

**ENHANCED BIODEGRADATION OF OIL SLUDGE FROM
THE PETROLEUM INDUSTRY USING SURFACTANTS**

Ms. Anusa Ruttanapol

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
Case Western Reserve University, The University of Michigan,
The University of Oklahoma, and Institut Français du Pétrole
2004

ISBN 974-9651-05-7

I 21618835

Thesis Title: Enhanced Biodegradation of Oil Sludge from the Petroleum Industry using Surfactants
By: Ms. Anusa Ruttanapol
Program: Petroleum Technology
Thesis Advisors: Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej
Asst. Prof. Pomthong Malakul

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

K. Bunyakiat.
..... College Director
(Assoc. Prof. Kunchana Bunyakiat)

Thesis Committee:

Sumaeth Chavadej
.....
(Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej)

Pomthong Malakul
.....
(Asst. Prof. Pomthong Malakul)

Daniel Ballerini
.....
(Prof. Daniel Ballerini)

B. Kitiyanan
.....
(Asst. Prof. Boonyarach Kitiyanan)

Kitipat Siemanond
.....
(Dr. Kitipat Siemanond)

ABSTRACT

4573002063: PETROLEUM TECHNOLOGY

Anusa Ruttanapol: Enhanced Biodegradation of Oil Sludge from the Petroleum Industry using surfactant

Thesis Advisors: Assoc. Prof. Sumaeth Chavadej, Asst. Prof.

Pomthong Malakul, Dr. Chatvalee Kalambaheti and Prof. Daniel

Balleirini, 72 pp. ISBN 974-9651-05-7

Keywords: Biodegradation / Bioavailability / Nonionic Surfactant / Solubilization

Although microbial degradation or biodegradation of petroleum hydrocarbons has been known for decades, the success of the process has still been limited by low solubility of hydrocarbons and their bioavailability to the degrading microorganisms. Therefore, the main purpose of this research was to study the effect of three nonionic surfactants, Brij 30, Triton X-100 and Tween 80, on the solubility and biodegradation of hydrocarbons in oil sludge obtained from Petroleum Authority of Thailand by indigenous bacteria consortia and *P. aeruginosa* isolated from a contaminated site in Thailand. The results showed that the solubility of hydrocarbons in the sludge was significantly enhanced by the addition of these surfactants. An optimal concentration was also obtained for each surfactant in which the solubility reached its maximum value. Among three surfactants studied, Brij30 showed greater enhancing effect on the solubilization than Triton X-100 and Tween 80, but at a much higher concentration. In the presence of Brij 30 and Tween 80, the biodegradation of hydrocarbons by both indigenous bacteria and *P. aeruginosa* was increased considerably. For Triton X-100, it was observed that the degrading microorganisms could utilize this surfactant as a source of carbon for their growth which led to a low extent of hydrocarbons degradation.

บทคัดย่อ

อานูสา รัตนพล: การเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยกากตะกอนน้ำมันจากอุตสาหกรรมปิโตรเลียมโดยวิธีทางชีวภาพด้วยสารลดแรงตึงผิว (Enhanced Biodegradation of Oil Sludge from the Petroleum Industry using Surfactants) อ.ที่ปรึกษา: รศ.ดร. สุเมธ ชวเดช ผศ.ดร. ปมทอง มาลากุล ณ อยุธยา ดร. ชัชวาลิ กะลัมพะเหติ และ ศ.ดร. แคนเน็ล บาร์เลอลินี 72 หน้า ISBN 974-9651-05-7

การย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันปิโตรเลียมโดยวิธีทางชีวภาพนั้นเป็นที่รู้จักมานานแล้ว แต่กระบวนการยังคงถูกจำกัดด้วยสมบัติการละลายน้ำที่ต่ำของสารไฮโดรคาร์บอนและความสามารถของสารไฮโดรคาร์บอนในการถูกย่อยสลายด้วยวิธีทางชีวภาพ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีขั้ว (บริดจ์30 ไทรตอนX-100 และ ทวิน80) ต่อการละลายและการย่อยสลายโดยวิธีทางชีวภาพของสารไฮโดรคาร์บอนในกากตะกอนน้ำมันจากการปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย โดยใช้แบคทีเรียที่อยู่ในกากตะกอนน้ำมันและแบคทีเรียที่คัดแยกจากบริเวณที่ถูกปนเปื้อนในประเทศไทยคือ *Pseudomonas aeruginosa* ผลการทดลองพบว่าการละลายของสารไฮโดรคาร์บอนในกากตะกอนน้ำมันเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวทั้งสามชนิดและมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมค่าหนึ่งของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด โดย บริดจ์30 สามารถเพิ่มความสามารถในการละลายสำหรับสารไฮโดรคาร์บอนได้มากกว่า ไทรตอนX-100 และ ทวิน80 แต่ใช้ความเข้มข้นสูงที่กว่า ในระบบที่มีบริดจ์30 และ ทวิน80 การย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนโดยวิธีทางชีวภาพของแบคทีเรียที่มีอยู่ในกากตะกอนน้ำมันและ *Pseudomonas aeruginosa* เพิ่มขึ้นอย่างมาก และพบว่าแบคทีเรียสามารถใช้ ไทรตอนX-100 เป็นแหล่งสารอาหารประเภทคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตได้ ซึ่งทำให้การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนโดยวิธีทางชีวภาพเกิดขึ้นน้อย

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 brothers, 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	
2.1 Wastes Generated from Petroleum Refining and Related Processes	3
2.1.1 Types of Wastes	3
2.1.2 Sources of Wastes	4
2.1.3 Current Treatment Techniques	4
2.2 Microbial Degradation of Hydrocarbon	6
2.2.1 General Pathway of Microbial Hydrocarbon Metabolism	8
2.2.2 Factors Affecting Biodegradation	9
2.3 Use of Surfactants for Enhancing Microbial Degradation of Hydrocarbon	15

CHAPTER	PAGE
III EXPERIMENTAL	18
3.1 Materials	18
3.2 Method	19
IV RESULTS AND DISCUSSION	22
4.1 Preparation and Characterization of The Oil Sludge Samples	22
4.2 Enhanced Solubilization of Hydrocarbons in Oil Sludge by Nonionic Surfactants	23
4.2.1 Determination of Time Required for Solubilization of Oil Sludge by Nonionic Surfactants	23
4.2.2 Effect of Nonionic Surfactants on Solubilization of Hydrocarbons in Oil Sludge	25
4.3 Enhanced Biodegradation of Hydrocarbons in Oil Sludge by Nonionic Surfactants	31
4.3.1 The Growth and TPH Degradation of Indigenous Bacteria	31
4.3.2 Effect of Nonionic Surfactants on Growth and Biodegradation of Indigenous Bacteria	32
4.3.3 Effect of Nonionic Surfactants on Growth and Biodegradation of <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
4.5 Rate of Yield of TPH Degradation by Indigenous Bacteria and <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
V CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	46
5.1 Conclusions	46
5.2 Recommendations	47
REFERENCES	48

CHAPTER	PAGE
APPENDICES	51
Appendix A Experimental data of enhanced solubilization of hydrocarbons in oil sludge by nonionic surfactants	52
Appendix B Experimental data of enhanced biodegradation of hydrocarbons in oil sludge by nonionic surfactants	59
Appendix C Analytical method	71
CURRICULUM VITAE	72

LIST OF TABLES

FIGURE	PAGE
2.1	Types of wastes applied to full-scale refinery (Mcketta, 1992) 4
2.2	Fuel components/hydrocarbons and microorganisms capable of biodegradation/biotransforming (modified from Riser-Roberts, 1992)7
2.3	Examples of biodegradation reactions 8
3.1	The characteristics of surfactants used in this study 18
4.1	Typed of hydrocarbons in oil sludge samples 23
4.2	% Type of hydrocarbons in oil sludge samples when added nonionic surfactants 25
4.3	(a) Indigenous bacteria, the total TPH degradation and the rate of TPH degradation per weight of nonionic surfactant 45
4.3	(b) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , the total TPH degradation and the rate of TPH degradation per weight of nonionic surfactant 45

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
4.1 Oil sludge samples which obtained from PTT PLC	22
4.2 Oil sludge samples after preparation	22
4.3 Effect of contact time on solubilization of oil sludge by nonionic surfactants	24
4.4 Solubilization of hydrocarbons in the oil sludge as enhanced by the addition of the three nonionic surfactants	27
4.5 % Enhanced solubilization reported as type of hydrocarbons	30
4.6 The growth and TPH degradation compare indigenous bacteria	32
4.7 The effect of nonionic surfactants on growth and biodegradation of indigenous bacteria	35
4.8 The effect of nonionic surfactants on biodegradation by indigenous bacteria (reported as type pf hydrocarbons)	36
4.9 The effect of nonionic surfactants on growth and biodegradation of <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
4.10 The effect of nonionic surfactants on biodegradation by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (reported as type pf hydrocarbons)	40
4.11 Effect of nonionic surfactants on growth <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
4.12 Rate of TPH degradation by indigenous bacteria and <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
4.13 Yield of indigenous bacteria and <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44

ABBREVIATIONS

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