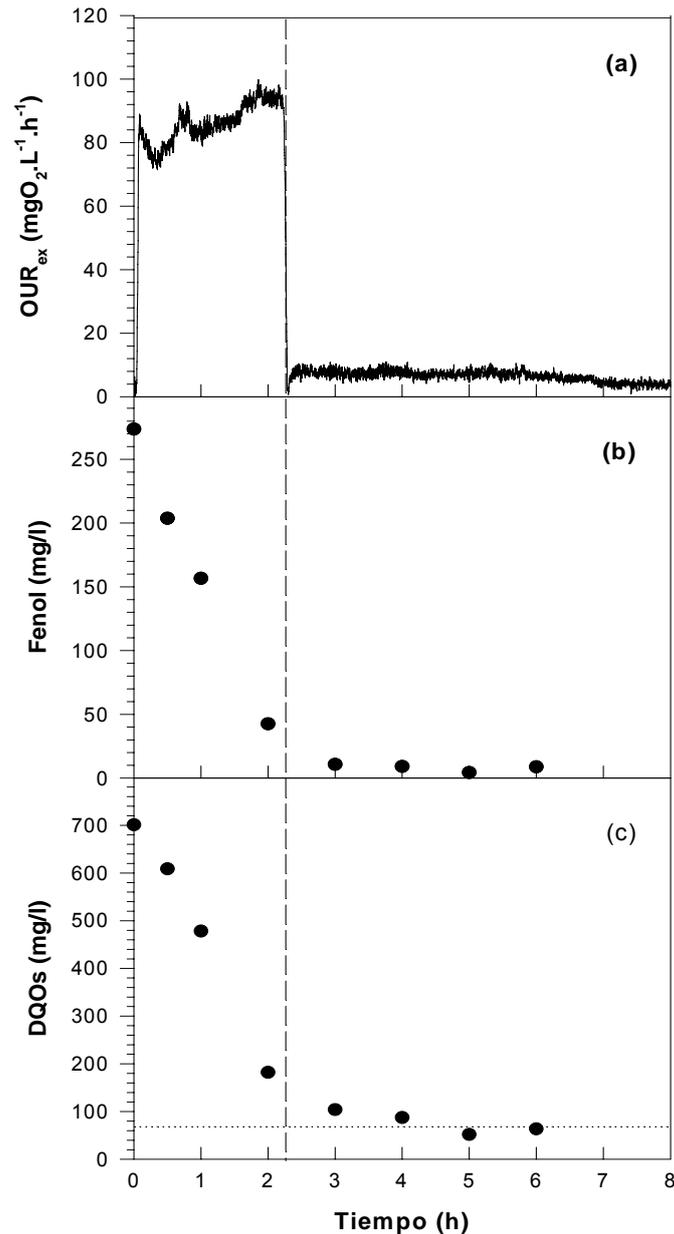


Figura 2. (a) Velocidad de respiración exógena (—), (b) Concentración de fenol (◆), (c) DQO soluble (◆) en función del tiempo en un sistema con biomasa aclimatada

Las medidas de fenol realizadas por el método de Folin-Ciocalteu indicaron que el fenol fue

aparentemente degradado en su totalidad por los microorganismos aclimatados. Teniendo en cuenta que el método de Folin-Ciocalteu sólo mide anillos aromáticos y no intermediarios de cadena abierta, se realizaron las medidas de DQO soluble (Figura 2c); en estas medidas se incluyen todos los intermediarios (de cadena abierta o cerrada). Los resultados indican que no existen productos de oxidación en el medio soluble. En la Figura 2c se puede observar que la DQO soluble al finalizar el ensayo, o sea cuando la concentración de fenol se hace prácticamente cero, se encuentra en un valor muy cercano a la medida inicial tomada antes de agregar el pulso de fenol (66 mgDQO/L) indicada mediante la línea punteada trazada horizontalmente.

En la figura 2 también puede observarse a través de la línea trazada verticalmente que la concentración de fenol se hace cero en el mismo momento que el valor de OUR_{ex} indicando que al consumirse todo el fenol la velocidad exógena llega al valor de respiración endógena.

Los valores de OC fueron correlacionados linealmente con las concentraciones de fenol utilizadas en las distintas experiencias realizadas obteniéndose de la pendiente de la recta ($r^2 = 0.992$) el coeficiente $Y_{O/S} = 0.74 \text{ mgO}_2/\text{mg fenol}$ ($\sigma = 0.046$) (Figura 3). Este valor es similar al obtenido por Cech y col. (1985) que lo obtuvieron con barros activados aclimatados.

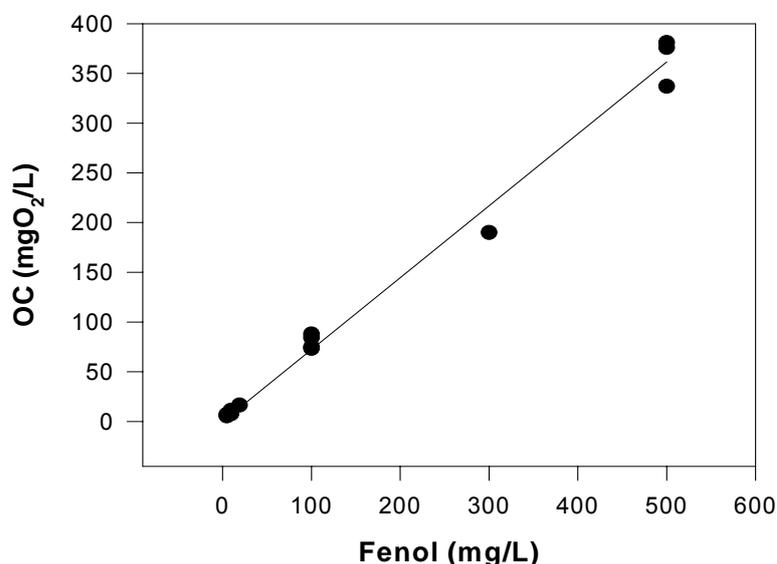


Figura 3. Oxígeno consumido (OC) en un sistema con biomasa aclimatada para distintas concentraciones de fenol. Datos experimentales (●), regresión lineal (—).

Respirometría cerrada

En la Figura 4 se presenta un ejemplo típico de curvas de oxígeno disuelto (OD) en función del tiempo obtenidas mediante respirometría cerrada, para concentraciones de fenol de 150, 1000, 2000, 3000 y 4000 mg/L utilizando biomasa aclimatada.

A partir de las curvas de OD en función del tiempo se calculó la velocidad de respiración correspondiente a cada concentración de fenol utilizada. En la Figura 5 se presentan las curvas de OUR_{ex} en función de la concentración de fenol obtenidas en el respirómetro cerrado a partir de biomasa aclimatada y no aclimatada.

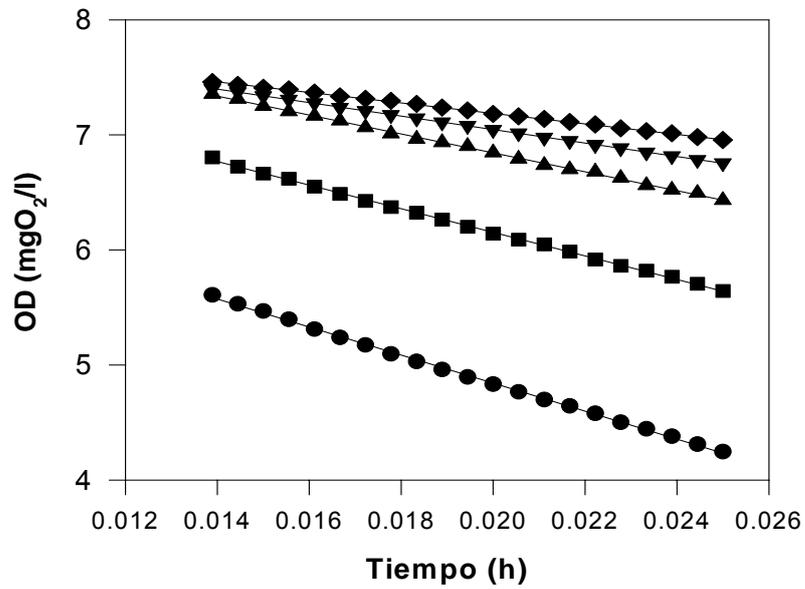


Figura 4. Concentración de oxígeno disuelto en función del tiempo en respirómetro cerrado para distintos pulsos de fenol, 150ppm (●), 1000ppm (■), 2000ppm (▲), 3000ppm (▼) y 4000ppm (◆) . Regresión (—)

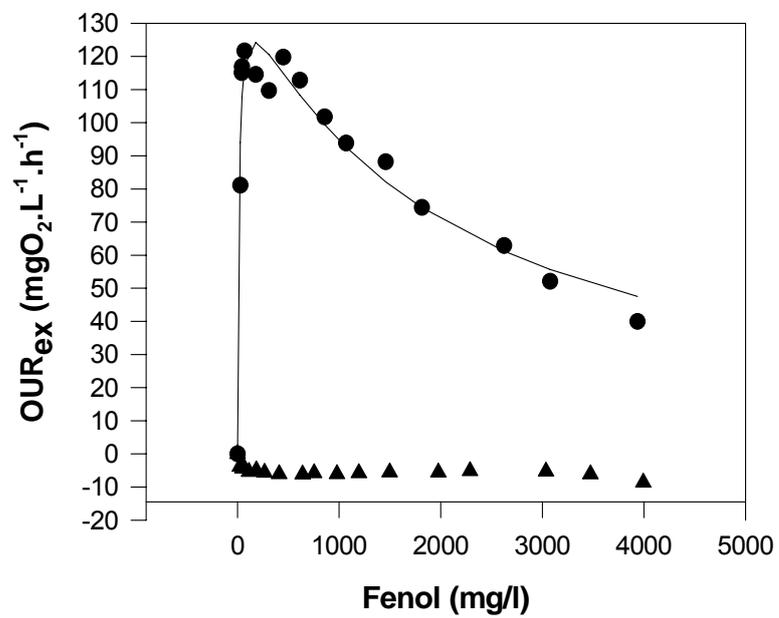


Figura 5. Efecto de la concentración de fenol en la respiración microbiana en sistemas con biomasa aclimatada (●) y sin aclimatar (▲). Ecuación 6 (—).

En el caso de la biomasa no aclimatada se observa que el fenol produce un efecto de inhibición sobre los microorganismos para concentraciones mayores a 20mg/L, que se refleja en un valor de OUR_T (obtenido después del agregado de fenol) menor que el correspondiente a la velocidad de respiración endógena, obteniéndose por lo tanto valores negativos de OUR_{ex} (Figura 5).

A partir de los datos obtenidos se calcularon los índices de inhibición para cada concentración de fenol utilizada mediante la ecuación (7). En la Figura 6 se observa que aún a bajas concentraciones de fenol los microorganismos presentan un índice de inhibición alto que concuerda con lo observado en el diagrama de velocidad de respiración (Figura 5) atribuido a una disminución en la actividad de los microorganismos producido por un efecto tóxico por la presencia de fenol a un cultivo no aclimatado.

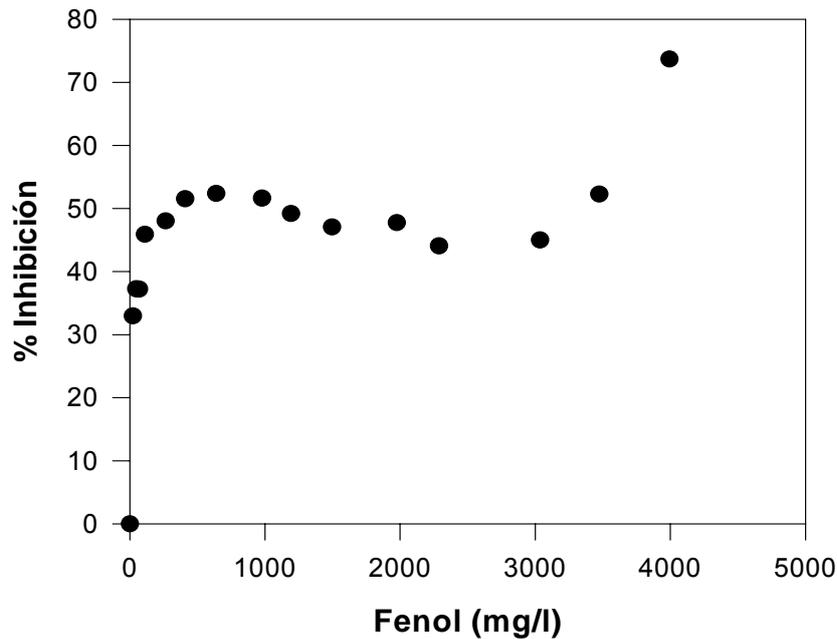


Figura 6. Índice de inhibición de los microorganismos no aclimatados expuestos a distintos pulsos de fenol.

Cuando se utilizó biomasa aclimatada se observó un rápido incremento en la velocidad de respiración con el aumento de la concentración de fenol hasta un cierto valor y una disminución a medida que la concentración de fenol aumentó. La ecuación de Haldane frecuentemente ha sido utilizada para describir la degradación de fenol en cultivos puros y mixtos y en la mayoría de los estudios ha resultado ser la mejor ecuación para representar la relación entre la velocidad de crecimiento y la concentración de sustrato (D'Adamo y col., 1984, Kumar y col., 2005). Dicha ecuación puede expresarse en términos de velocidad de respiración de la forma siguiente:

$$q_{O_2} = \frac{q_{O_2}^* S}{K_s + S + (S^2 / K_i)} \quad (10)$$

donde q_{O_2} = velocidad específica de consumo de oxígeno, $q_{O_2}^*$ = velocidad específica máxima de consumo de oxígeno en ausencia de inhibición, K_s = constante de saturación y K_i = constante de inhibición. De estas constantes cinéticas, K_i es una medida de la sensibilidad a la inhibición de la sustancia inhibitoria (fenol). Cuando K_i es mucho mayor que S la ecuación (6) se transforma en la ecuación de Monod. El valor de K_s es inversamente proporcional a la afinidad por el sustrato. Sin embargo, si el sustrato es inhibitorio no es posible observar una velocidad de respiración igual a $q_{O_2}^*$. La ecuación (10) presenta un valor máximo observable ($dq_{O_2}/dS = 0$), a una concentración de

sustrato S_m y el valor de q_{O_2} correspondiente a esta concentración (q_{O_2m}) puede ser calculado como:

$$S_m = \sqrt{K_s K_i} \quad (11)$$

$$q_{O_2m} = \frac{q_{O_2}^*}{1 + 2\sqrt{K_s / K_i}} \quad (12)$$

La ecuación (12) refleja que el grado de inhibición está determinado por la relación K_s/K_i y no por K_i solo. A mayor K_s/K_i se obtiene un menor valor de q_{O_2m} respecto de $q_{O_2}^*$ y de esta forma un mayor grado de inhibición.

El modelo propuesto para el rango de concentraciones estudiado se ajustó satisfactoriamente a los datos experimentales, mediante una regresión no lineal (Figura 5). Se determinaron las constantes cinéticas obteniéndose los siguientes valores: $q_{O_2}^* = 0.047 \text{ mgO}_2 \cdot \text{mgDQO}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ($\sigma = 0.0026$), $K_s = 14.04 \text{ mg fenol/L}$ ($\sigma = 3.7$) y $K_i = 1912.09 \text{ mg fenol/L}$ ($\sigma = 304$). Usando estos valores se calcularon S_m y q_{O_2m} obteniéndose $163.85 \text{ mg fenol/L}$ y $0.040 \text{ mgO}_2 \cdot \text{mgDQO}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ respectivamente. Los valores de las constantes cinéticas obtenidas en este trabajo se hallan dentro del rango de los valores publicados en la literatura para fenol (Nuhoglu y Yalcin, 2005). El valor de K_i obtenido en este trabajo es uno de los mayores valores y el de K_s uno de los menores comparados con los publicados en la literatura. Asimismo la relación K_s/K_i obtenida está también entre los valores más bajos lo que indicaría un grado de inhibición menor que el hallado por muchos autores. La variabilidad encontrada en la literatura para estos parámetros puede ser debida a factores tales como historia del inóculo, cambios de las especies microbianas predominantes y los diferentes factores ambientales (Nuhoglu y Yalcin, 2005).

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se analizó la degradación biológica de fenol en un rango de concentración (20 - 4000 mg/L) mayor al utilizado por otros autores. Se utilizaron técnicas respirométricas sobre barros aclimatados y no aclimatados a fenol. Cuando se trabajó con barros no aclimatados se observó una acción inhibitoria sobre la flora microbiana aún a concentraciones bajas (20 mg/L). A partir de la medición de la variación de las velocidades de respiración que se producen como respuesta al agregado de un pulso de sustrato, se determinaron para los barros aclimatados coeficientes cinéticos (ecuación de Haldane) y estequiométricos (coeficiente de oxidación de fenol, $Y_{O/S}$).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación suministrada por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por la Universidad Nacional de la Plata y por el Proyecto PICT 09-11211 de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Argentina.

REFERENCIAS

1. AMOR L, EIROA M., KENNES C. Y VEIGA, M.C. (2005). Phenol biodegradation and its effect on the nitrification process. *Wat. Res.*, 39: 2915–2920.
2. ANNADURAI G., JUANG R. Y LEEA D. (2002). Microbiological degradation of phenol using mixed liquors of *Pseudomonas putida* and activated sludge. *Waste Management*, 22: 703–710
3. ANONIMO (1992). "Río de la Plata, calidad de las aguas: franja costera sur". AGOSBA, OSN, SIHN, Buenos Aires.
4. CECH J.S, CHUDоба J. Y GRAU P. (1984). Determination of kinetic constants of activated sludge microorganisms. *Water Sci. Technol.*, 17:259-272.

5. CONTRERAS E.M., BERTOLA N.C., GIANNUZZI L., ZARITZKY N.E. (2002). A modified method to determine biomass concentration as COD in pure cultures and in activated sludge systems. *Water SA*, 28(4): 463-467.
6. D'ADAMO P.D, ROZICH A.F Y GAUDY Jr A.F. (1984). Analysis of growth data with inhibitory carbon sources. *Biotech. and Bioeng.* 26: 397-402.
7. HALDANE J. B. S. (1930). *Enzymes*. Longmans, London.
8. KAREGOUDAR T.B., KIM C.K. (2000). Microbial degradation of monohydroxybenzoic acid. *J.Microbiol.*, 38:53-61.
9. KUMAR A., KUMAR S. Y KUMAR S. (2005). Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194. *Biochem. Eng. J.*, 22:151-159.
10. KUMARAN P. Y PARUCHURI L. (1997). Kinetics of phenol biotransformation. *Wat. Res.*, 31:11-22
11. MELO J.S., KHOLI S., PATWARDHAN A.W. Y D'SOUZA, S.F.(2005). Effect of oxygen transfer limitations in phenol biodegradation. *Proc. Biochem.*, 40:625-628
12. NUHOGLU A. Y YALCIN B. (2005). Modelling of phenol removal in a batch reactor. *Proc. Biochem.*, 40:1233-1239.
13. ORUPOLD K., MASIRIN A. Y TENNO T. (2001). Estimation of biodegradation parameters of phenolic compounds on activated sludge by respirometry. *Chemosphere*, 44:1273-1280.
14. ROŠ M. (1993). *Respirometry of activated sludge*. Technomic, USA.
15. ROZICH A.F, GAUDY Jr A.F., D'ADAMO P.D. (1985). Selection of growth rate model for activated sludges treating phenol. *Wat. Res.*, 19:481-490.
16. TZIOTZIOS G., TELIOU M., KALTSOUNI V., LYBERATOS G. Y VAYENAS D.V. (2005). Biological phenol removal using suspended growth and packed bed reactors. *Biochem. Eng. J.*, 26:65-71
17. VANROLLEGHEM P.A, KONG Z., ROMBOUTS G. Y VERSTRAETE W. (1994). An on-line respirographic biosensor for the characterisation of load and toxicity of wastewaters. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 59 321-333.
18. YAN J., JIANPING W., HONGMEI L., SULIANG Y., ZONGDING H. (2005). The biodegradation of phenol at high initial concentration by the yeast *Candida tropicalis*. *Biochem. Eng. J.*, 24:243-247.