ENHANCED BIODEGRADATION OF HYDROCARBONS IN OIL SLUDGE USING NONIONIC AND ANIONIC SURFACTANTS IN SINGLE AND MIXED SYSTEM

Varinda Napaphunvarat

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma,
Case Western Reserve University, and Institut Français du Pétrole
2005

ISBN 974-9651-87-1

I22242831

Thesis Title:	Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons in Oil Sludge using Nonionic and Anionic Surfactants in Single and Mixed Systems
By:	Varinda Napaphunvarat
Program:	Petroleum Technology
Thesis Advisors:	Asst. Prof. Pomthong Malakul Prof. Daniel Ballerini Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej

---

Accepted by the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Master of Science.

Nantaya Yanumet. College Director

(Assoc. Prof. Nantaya Yanumet)

Thesis Committee:

(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

(Prof. Daniel Ballerini)

(Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej)

(Asst. Prof. Boonyarach Kitiyanan)

(Dr. Apanee Luengnarumitchai)

ABSTRACT

4673008063: Petroleum Technology Program
Varinda Napaphunvarat: Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons in Oil Sludge using Nonionic and Anionic Surfactants in Single and Mixed Systems
Thesis Advisors: Asst. Prof. Pomthong Malakul, Prof. Daniel Ballerini, and Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej
86 pp. ISBN 974-9651-87-1
Keywords: Biodegradation / Bioavailability / Nonionic Surfactant / Anionic Surfactant / Solubilization / Semi-Batch Reactor

Biological treatment of oil sludge is often restrained by the limited availability of hydrocarbons present in the sludge due to their poor solubility in aqueous phase. To overcome this problem, surfactant can be used to increase solubilization of the hydrocarbons in the aqueous phase, thus enhancing their bioavailability to degrading microorganisms. In this research, the effects of nonionic (Tween 80) and anionic (sodium dodecyl sulfate, SDS) surfactants on the solubilization and biodegradation of hydrocarbons in oil sludge obtained from PTT PLC in both single- and mixed-surfactant systems were studied. Batch biodegradation experiments were carried out using indigenous bacteria originally present in the sludge and *Pseudomonas aeruginosa* from Mahidol University. The solubility of hydrocarbons in the oil sludge was significantly increased with the addition of SDS and Tween 80 in both single- and mixed-surfactant systems. SDS was shown to have a slightly better performance than Tween 80, but at a higher concentration (2%w/v). In the presence of surfactant, the biodegradation of hydrocarbons in the oil sludge was enhanced by 2.5-3 times over the control. The biodegradation was also conducted in a 1 L semi-batch reactor using the fill and draw operation under different conditions.

บทคัดย่อ

วรินดา นภาพรรณวรัตน์: การเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายกากตะกอนน้ำมันโดยวิธีทางชีวภาพด้วยสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีขั้วและขั้วลบในระบบเดี่ยวและระบบผสม (Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons in Oil Sludge using Nonionic and Anionic Surfactants in Single and Mixed Systems) อ.ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. ปมทอง มาลากุล ณ อยุธยา ศ.ดร. แคเนียล บาร์เลอลินี และ รศ. ดร. สุเมธ ชวเดช 86 หน้า ISBN 974-9651-87-1

การย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันปิโตรเลียมโดยวิธีทางชีวภาพนั้นมักถูกจำกัดเนื่องจากสมบัติการละลายน้ำที่ต่ำของสารไฮโดรคาร์บอน ในการแก้ปัญหานี้ สารลดแรงตึงผิวสามารถช่วยเพิ่มการละลายของสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายของแบคทีเรีย งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีขั้ว (ทวีน 80) และ สารลดแรงตึงผิวชนิดขั้วลบ (โซเดียม โดดีซีล ซัลเฟต หรือ เอสดีเอส) ต่อการละลายและการย่อยสลายโดยวิธีทางชีวภาพของสารไฮโดรคาร์บอนในกากตะกอนน้ำมันจากบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) ทั้งในระบบที่มีสารลดแรงตึงผิวแบบเดี่ยวและแบบผสม โดยใช้แบคทีเรียที่มีอยู่ในกากตะกอนน้ำมันและแบคทีเรียที่คัดแยกจากบริเวณที่ถูกปนเปื้อนในประเทศไทยคือ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ได้รับความเอื้อเฟื้อจากมหาวิทยาลัยมหิดล ผลการทดลองพบว่าการละลายของสารไฮโดรคาร์บอนในกากตะกอนน้ำมันเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิว ทวีน 80 และเอสดีเอส ทั้งในระบบแบบเดี่ยวและแบบผสม และการละลายมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมค่าหนึ่งของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด โดยเอสดีเอส สามารถเพิ่มความสามารถในการละลายสำหรับสารไฮโดรคาร์บอนได้มากกว่าทวีน 80 แต่ใช้ความเข้มข้นสูงที่กว่า (2%w/v) ในระบบที่มีสารลดแรงตึงผิว การย่อยสลายทางชีวภาพของสารไฮโดรคาร์บอนในกากตะกอนน้ำมันเพิ่มขึ้น 2-3 เท่าของระบบที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งกะขนาด 1 ลิตร โดยใช้หลักการเติมและดึงออกภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน

ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis could not have been possible without the assistance of the following individuals and organizations to whom the author would like to thank.

Financial support to this work partially funded by the Postgraduate Education and Research Programs in Petroleum and Petrochemical Technology (PPT Consortium) is greatly acknowledged.

First of all, I gratefully acknowledge Assoc. Prof. Sumeath Chavadej, Asst. Prof. Pomthong Malakul from The Petroleum and Petrochemical College and Dr. Chatvalee Kalambaheti from PTT Public Company Limited Dr. Prayard Pokethitiyook from Mahidol University for their encouragement, constant valuable advice and support. Moreover, I would like to thank them especially for providing many necessary things throughout this work.

My great appreciation also goes to Professor Daniel Ballerini who was my France thesis advisor for his guidance and encouragement throughout this work. This thesis would not have been succeeded without his insightful discussion and professional suggestions.

Thanks are also extended to The PTT Public Company Limited for providing an oil sludge sample.

I would like to thank to all of the Ph.D students and staff of the Petroleum and Petrochemical College for heir help

Finally, I would like to offer sincere gratitude to my parents, my sisters, and my friends who always encourage me and give their endless love as well as support throughout my life.

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
Title Page	i
Abstract (in English)	iii
Abstract (in Thai)	iv
Acknowledgements	v
Table of Contents	vi
List of Tables	ix
List of Figures	x
Abbreviations	xi
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II BACKGROUND AND LITERATURE SURVEY	3
2.1 Wastes from Petroleum Industry	
2.1.1 Waste Characteristics	3
2.1.2 Sources of Wastes	4
2.1.3 Treatment Techniques for Petroleum Wastes	6
2.2 Biodegradation of Hydrocarbon Compounds	8
2.2.1 Types of Microbial Degradation	8
2.3 Surfactants-Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons Compounds	13
2.3.1 Use Surfactant Enhanced Biodegradation	14
2.4 Bioreactor	17
2.4.1 Anaerobic vs. Aerobic Reactors	18
2.4.2 Continuous vs. Batch Reactors	19
2.4.3 Sequencing Batch Reactors	20

CHAPTER		PAGE
III	**EXPERIMENTAL**	22
	3.1 Materials	22
	3.2 Method	24
IV	**RESULTS AND DISCUSSION**	27
	4.1 Enhanced Solubilization of Hydrocarbons in Oil Sludge by Nonionic and Anionic Surfactants	27
	4.1.1 Determination of Time Required for Solubilization	27
	4.1.2 Effect of Surfactants on Solubilization of Hydrocarbons in Oil Sludge	28
	4.2 Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons in Oil Sludge by Single and Mixed Surfactants	33
	4.2.1 The Growth and TPH Degradation of Indigenous Bacteria	33
	4.2.2 Effect of Surfactants on Growth and Biodegradation of Indigenous Bacteria	35
	4.2.3 Effect of Surfactants on Growth and Biodegradation of *Pseudomonas a.*	40
	4.3 Rate of Yield of TPH Degradation by Indigenous Bacteria and *Pseudomonas aeruginosa*	45
	4.4 Enhanced Biodegradation of Oil Sludge by Mixed Surfactants in Bioreactor	48
	4.4.1 The Effect of Mixed Surfactant on Growth and Hydrocarbons Biodegradation of Indigenous Bacteria in Bioreactor	50
	4.4.2 The Effect of Mixed Surfactant on Growth And Hydrocarbons Biodegradation of *Pseudomonas aeruginosa* in Bioreactor	53

CHAPTER		PAGE
V	**CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS**	56
	REFERENCES	58
	APPENDICES	61
	Appendix A Experimental Data of Enhanced Solubilization of Hydrocarbons in Oil Sludge by Single and Mixed Surfactants	61
	Appendix B Experimental Data of Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons in Oil Sludge by Single and Mixed Surfactants	67
	Appendix C Experimental Data of Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons in Bioreactor	75
	Appendix D Analytical Method	87
	CURRICULUM VITAE	88

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Types of wastes applied to full-scale refinery (Mcketta, 1992)	5
2.2	Effluents from the petroleum refinery	5
2.3	Comparison of waste treatment methods	9
2.4	Fuel components/hydrocarbons and microorganisms capable of biodegradation/biotransforming	12
3.1	The characteristics of surfactants used in this study	22
3.2	The conditions of each bioreactor in fill and draw process	26
4.1	(a) Indigenous bacteria, the total TPH degradation and the rate of TPH degradation per weight of nonionic surfactant	48
4.2	(b) *Pseudomonas aeruginosa*, the total TPH degradation and the rate of TPH degradation per weight of nonionic surfactant	48
4.3	The conditions of bioreactors used in this study	49

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
2.1	Example of surfactants	15
4.1	Contact time profile of the enhanced solubilization of oil sludge by single and mixed- surfactants systems	28
4.2	Enhanced solubilization (TOC) of hydrocarbons in oil sludge	30
4.3	Enhanced solubilization (COD) of hydrocarbons in oil sludge	30
4.4	Effect of surfactant on enhanced solubilization of various type of hydrocarbons in oil sludge	32
4.5	TPH degradation of oil sludge by indigenous bacteria	35
4.6	The effect of surfactants on growth of indigenous bacteria	36
4.7	The effect of surfactants on biodegradation of indigenous bacteria	37
4.8	The effect of single and mixed surfactants on biodegradation by indigenous bacteria (reported as type pf hydrocarbons)	39
4.9	The effect of single and mixed surfactants on growth of *Pseudomonas aeruginosa*	41
4.10	The effect of single and mixed surfactants on biodegradation of *Pseudomonas aeruginosa*	41
4.11	The effect of single and mixed surfactants on biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa* (reported as type pf hydrocarbons)	42

FIGURE **PAGE**

4.12 Effect of surfactants on growth *Pseudomonas aeruginosa* 44

4.13 Rate of TPH degradation by indigenous bacteria and *Pseudomonas aeruginosa* 46

4.14 Yield of indigenous bacteria and *Pseudomonas aeruginosa* 47

4.15 The growth of indigenous bacteria in bioreactor 51

4.16 The biodegradation by indigenous bacteria in bioreactor 52

4.17 The growth of *Pseudomonas aeruginosa* in bioreactor 54

4.18 The biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa* in bioreactor 55

ABBREVIATIONS

CMC	Critical micelle concentration
HLB	Hydrophile-liophile balance
TPH	Total petroleum hydrocarbon