

# SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DEL PROCESO GLOBAL DE BIOTRANSFORMACIÓN DE FENOL EN AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES DE REFINERÍAS DE PETRÓLEO

M. A. MARTÍNEZ<sup>1</sup>, C. A. BARAJAS<sup>2</sup>, N. RAMÍREZ<sup>3</sup>, M. P. DÍAZ<sup>3</sup>,  
C. M. OSORIO<sup>6</sup>, C. ORTIZ<sup>4</sup>, C. BLANCO<sup>5</sup>, R. TORRES<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingenierías Físico-Químicas, Universidad Industrial de Santander

<sup>2</sup>Escuela de Ingeniería de Sistemas, Facultad de Ing. Físico-mecánicas, Universidad Industrial de Santander.

<sup>3</sup>Instituto Colombiano del Petróleo, ICP, ECOPETROL. Km. 7 Vía Piedecuesta

<sup>4</sup>Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander

<sup>5</sup>Escuela de Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Industrial de Santander.

<sup>6</sup>Qca. Área de Tratamiento biológico ATB, Gerencia complejo Barrancabermeja, GCB. ECOPETROL  
rtorres@uis.edu.co

Fecha Recepción: 23 de Abril de 2008

Fecha Aceptación: 21 de Mayo de 2008

---

## RESUMEN

El presente trabajo consiste en el planteamiento y desarrollo de un modelo matemático del proceso en continuo de biodegradación de fenol que toma parte en el tratamiento de aguas residuales industriales de las principales refinerías de la empresa ECOPETROL. El agua residual con compuestos fenólicos provenientes de los diferentes efluentes de procesos, es sometida a un proceso de tratamiento biológico utilizando un consorcio bacteriano altamente especializado.

En una primera fase se evaluaron cada una de las variables del bio-proceso y se planteó un modelo matemático global que describe el proceso a partir de las variables más importantes involucradas en el sistema de biodegradación del fenol. Para la cinética de crecimiento celular se utilizó la ecuación de Haldane, se determinaron los parámetros cinéticos a partir de pruebas experimentales a escala laboratorio y piloto y se evaluaron los efectos de condiciones de pH, suministro de oxígeno y componentes inhibitorios del bio-proceso.

En el presente trabajo, el conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias simultáneas obtenidas a partir del planteamiento del modelo matemático, fue resuelto mediante un método numérico (Runge-Kutta de cuarto orden) utilizando Matlab 6.5. El desarrollo del modelo matemático y el diseño y puesta en marcha de una aplicación software, como herramienta metodológica, logró a partir de las interacciones virtuales con el bio-proceso, una mayor comprensión del sistema de biotransformación de fenol y la identificación de sus variables más relevantes.

**Palabras claves:** Aguas residuales industriales, tratamiento biológico, modelo matemático y simulación.

## ABSTRACT

The present work is to approach and develop a mathematical model of the continuous process of biodegradation of phenol which takes part in the treatment of industrial waste water of the main refineries of the company ECOPETROL. The waste water with phenolic compounds derived from the effluents of different processes, is undergoing a process of biological treatment using a highly specialized bacterial consortium.

In a first phase evaluated each of the variables in the bio-process and posed a mathematical model that describes the overall process from the most important variables involved in the biodegradation of phenol. For the kinetics of cell growth using the equation of Haldane, the kinetic parameters were determined from experimental tests on laboratory scale and pilot and assessed the effects of pH conditions, oxygen supply and inhibitory components of the bio-process.

In this work, the set of ordinary differential equations simultaneously obtained from the approach of the mathematical model was solved using a numerical method (Runge-Kutta fourth-order) using Matlab 6.5. The development of the mathematical model and the design and implementation of a software application, such as methodological tool, managed from virtual interactions with the bio-process, a greater understanding of the biotransformation of phenol and identification of its variables relevant.

**Keywords:** industrial waste water, biological, mathematical modeling and simulation

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, uno de los mayores problemas de contaminación ambiental es el aumento de la descarga de residuos contaminantes y sustancias tóxicas generadas por la actividad industrial. Entre los residuos contaminantes, las aguas residuales provenientes de los procesos de refinación de petróleo constituyen un grave problema de contaminación de los cuerpos de agua receptores. Esta agua, pueden contener, entre otros compuestos contaminantes, compuestos fenólicos, que por su toxicidad, generan graves problemas en los ecosistemas acuáticos. Es por ello que estas aguas debieran ser tratadas antes de ser vertidas en los efluentes industriales. No obstante, el tratamiento de estos compuestos orgánicos implica, por lo general, tratamiento biológico, donde un grupo de microorganismos bajo condiciones ambientales adecuadas, es capaz de utilizar estos contaminantes como sustrato y eventualmente biodegradarlos de manera económica y eficaz.

Sin embargo, el proceso de biodegradación del fenol en las aguas residuales de refinerías es un proceso bastante complejo, el cual puede ser considerado como un sistema que es afectado por muchas variables de proceso y condiciones ambientales, las cuales son generalmente inherentes al proceso de biodegradación.

En este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo general plantear y desarrollar un modelo matemático que describiera el proceso continuo de biodegradación de fenol que se lleva a cabo en la línea de tratamiento de las aguas residuales industriales de las principales refinerías de la empresa ECOPETROL, utilizando para ello las principales variables de operación.

En una primera fase [13], se realizó el planteamiento de un modelo matemático y la determinación de un modelo cinético general que consideraba el efecto de una serie de variables sobre la velocidad específica de crecimiento celular y velocidad de biodegradación de fenol. Dentro del planteamiento del modelo se determinaron los parámetros

cinéticos ( $K_s$ ,  $K_i$ ,  $\mu_{m\acute{a}x}$ , etc.), las condiciones operacionales y se evaluaron los efectos de algunos componentes inhibitorios presentes en las corrientes de agua de tratamiento.

En el presente trabajo, el conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias simultáneas obtenidas a partir del planteamiento del modelo matemático, fue resuelto mediante un método numérico (Runge-Kutta de cuarto orden) utilizando Matlab 6.5. El desarrollo del modelo matemático y el diseño y puesta en marcha de una aplicación software, como herramienta metodológica, logró una mayor comprensión del proceso de biotransformación de fenol y la identificación de sus variables más relevantes. De esta manera, se evaluó la influencia de las diferentes variables e identificó aquellas que intervienen de una mejor forma en la eficiencia del proceso, lo cual ha permitido evaluar oportunidades de mejoramiento del proceso actual de remoción de compuestos fenólicos de las aguas residuales de refinería.

## PLANTEAMIENTO DEL MODELO MATEMÁTICO

La biodegradación de fenol y sus derivados a partir de diferentes tipos de microorganismos ha sido objeto de muchas investigaciones en las últimos tres décadas. Estos estudios se han llevado a cabo con diferentes grupos de microorganismos, puros y mixtos, y bajo diferentes condiciones de operación como pH, temperatura, en presencia y ausencia de oxígeno, en batch y/o en reactores con flujo continuo, siendo, la descripción del crecimiento y la cinética de degradación uno de los principales objetivos de estos estudios [9,17,15,18,14,10]. La cinética de crecimiento es esencial para el entendimiento de la capacidad de los microorganismos para la degradación y el diseño de las unidades de operación.

A partir de los balances de materia para los principales variables del proceso se obtuvo el siguiente conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias:

**Tabla 1.** Conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias

Biomasa	$\frac{dx}{dt} = \frac{F_o}{V} x_o - \frac{F}{V} x + \mu x - K_d x$	(1)
Fenol	$\frac{d[S]}{dt} = [S]_0 \left( \frac{F_o}{V} \right) - [S] \left( \frac{F}{V} \right) - \left( \frac{\mu x}{Y_{x/s}} \right)$	(2)
Amonio	$\frac{d[NH_3]}{dt} = [NH_3]_0 \left( \frac{F_o}{V} \right) - [NH_3] \left( \frac{F}{V} \right) - \left( \frac{\mu x}{Y_{x/n}} \right)$	(3)
Sulfuro	$\frac{d[H_2S]}{dt} = [H_2S]_0 \left( \frac{F_o}{V} \right) - [H_2S] \left( \frac{F_o}{V} \right) - k[H_2S]$	(4)
Hidrocarburo	$\frac{d[HC]}{dt} = [HC]_0 \left( \frac{F_o}{V} \right) - [HC] \left( \frac{F}{V} \right) - \left( \frac{\mu x}{Y_{x/HC}} \right)$	(5)
Hidrogeniones	$\frac{d[H_3O^+]}{dt} = [H_3O^+]_0 \left( \frac{F_o}{V} \right) - [H_3O^+] \left( \frac{F}{V} \right) + \left( \frac{\mu x}{Y_{x/H_3O^+}} \right)$	(6)
Oxígeno disuelto (O.D)	$\frac{d[O_2]}{dt} = [O_2]_0 \left( \frac{F_o}{V} \right) - [O_2] \left( \frac{F}{V} \right) + kL_a(C - [O_2]) - \left( \frac{\mu x}{Y_{x/o}} \right)$	(7)
Demanda biológica de oxígeno (DBO)	$\frac{d[DBO]}{dt} = [DBO]_0 \left( \frac{F_o}{V} \right) - [DBO] \left( \frac{F}{V} \right) - K[DBO]$	(8)

**Modelo cinético**

El modelo cinético que representa el proceso de biodegradación de fenol del sistema en estudio, se representa por medio de la ecuación (9). El modelo involucra el efecto inhibitorio dado por el mismo fenol y el efecto causado por la presencia de sustancias como amonio (NH<sub>3</sub>), sulfuro (H<sub>2</sub>S)

e hidrocarburo (HC). El modelo cinético describe mediante inhibición no competitiva, el efecto del pH, a partir de una correlación  $\rho$ , determinada empíricamente entre el pH y la velocidad máxima de crecimiento  $\mu$  involucra el efecto del oxígeno mediante una cinética de Monod simple, como factor multiplicativo a la cinética de Haldane.

$$\mu = \frac{\mu_M * [S]}{\rho \left( K_s a + [S] + \frac{[S]^2}{K_{IS}} \right) * \frac{[O_2]}{K_{O_2} + [O_2]}} \tag{9}$$

$$a = \left( 1 + \frac{[H_2S]}{K_{H_2S}} \right) \left( 1 + \frac{[NH_3]}{K_{NH_3}} \right) \left( 1 + \frac{[HC]}{K_{HC}} \right) \quad \rho = f(pH)$$

Donde

$\mu$	velocidad específica de crecimiento	(h <sup>-1</sup> )
S	Concentración de fenol	(mg l <sup>-1</sup> )
H <sub>2</sub> S	Concentración de sulfuro	(mg l <sup>-1</sup> )
NH <sub>3</sub>	Concentración de amonio	(mg l <sup>-1</sup> )
HC	Concentración de hidrocarburo	(mg l <sup>-1</sup> )
O <sub>2</sub>	Concentración de oxígeno	(mg l <sup>-1</sup> )
$\mu_M$	Velocidad máxima de crecimiento	(h <sup>-1</sup> )
K <sub>s</sub>	Constante de saturación para fenol	(mg l <sup>-1</sup> )
K <sub>o</sub>	Constante de saturación para fenol	(mg l <sup>-1</sup> )
K <sub>IS</sub>	Constante inhibición para el fenol	(mg l <sup>-1</sup> )
K <sub>x</sub>	Constante inhibición cada compuesto x	(mg l <sup>-1</sup> )

### Cinética de crecimiento

Los parámetros cinéticos tales como la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_M$ ), la constante de saturación (Ks) y la constante de inhibición para el fenol (Kis) fueron determinados a partir de la linealización de la ecuación de Monod y Haldane

[13]. Los valores obtenidos para los parámetros cinéticos se resumen en la tabla 2. Los valores de estos parámetros se encuentran en el rango de los valores reportados en la literatura [16,23,7,11,19,20,14,9,10].

**Tabla 2.** Parámetros cinéticos del modelo de Monod y Haldane para el proceso de biodegradación de fenol usando un pool de *Pseudomonas putida*

	Modelo de Monod		Linealización modelo Haldane	
	$\mu_M$ (h <sup>-1</sup> )	Ks (mg/l)	$\mu_M$ (h <sup>-1</sup> )	Ki <sub>s</sub> (mg/l)
<b>Fenol</b>	0.335	10.2	0.2853	51.2

### SIMULACIÓN

Trabajos reportados sobre modelamiento y simulación dinámica de procesos biológicos y tratamiento de aguas residuales fueron utilizados de referencia para el desarrollo del presente trabajo. Los estudios reportados desarrollan modelos matemáticos y simulaciones para sistemas específicos, tanto para sistemas en continuo y/o en batch [8,3,5,4,22,21,1].

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

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

El sistema de ecuaciones diferenciales fue resuelto por el método de diferenciación numérica de Runge-Kutta de cuarto orden. Este método fue escogido debido al alto costo numérico que representa resolver el sistema de ecuaciones diferenciales planteado. Esta solución fue implementada inicialmente en MATLAB 6.5 para su validación y posteriormente fue traducida a un ambiente MICROSOFT VISUAL C# .NET 2003, con el propósito de generar una solución software

*stand alone* y transportable.

La solución numérica parte de un conjunto de condiciones iniciales para cada uno de los balances. La ecuación de la velocidad específica de crecimiento celular es la única cuyo valor inicial se resuelve dentro del ciclo iterativo, no antes de iniciar este. Para todas las demás ecuaciones, la solución se obtiene aplicando la fórmula de Runge-Kutta de cuarto orden (Ecuación 10). La solución obtenida es la variación en el tiempo para cada uno de las variables, contenida en cada uno de los vectores resultantes.

$$\begin{aligned}
 y_{n+1} &= y_n + \frac{h}{6} (k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4) \\
 t_{n+1} &= t_n + h \\
 k_1 &= f(t_n, y_n) \\
 k_2 &= f\left(t_n + \frac{h}{2}, y_n + \frac{h}{2}k_1\right) \\
 k_3 &= f\left(t_n + \frac{h}{2}, y_n + \frac{h}{2}k_2\right) \\
 k_4 &= f(t_n + h, y_n + hk_3)
 \end{aligned} \tag{10}$$

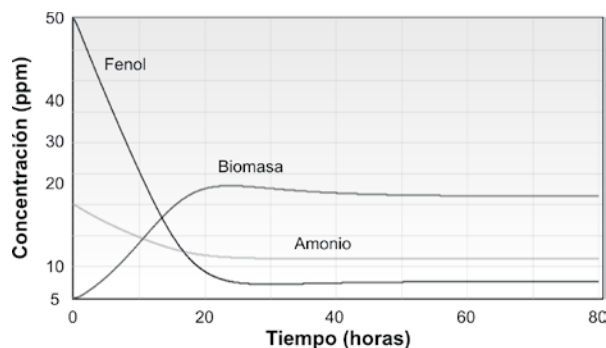
### Modelos de simulación y validación

En la figuras 1 y 2 se observan las curvas obtenidas de las simulaciones para el proceso continuo de biodegradación de fenol. En la figura 1. se observan los perfiles de tiempo típicos para las principales variables durante la biodegradación: fenol, biomasa y amonio, obtenidas a partir del desarrollo de los modelos de simulación. En la figura 2 se observa los resultados de una de

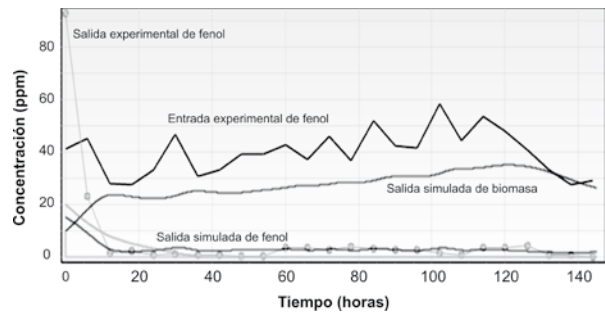
las pruebas de validación del modelo cinético y el modelo matemático global planteado para el proceso. Los perfiles corresponden a la biodegradación de fenol en operación continua de un flujo de agua de tratamiento de 6600l/h con concentración de fenol variable en un rango entre 30 y 60 ppm. El tiempo de retención hidráulico del bio-reactor y el tiempo de prueba fue de 18 horas y 140 horas respectivamente.

Para hacer la simulación real, las concentraciones de fenol en el afluente fueron introducidas a la simulación como un vector de concentración versus el tiempo de prueba, con el fin de simular el proceso de remoción de fenol a partir de las mismas condiciones de operación. Los datos reales de concentración de fenol a la salida del bio-reactor fueron monitoreados cada 6 horas durante el tiempo de prueba y fueron comparados con los perfiles obtenidos a partir de las simulaciones llevadas a cabo bajo las mismas condiciones (Figura 2).

Los resultados obtenidos muestran que el modelo matemático planteado y la ecuación cinética que se determinó para el sistema en estudio describen las tendencias y el comportamiento global de la variable respuesta monitoreada. Debido a las perturbaciones presentadas en la entrada, las concentraciones de fenol a la salida para la curva simulada y datos reales fluctuaron, sin embargo las curvas muestran la misma tendencia. Las buenas aproximaciones obtenidas entre las curvas simulada y experimental permitirán continuar en la validación de las demás variables del modelo y su influencia en la eficiencia del bio-proceso.



**Figura 1.** Perfiles típicos biomasa, fenol y amonio proceso continuo biodegradación de fenol.



**Figura 2.** Comparación perfiles simulado y real para el fenol durante el proceso continuo biodegradación de fenol a escala piloto.

### Aplicación software

La construcción de la interface tuvo como principal objetivo ser una herramienta metodológica, funcional y práctica, de manera que sirviera para contener el modelo matemático en función de su uso y la manipulación por parte de usuarios que tengan conocimiento del proceso biológico para la remoción continua de fenol de aguas residuales industriales.

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

La aplicación permite la introducción de nuevas configuraciones para el sistema, variación de datos cinéticos y condiciones de funcionamiento. Los resultados de cada simulación se presentan en medio gráficos y tabulados. Además se diseñó con la capacidad de aceptar pausas y alteraciones en el curso de la simulación con el fin de recrear condiciones y escenarios reales de trabajo.

Este tipo de herramientas y/o aplicaciones, posteriores al desarrollo de un modelo matemático, permiten la interacción virtual con el proceso y la evaluación de cada una de las variables tenidas en cuenta. El software desarrollado para el proceso continuo de biodegradación de fenol de las aguas residuales industriales de la refinería en estudio, es considerado una herramienta práctica, novedosa y de gran utilidad en el conocimiento del proceso y en el desarrollo de oportunidades de mejoramiento de los sistemas biológicos actuales de remoción de fenol. En la figura 3 se observan algunas imágenes de las principales ventanas del software desarrollado.

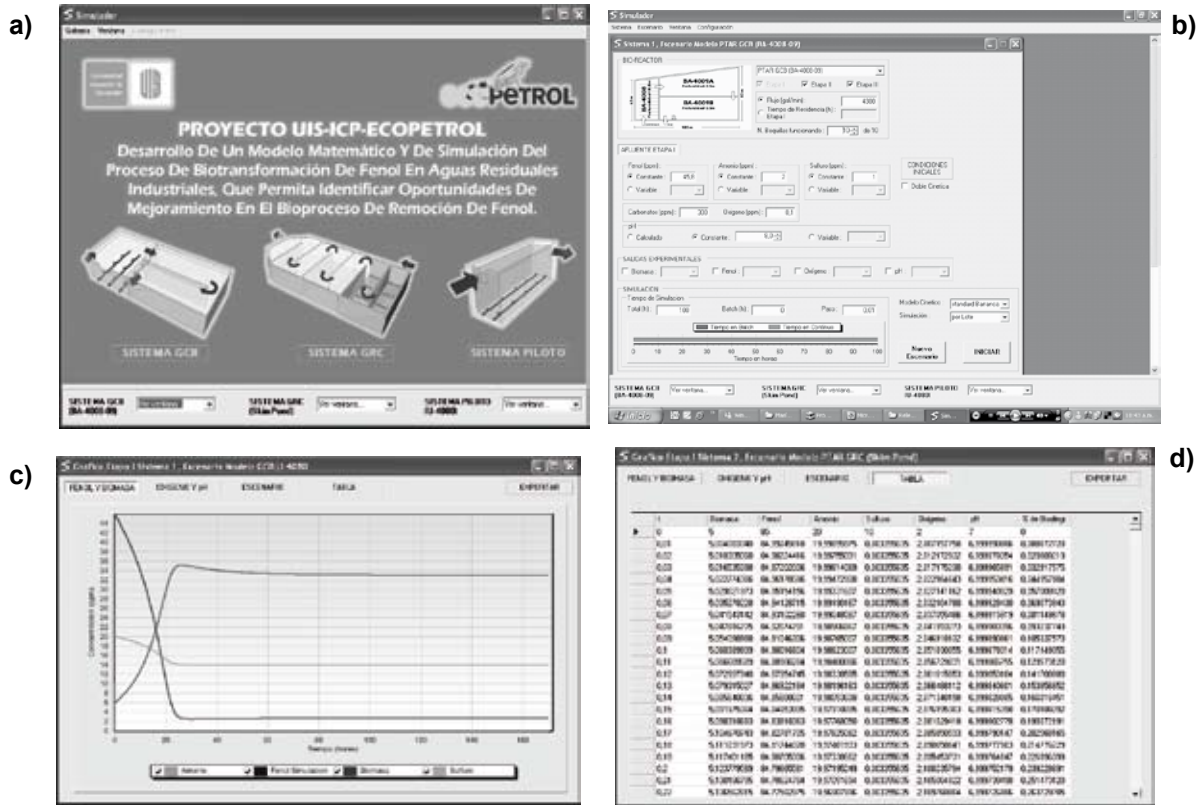


Figura 3. Principales Interfaces gráficas (a) ventana de inicio (b) Ventana de escenario, entrada de datos. (c) Ventana de salida de datos-ventanas de gráficos (d) Ventana de salida de datos-ventanas de tabla de datos.

## CONCLUSIONES

El planteamiento y desarrollo de un modelo matemático para el proceso de biodegradación de fenol en aguas residuales industriales, ha permitido evaluar las principales variables del bio-proceso en cuanto a su relevancia en la eficiencia de remoción de fenol. El diseño y puesta en marcha de un software, ha permitido implementar esta aplicación como una herramienta metodológica práctica y sencilla, que permitirá la interacción virtual con el proceso y la comprensión de los diferentes fenómenos estudiados, como lo efectos de variables de operación como pH, Oxígeno disuelto, flujo volumétrico de tratamiento y presencia de compuestos inhibitorios como amonio, sulfuro e hidrocarburo entre otros.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a la empresa ECOPETROL y a cada uno de sus equipos de trabajo en la refinería de Barrancabermeja y Cartagena y al Instituto Colombiano del petróleo (ICP) por su continuo apoyo y soporte en la obtención de datos y puesta

en marcha de pruebas experimentales, a escala laboratorio, piloto e industrial, necesarias para el éxito del presente trabajo.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] ANNADURAI G. LAI YI LING y JIUNN-FOW-LEE. (2008) Statistical optimization of medium components and growth conditions by response surface methodology to enhance phenol degradation by *Pseudomonas putida*. Journal of Hazardous materials. Volume 151, Issue 1, 171-178.
- [2] BALLESTEROS MARTIN M.M., SANCHEZ PÉREZ J.A., ACIÉN FERNÁNDEZ F.G., GARCÍA SÁNCHEZ J.L., CASAS LÓPEZ J.L. y MALATO RODRÍGUEZ S. A (2008) kinetics study on the biodegradation of synthetic wastewater simulating effluent from an advanced oxidation process using *Pseudomonas putida* CECT 324. Journal of Hazardous materials 151, 780-788.

- [3] BANERJEE I., MODAK M.J., BANDOPADHYAY K., DAS D., MAITI B.R. (2001) Mathematical model for evaluation of mass transfer limitations in phenol biodegradation by immobilized *Pseudomonas putida*. *Journal of biotechnology*. 87, 211-223.
- [4] CRUICKSHANK S.M., DAAUGULIS A.J. and MCLELLAN P.J. (2000) Modeling of a continuous two-phase partitioning bioreactor for the degradation of xenobiotics. *Process Biochemistry*, 35, 1027-1035.
- [5] EBENHOH W. and BERTHE-CORTI. (2001) Modelling of hexadecane degradation in continuous-flow cultures. *Biosystems*, 59, 159-183.
- [6] GONZÁLEZ G., HERRERA M., GARCÍA M.T. y PEÑA M.M. (2001) Biodegradation of phenol in a continuous process: comparative study of stirred tank and fluidized-bed bioreactors. *Bioresource Technology* 76, 245-251.
- [7] HILL G.A, C.W ROBINSON. (1975) Substrate inhibition kinetics: phenol degradation by *Pseudomonas putida*. *Biotechnology and Bioengineering*. 17, 1599-1615.
- [8] JUNGBLUT J., SIEVERS M., VOGELPOHL A., BRACIO B.R. and MOLLER D.P.F. (1997) Dynamic simulation of wastewater treatment: the process of nitrification. *Simulation Practice and Theory*. 5, 689-700.
- [9] KUMAR A., KUMAR SHASHI y KUMAR SURENDRA. (2005) Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *pseudomonas putida* MTCC 1194. *Biochemical Engineering Journal* 22, 151-159.
- [10] KUMARAN P. y PARUCHURI L. (1997) Kinetics of phenol biotransformation. *Water research* Vol 31. No 1, 1997 11-22.
- [11] LIVINGSTON A.G, H.A. CHASE. (1989) Modeling phenol biodegradation in a fluidized-bed bioreactor. *AIChE Journal*. 35, 1980-1992.
- [12] MAGBANUA B.S., HOOVER P.A., CAMPBELL P.J. y BOWERS A.R. (1994) The effect of cosubstrates on phenol degradation kinetics. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 30 N°9 67-77.
- [13] MARTÍNEZ M<sup>A</sup>. A. BARAJAS C.A. ORTIZ C.C. RAMÍREZ N.E., DÍAZ M.P., BLANCO C., TORRES R. (2007) Planteamiento de un modelo matemático del proceso de biotransformación de fenol en aguas residuales industriales. X Seminario Internacional del medio ambiente y desarrollo sostenible. Simposio Agua y saneamiento básico. ISBN:978-958-44-1841-8. 699-706.
- [14] MONTEIRO ALVARO A.M.G, BOAVENTURA RUI A.R, RODRIGUEZ ALIRIO E. (2000) Phenol biodegradation by *Pseudomonas putida* DSM 548 in a batch reactor. *Biochemical Engineering Journal* 6, 45-49.
- [15] OJUMU, T.V, BELLO, O.O, SONIBARE, J.A. Y SOLOMON, B.O. (2005) Evaluation of microbial systems for bioremediation of petroleum refinery effluents in Nigeria. *African journal of Biotechnology* Vol.4(1) 31-35.
- [16] PAWLOWSKY. U, HOWELL J.A. (1973) Mixed culture biooxidation of phenol. I. Determination of kinetics parameters. *Biotechnol. Bioeng.* 15, 889-896.
- [17] REARDON K.F., MOSTELLER D.C., BULL ROGERS J. (2000) Biodegradation kinetics of benzene, toluene and phenol as simple and mixed substrates for *Pseudomonas putida* F1. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 69, N°4. 385-400.
- [18] SEKER. S., BEYENAL H., SALIH B., TANYOLAC A. (1997) Multi-substrate growth kinetics of *Pseudomonas putida* for phenol removal. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 47, 610-614.
- [19] SZETELA R.W, T.Z. WINNICKI. (1981) A novel method for determining the parameters of microbial kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*. 23, 1485-1490.
- [20] TANG W.T, FAN L.S. (1987) Steady state phenol degradation in a draft-tube, gas-liquid-solid fluidized-bed bioreactor. *AIChE J.* 33, 239-249.
- [21] VÁZQUEZ-RODRÍGUEZ G., YOUSSEF C.B y WAISSMAN-VILANOVA J. (2006) Two-step modeling of the biodegradation of phenol by

an acclimated activated sludge. Chemical Engineering Journal 117, 245-252.

[22] VENU VINODA. Y VENKAT REDDY G. (2005) Simulation of biodegradation process of phenolic wastewater at higher concentrations in a fluidized-bed bioreactor. Biochemical Engineering Journal 24, 1-10.

[23] YANG R.D, HUMPHREY A.E. (1975) Dynamic and steady state studies of phenol biodegradation in pure and mixed cultures. Biotechnol. Bioeng. 17, 1211-1235.