



UNIVERSIDAD  
**SAN SEBASTIAN**

FACULTAD DE INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA  
INGENIERÍA CIVIL EN BIOTECNOLOGÍA

**Evaluación del consorcio microbiano comercial BEC-118  
en reactores tipo Reactor de Biopelícula de Lecho Móvil  
(MBBR) para Norske Skog Bio Bio Ltda.**

**PROYECTO DE TÍTULO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
INGENIERO CIVIL EN BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR: Marcelo Alejandro Aqueveque González

TUTORA: Dra. Gladys Vidal Saéz

CO-TUTOR: Dr. Joao Cerqueira Pinto

CONCEPCIÓN, Diciembre de 2010

---

## RESUMEN

La bioaumentación consiste en la adición de cepas de microorganismos con capacidad para mejorar la performance de un proceso de tratamiento biológico. Debido a ello, Norske Skog Bio Bio Ltda. (NSBB) adquirió el producto BEC-118 con el fin de determinar si dicho consorcio microbiano comercial se ajusta a los requerimientos de la empresa y a las características del proceso de tratamiento de efluentes en reactores MBBR. Los ensayos se realizaron con los recursos disponibles en el laboratorio de efluentes de la empresa, utilizando reactores MBBR de 1 Litro de capacidad que fueron operados en régimen por lotes (*batch*), en los cuales se monitoreó la DBO<sub>5</sub>, DQO, pH, OD, NH<sub>3</sub>-N y PO<sub>4</sub>-P. Metodológicamente se realizaron dos diseños experimentales: (1) se aplicó un diseño factorial completo con réplicas para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y las pérdidas de fibra; (2) se utilizó un diseño de superficie de respuesta para optimizar la dosificación de BEC-118 y el tiempo de retención hidráulico necesario para que el producto logre el efecto deseado. Para determinar si el producto tuvo un efecto significativo estadísticamente, se consideró la eficiencia de biodegradación de la DQO (%) como parámetro de comparación entre los diversos tratamientos. Finalmente, se concluye respecto al diseño factorial que la dosis de BEC-118 recomendada por el proveedor no evidencia cambios en la eficiencia de biodegradación en reactores MBBR, pues la aplicación de éste no tiene un efecto estadísticamente significativo en el aumento de la eficiencia de biodegradación de la DQO luego de 22 horas de tratamiento ( $p > 0,05$ ). Así mismo, las pérdidas de fibra no demostraron tener un efecto significativo sobre la eficiencia de biodegradación de la DQO ni de la DBO<sub>5</sub> luego de 22 horas de tratamiento ( $p > 0,05$ ). Por otra parte, el diseño de superficie de respuesta indica que el tiempo de residencia hidráulico es el factor que más afecta la eficiencia de biodegradación de la DQO ( $p < 0,05$ ). Las dosificaciones de BEC-118 estudiadas no se correlacionan con un aumento en la eficiencia de biodegradación de la DQO ( $p > 0,05$ ). Finalmente, el uso del producto BEC-118 como estrategia de bioaumentación para mejorar la eficiencia de biodegradación del proceso de tratamiento de NSBB en reactores MBBR no es factible.

---

## **DEDICATORIA**

Con mucho cariño dedico este proyecto a toda mi familia, en especial para mis padres Ricardo y Siry, de quienes aprendí y heredé todo lo que soy como persona. Ellos me demostraron, con su propio ejemplo, que con responsabilidad y pasión por el trabajo bien realizado se puede llegar muy lejos. De corazón les doy las gracias por su apoyo y soporte a lo largo de todo este proceso.

A mis hermanas Cecilia y Fernanda, muchas gracias por estar conmigo en todo momento. También a Juan y Marlyn, quienes también los considero como hermanos de toda la vida, a todos los quiero mucho.

A mi abuela Ema que me acompaña en todo momento observándome desde el cielo, y a mi abuela Lidia de quien tengo la dicha de seguir disfrutando en estos momentos.

A mi polola, Myrna, por acompañarme en todo momento, por su paciencia, por su contagiosa alegría y por todo el amor que me da, motivándome siempre a dar lo mejor de mí.

A mis amigos y profesores de Universidad con quienes crecí como persona y disfruté gratos momentos.

A mi tío Marcelo quien me tendió la mano cuando la necesité.

---

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera manifestar mis sinceros agradecimientos a toda la gente de Norske Skog Bio Bio que me abrió las puertas para finalizar mi proyecto de título después del terremoto. En especial a la Sra. Gladys Rivera y la Sra. Marlene Cariñanco, con quienes compartí cerca de 3 años de experiencia. Por todo el respaldo y enseñanzas que me dieron, no sólo en el desarrollo de este proyecto, sino durante mi formación como profesional.

También quiero agradecer afectuosamente, por la buena disposición al momento de solicitar ayuda, a cada una de las personas que se hicieron partícipes del proyecto sobre todo a la Sra. Pentecilea, Rina y Alda. A los operadores de la planta de tratamiento: Gonzalo y don Sergio. A la gente de Nalco: Sandra, Yésica, Mauricio, Israel, César y don Feña. También a quiero agradecer a Verónica por su paciencia y apoyo.

A la Dra. Gladys Vidal del centro de ciencias ambientales EULA, quien creyó en mí sin conocerme y se ofreció gentilmente para guiarme. Agradezco también a Guillermo, quien revisó meticulosamente el proyecto y me corrigió cuando fue necesario.

Al profesor Joao Cerqueira, por ser un excelente profesor y estar siempre comprometido con la enseñanza de sus alumnos.

---

## INDICE

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
	2.1. Objetivo General.....	3
	2.2. Objetivos Específicos .....	3
<b>3.</b>	<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
	3.1. La industria del papel .....	4
	3.1.1. La industria del papel en Chile .....	4
	3.1.2. El proceso en Norske Skog Bio Bio.....	5
	3.2. Tratamiento de efluentes.....	7
	3.2.1. Contaminación del agua en la industria de la celulosa y el papel.....	7
	3.2.2. Tratamiento de efluentes en la industria de la celulosa y el papel.....	8
	3.2.3. Biopelículas en el tratamiento de efluentes.....	9
	3.2.4. Reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR).....	10
	3.3. Biopelículas .....	12
	3.3.1. Formación y desarrollo de la biopelícula .....	12
	3.3.2. Sustancias poliméricas extracelulares .....	14
	3.3.3. Interacciones en la biopelícula .....	15
	3.4. Los procesos de tratamiento biológico.....	16
	3.4.1. Requerimientos de nutrientes.....	17
	3.4.2. Transformaciones de los nutrientes en los sistemas de tratamiento biológico .....	18
	3.5. Biorremediación.....	20
	3.5.1. Bioaumentación .....	22
	3.5.2. Bioestimulación.....	26

---

<b>4.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
4.1.	Muestreo, almacenaje y caracterización del efluente .....	27
4.2.	Determinación de parámetros físico-químicos .....	27
4.2.1.	pH .....	27
4.2.2.	Temperatura .....	27
4.2.3.	Demanda química de oxígeno (DQO) .....	28
4.2.4.	Demanda bioquímica de oxígeno (DBO <sub>5</sub> ) .....	28
4.2.5.	Fósforo reactivo soluble mediante método de ácido ascórbico (HACH 8048).....	29
4.2.6.	Nitrógeno amoniacal mediante método de Nessler (HACH 8038).....	29
4.2.7.	Sólidos Suspendidos Totales .....	30
4.3.	Procedimiento experimental.....	31
4.3.1.	Evaluación de la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra en el proceso de tratamiento biológico. ....	31
4.3.2.	Optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118.....	33
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
5.1.	Evaluación de la dosificación del producto BEC-118 recomendada por el proveedor y efecto de las pérdidas de fibra .....	34
5.1.1.	Caracterización del efluente .....	34
5.1.2.	Cinéticas de biodegradación en régimen batch .....	34
5.1.3.	Comportamiento de los nutrientes.....	37
5.1.4.	Comportamiento de la DBO <sub>5</sub> .....	39
5.2.	Optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118 .....	40
5.2.1.	Caracterización del efluente .....	40
5.2.2.	Eficiencia de biodegradación de la DQO.....	40

---

<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>43</b>
	6.1. Evaluación de la dosificación del producto BEC-118 recomendada por el proveedor y efecto de las pérdidas de fibra .....	43
	6.2. Optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118 .....	45
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>8.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>49</b>
<b>9.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>50</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>55</b>
	<b>Anexo 1.</b> Proceso de tratamiento de RILES de Norske Skog Bio Bio. ....	55
	<b>Anexo 2.</b> Parámetros de diseño para el sistema MBBR .....	58
	<b>Anexo 3.</b> Cinéticas de biodegradación de DQO para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra según tipo de tratamiento ....	59
	<b>Anexo 4.</b> Análisis estadístico para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra. ....	61
	<b>Anexo 5.</b> Gráfica de residuos para la optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118 .....	65

---

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Participación en el mercado de las empresas del sector paplero. ....	4
<b>Figura 2.</b> Visión general de la configuración de los reactores comúnmente utilizados en el tratamiento de aguas residuales. ....	10
<b>Figura 3.</b> Principio de funcionamiento de los reactores MBBR según tipo de agitación.....	11
<b>Figura 4.</b> Representación de las etapas involucradas en el proceso de formación de la biopelícula. ....	14
<b>Figura 5.</b> Vías de eliminación del carbono de aguas residuales.....	17
<b>Figura 6.</b> Etapas necesarias para el tratamiento biológico del nitrógeno. ....	19
<b>Figura 7.</b> Esquema general de las etapas para la definición e implementación de un proceso de biorremediación. ....	21
<b>Figura 8.</b> Ejemplo del impacto de la bioaumentación en la calidad y cantidad de la población microbiana ..... .....	23
<b>Figura 9.</b> Esquema experimental para evaluar el consorcio microbiano comercial BEC-118 y el efecto de las pérdidas de fibra. ....	31
<b>Figura 10.</b> Montaje de los bioreactores con sus respectivos tratamientos. ....	32
<b>Figura 11.</b> Cinéticas de biodegradación de la DQO para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra. ....	36
<b>Figura 12.</b> Eficiencia de biodegradación DQO (%) según tipo de tratamiento. ....	36
<b>Figura 13.</b> Interacción entre los factores en estudio sobre la eficiencia de biodegradación DQO (%) transcurrido 22 horas de tratamiento. ....	37
<b>Figura 14.</b> Comportamiento de los nutrientes según tipo de tratamiento, a tiempos 0 y 22 horas.....	38
<b>Figura 15.</b> Comportamiento de la DBO <sub>5</sub> según tipo de tratamiento, a tiempos 0 y 22 horas. ....	39
<b>Figura 16.</b> Superficie de respuesta para evaluar la eficiencia de biodegradación DQO (%) y su relación con las variables en estudio, dosificación y tiempo de residencia del producto BEC-118. ....	42
<b>Figura 17.</b> Diagrama de flujo planta de tratamiento secundario de Norske Skog Bio Bio ..... .....	55
<b>Figura 18.</b> Análisis de residuos para eficiencia de biodegradación de DQO (%) ..... .....	65



---

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Empresas productoras de papeles y cartulinas.....	5
<b>Tabla 2.</b> Caracterización del efluente de Papeles Norske Skog Bio Bio (NSBB).....	6
<b>Tabla 3.</b> Tipos de soportes desarrollados por Anoxkaldnes.....	11
<b>Tabla 4.</b> Donadores y aceptores de electrones para la oxidación de carbono, nitrificación y desnitrificación.....	20
<b>Tabla 5.</b> Especificaciones técnicas del consorcio microbiano BEC-118.....	24
<b>Tabla 6.</b> Factores que influyen en los procesos de bioaumentación y bioestimulación.....	25
<b>Tabla 7.</b> Resumen de los métodos utilizados en este estudio .....	27
<b>Tabla 8.</b> Diseño experimental para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor..	32
<b>Tabla 9.</b> Diseño de superficie de respuesta para evaluar la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118. ....	33
<b>Tabla 10.</b> Caracterización del efluente empleado para evaluar la dosificación del producto BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra. ....	34
<b>Tabla 11.</b> Caracterización del efluente empleado para optimizar la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118. ....	40
<b>Tabla 12.</b> Regresión de superficie de respuesta (Modelo Lineal): Eficiencia de biodegradación DQO (%) v/s Tiempo – BEC-118 .....	41
<b>Tabla 13.</b> Parámetros de diseño para el sistema MBBR de Norske Skog Bio Bio .....	58
<b>Tabla 14.</b> Resultados cinética, tratamiento con Fibra - sin BEC-118.....	59
<b>Tabla 15.</b> Resultados cinética, tratamiento con Fibra - con BEC-118.....	59
<b>Tabla 16.</b> Resultados cinética, tratamiento sin Fibra - sin BEC-118. ....	60
<b>Tabla 17.</b> Resultados cinética, tratamiento sin Fibra - con BEC-118.....	60
<b>Tabla 18.</b> Análisis de varianza de dos vías para eficiencia de biodegradación (%) a las 4 horas de tratamiento.....	61
<b>Tabla 19.</b> Análisis de varianza de dos vías para eficiencia de biodegradación (%) a las 22 horas de tratamiento.....	61
<b>Tabla 20.</b> Análisis de varianza de dos vías para DBO <sub>5</sub> (mg/L) a las 0 horas.....	62
<b>Tabla 21.</b> Análisis de varianza de dos vías para DBO <sub>5</sub> (mg/L) a las 22 horas.....	62
<b>Tabla 22.</b> Análisis de varianza de una vía para evaluar el efecto principal de las medias de los tratamientos en estudio. ....	63

---

**Tabla 23.** Análisis de varianza de dos vías para Nitrógeno amoniacal (mg/L) a las 22 horas de tratamiento.....63

**Tabla 24.** Análisis de varianza de dos vías para Ortofosfatos (mg/L) a las 22 horas de tratamiento .....64

---

## ABREVIATURAS

NSBB	Norske Skog Bio Bio	
INFOR	Instituto Forestal	
CORMA	Corporación Chilena de la Madera	
APL	Acuerdo de Producción Limpia	
ISO	Organización Internacional para la Estandarización	
OHSAS	Sistemas de Gestión de Salud y Seguridad Laboral	
DIA	Declaración de Impacto Ambiental	
MBBR	Reactor de Biopelícula de Lecho Móvil	
DBO <sub>5</sub>	Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días	(mg/L)
DQO	Demanda Química de Oxígeno	(mg/L)
SST	Sólidos Suspendidos Totales	(mg/L)
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles	(mg/L)
SSF	Sólidos Suspendidos Fijos	(mg/L)
NH <sub>3</sub> -N	Nitrógeno Amoniacal	(mg/L)
PO <sub>4</sub> -P	Ortofosfato	(mg/L)
OD	Oxígeno Disuelto	(mg/L)
C <sub>e</sub>	Concentración Entrada	
C <sub>s</sub>	Concentración Salida	
FISH	Hibridización <i>in situ</i> con fluorescencia	
PCR-DGGE	Reacción en cadena de la polimerasa – Electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización	

## **1. Introducción**

El mayor problema de las plantas de tratamiento de efluentes es que ellas se encuentran generalmente sobrecargadas. Por ello, diversos laboratorios han desarrollado consorcios microbianos específicos, también conocidos como productos de bioaumentación, para incrementar el porcentaje de bacterias que contribuyen efectivamente a la planta de tratamiento, con el fin de mejorar los resultados generales del proceso. Los consorcios microbianos tienen una acción sinérgica y han sido específicamente seleccionadas por su habilidad para degradar sólidos, grasas, lípidos, proteínas, hidrocarburos, celulosa, entre otros compuestos, contribuyendo con ello a la reducción de la DBO<sub>5</sub>, DQO y malos olores (EmTec, 2010).

Las estrategias de control tradicionales están enfocadas en el monitoreo y control de los parámetros operacionales del sistema, tal como: pH, temperatura y adición de nutrientes. Mientras que una estrategia bioaumentación está centrada en el manejo de la comunidad microbiana del sistema. En un estado dinámico, algunas poblaciones microbianas están muriendo y otras creciendo volviéndose más dominantes. Bajo condiciones adversas, tal como shocks tóxicos, ciertas poblaciones microbianas pueden reducirse o ser completamente eliminadas, disminuyendo así la calidad del efluente. En tales condiciones, las plantas de tratamiento de efluentes tienen una lenta recuperación. Por ello, la bioaumentación es considerada como una alternativa para lograr una optimización de este tipo de plantas (Foster & Kramer, 1997).

Debido los beneficios que ofrece una estrategia de bioaumentación, Norske Skog Bio Bio adquirió el producto comercial BEC-118, con el fin de contribuir a la reducción de la DBO<sub>5</sub>, y así cumplir con estándares internacionales comparables con otras instalaciones fabriles del grupo.

A contar del año 2008 se ha estado adicionando BEC-118 de acuerdo a las recomendaciones del proveedor. Sin embargo, los continuos cambios en las

condiciones del proceso no han permitido atribuir fehacientemente un efecto positivo del producto para seguir justificando su adquisición.

Para asegurar que los productos de bioaumentación puedan lograr el efecto deseado es necesario darles un tiempo de aclimatación, debido a que necesitan adaptarse a las condiciones del efluente a tratar y un periodo para aumentar su biomasa. El proceso de tratamiento en Norske Skog Bio Bio Ltda. tiene un tiempo de retención hidráulica que varía entre 2 a 4 horas, dependiendo del caudal de efluente, lo que impide darle dicho periodo de aclimatación y tiempo de crecimiento necesario. Para intentar compensar dicho tiempo de residencia y asegurar que el consorcio microbiano pueda fijarse en el lecho (*carrier*) es necesario elaborar una estrategia que permita determinar la mejor técnica de dosificación del producto, verificando además que éste perdure en el tiempo.

La justificación del proyecto consiste en la necesidad de evaluar si el producto BEC-118 se ajusta a los requerimientos de NSBB y a las características del proceso de tratamiento de efluentes en reactores MBBR.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo General**

- Evaluar la efectividad del consorcio microbiano comercial BEC-118 en el proceso de tratamiento de efluentes con reactores MBBR.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar si la dosificación del producto BEC-118 recomendada por el proveedor tiene un efecto significativo en el proceso de tratamiento biológico.
- Evaluar si las pérdidas de fibra intervienen en la eficiencia del proceso de tratamiento biológico.
- Optimizar la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118, y determinar si este se ajusta a los requerimientos de la empresa.

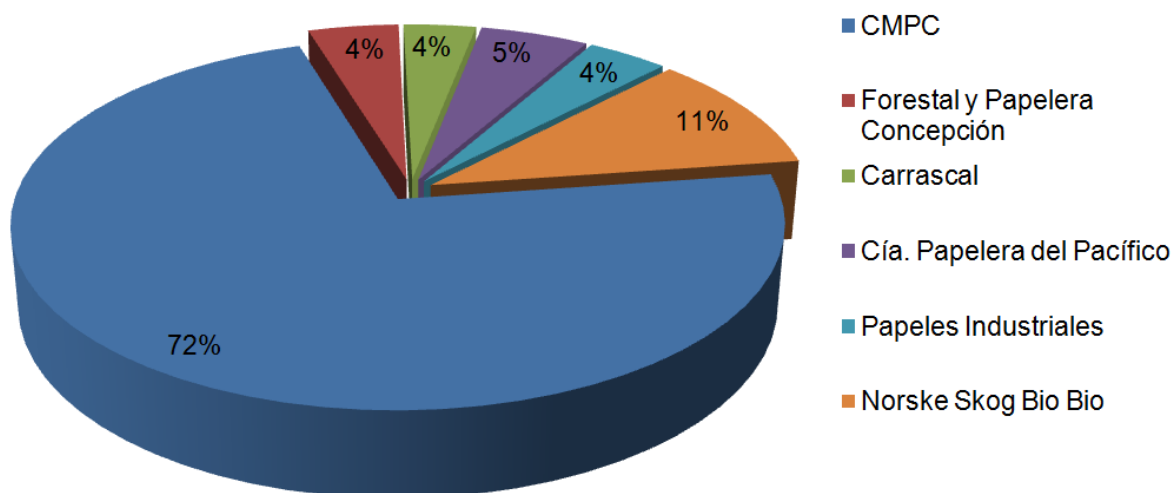
### 3. Revisión Bibliográfica

#### 3.1. La industria del papel

##### 3.1.1. La industria del papel en Chile

Se llama productos de papel a todos aquellos artículos para cuya fabricación se utiliza el papel como materia prima. La importancia y utilidad de estos productos es indiscutida, por cuanto forman parte de la mayoría de los ambientes cotidianos del ser humano, aportándole funcionalidad, comodidad, orden, higiene y protección de los productos. Los principales productos de la industria del papel son papel corrugado, de impresión y escritura, cartulina, papel para periódico, papel tissue, entre otros (Papernet, 2010).

Respecto a la participación en el mercado de papel y cartulinas en Chile (INFOR, 2010), las plantas de empresas CMPC tienen una participación del 72%, luego viene en segundo y tercer lugar, papeles Norske Skog Bio Bio con un 11% y Cía. Papelera del Pacífico con un 5% de participación (Figura 1), respectivamente.



**Figura 1.** Participación en el mercado de las empresas del sector papero (INFOR, 2010).

En la Tabla 1 se presentan las empresas productoras de papeles y cartulinas a nivel nacional.

**Tabla 1.** Empresas productoras de papeles y cartulinas (CORMA, Región del Bío-Bío, 2010).

<b>Empresa</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Producción (miles ton/año)</b>	<b>Producto</b>
Cartulinas CMPC	Maule, VII Región	180	Cartulinas, papeles para corrugar y para la construcción
Cartulinas CMPC	Valdivia, X Región	40	Cartulinas, papeles para corrugar y para la construcción
Inforsa CMPC	Nacimiento, VIII Región	195	Papel para periódico
Papeles Cordillera CMPC	Puente Alto, RM	300	Papeles de impresión y escritura, papeles para corrugar, papeles para envolver y embalaje y papel tissue
CMPC	Laja, VIII Región	80	Papeles de impresión y escritura y papeles para embalaje
CMPC	Talagante, RM	33	Papel tissue
Forestal y Papelera Concepción	Coronel, VIII Región	50	Papel para periódico
Carrascal	Quinta Normal, RM	40	Papeles para corrugar
Cía. Papelera del Pacífico	San Francisco de Mostazal, VI Región	60	Papeles para corrugar
Papeles Industriales	Lampa, RM	45	Papeles tissue y papeles para envolver
Norske Skog Bio Bio	San Pedro, VIII Región	120	Papel para periódico

### 3.1.2. El proceso en Norske Skog Bio Bio

Papeles Norske Skog Bio Bio tiene una producción anual de 120 mil toneladas de papeles de impresión y escritura, exportando el 60% principalmente a Brasil, Argentina, Perú, Ecuador, Paraguay y Bolivia. La planta cuenta con un Sistema de Gestión integrado, certificado internacionalmente por las normas ISO 9001, ISO 14001 y OHSAS 18001. Esto garantiza el uso eficiente de los recursos y un mejoramiento continuo de la calidad de sus productos y de su desempeño ambiental, seguridad y salud ocupacional.



En la actualidad la fábrica de Papeles Norske Skog Bio Bio descarga el efluente tratado del proceso al río Bío-Bío en un punto situado en la ribera sur, unos 200 metros aguas arriba del puente Juan Pablo II, en la comuna de San Pedro de la Paz, provincia de Concepción. El proceso que utiliza para producir papel, conocido como PGW (*Pressurized GroundWood*), consiste básicamente en extraer la fibra de madera en forma mecánica y acondicionarla posteriormente como hojas de papel en 2 Máquinas Papeleras. Este proceso genera efluentes líquidos que se caracterizan por su contenido de fibra de madera en suspensión y materia orgánica soluble (DIA, 2006).

Para cumplir con la normativa ambiental vigente, Norske Skog Bio Bio consta con un sistema de tratamiento biológico consistente en 2 bioreactores con relleno suspendido, conocidos como reactores biológicos de lecho móvil (o en inglés MBBR, Moving Bed Biological Reactor) que reducen la carga de DBO<sub>5</sub> a valores menores a los establecidos por el DS 90 (Tabla 2), atendiendo con ello a las directrices corporativas de la Casa Matriz de la empresa, de avanzar progresivamente en la reducción de este parámetro hasta alcanzar estándares internacionales comparables con otras instalaciones fabriles del grupo (DIA, 2009).

**Tabla 2.** Caracterización del efluente de Papeles Norske Skog Bio Bio (NSBB) (DIA, 2009).

PARÁMETRO	UNIDAD	PROMEDIO NSBB	MIN.	MAX.	TABLA 2 DS 90	TABLA 5 DS 90
Caudal	m <sup>3</sup> /h	450		850		
Aceites y grasas (A y G)	mg/L	8		13	20	150(*)
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	85		300	300	300(*)
Sólidos Sedimentables (SSED)	ml/L/h	0,1		20	s/r	20(*)
DBO <sub>5</sub>	mg/L	174		300	300	s/r
Temperatura	°C	34(**)		40(**)	40	s/r
pH	unidad	6,7	6	8,5	6,0-8,5	5,5-9,0
Coliformes Fecales (Coli/100mL)	NMP/100mL	10 <sup>3</sup>	0	10 <sup>5</sup>	1000	s/r
Fósforo (P)	mg/L	2		3	15	s/r
Nitrógeno Total (NKT)	mg/L	4		6	75	s/r
Poder Espumógeno (PE)	mm	1		7	7	s/r

s/r: sin requerimiento

(\*): Límite permitido a partir del 10º año de vigencia del DS 90/2000

(\*\*): Valor medido en la descarga actual al río Bío-Bío

## 3.2. Tratamiento de efluentes

### 3.2.1. Contaminación del agua en la industria de la celulosa y el papel

El agua es esencial para todas las formas de vida, sin embargo, la contaminación del agua y la destrucción de los ecosistemas aumentan día a día. El rápido crecimiento de la población y el incremento de la demanda por establecimientos industriales para satisfacer las necesidades humanas ha creado problemas tales como la sobreexplotación de los recursos disponibles, contribuyendo a la contaminación del ambiente terrestre, aéreo y acuático (Pokhrel & Viraraghavan, 2004). En Chile existen actualmente 13 Plantas de celulosa que operan un total de 17 líneas de producción. De éstas, 12 líneas de producción fabrican celulosa Kraft y el resto produce pulpa mecánica. Estas últimas producen unas 500 mil toneladas por año de pulpa mecánica en base a *Pinus radiata*, y se tratan de plantas totalmente integradas que la utilizan para fabricar una amplia gama de productos como el papel para periódicos, otros papeles de impresión, escritura y cartulinas (Papelnat, 2010).

La fabricación de productos derivados del sector forestal generan residuos líquidos con distintas características fisicoquímicas que dependen de la materia prima, tecnología y procesos utilizados (Xavier & Vidal, 2003). Particularmente en la industria del papel se utilizan entre 40 y 60 m<sup>3</sup> de agua por tonelada de producto que resulta en una gran cantidad de residuos líquidos industriales (APL, 2005). Entre los principales impactos de este tipo de efluente destacan: una elevada carga orgánica, sólidos, formación de espuma, problemas de color, pérdida de la estética en el ambiente, entre otros. Esto también incrementa la cantidad de sustancias tóxicas en el agua, causando la muerte del zooplancton y produciendo efectos irreversibles en peces, afectando de manera global del ecosistema terrestre (Karrasch *et al.*, 2006; Pokhrel & Viraraghavan, 2004).

### 3.2.2. Tratamiento de efluentes en la industria de la celulosa y el papel

La contaminación en la industria de la celulosa y el papel puede ser minimizada por varias modificaciones en los procesos internos, monitoreando y controlando la contaminación medida como DBO<sub>5</sub>, DQO, reducción del color, etc. Sin embargo, el tratamiento de efluentes por procesos externos es esencial, pues dependiendo del tipo de industria varía su descarga de contaminantes, como también los métodos de tratamiento (Pokhrel & Viraraghavan, 2004). En plantas de celulosa y papel es ampliamente conocida la tecnología de tratamiento primario y secundario, que tienen como objetivo eliminar sólidos suspendidos y carga orgánica, respectivamente (Xavier & Vidal, 2003). Dentro del tratamiento secundario de efluentes destacan el tratamiento por lodos activados, laguna aireada, o tecnologías más modernas, tales como los procesos de biomasa adherida. Mediante este tipo de tratamiento, es posible obtener eficiencias de eliminación de carga orgánica biodegradable (DBO<sub>5</sub>) entre un 85-99% y, en algunos casos, la reducción de la DQO entre un 24-82% con tiempos de retención hidráulico menores a 2 horas (Pokhrel & Viraraghavan, 2004; Villamar *et al.*, 2009).

En Chile las tecnologías implementadas en la mayoría de las industrias de la celulosa y el papel para el tratamiento secundario de efluentes son de tipo biológica aeróbica, las que pueden ser subdivididas, de acuerdo a la forma de operación en sistemas de biomasa libre y adherida. Dentro de los sistemas de biomasa libre se encuentran las lagunas aireadas y lodos activados, que han evidenciado problemas en la eficiencia de eliminación de materia orgánica y nutrientes cuando existen desestabilizaciones. Esto se debe principalmente por ingresos de shocks tóxicos, desbalance de nutrientes y/o pick de cargas orgánicas en el sistema, lo que genera problemas en la sedimentabilidad de la biomasa de dos formas: en primer lugar, puede provocar crecimiento indeseado de bacterias filamentosas, debido a que estas ocupan una mayor área superficial y absorben la mayor parte de los nutrientes disponibles dejando fuera de competencia a los microorganismos capaces de formar flóculos; en segundo lugar, particularmente en respuesta a la limitación de fósforo, los microorganismos pueden producir sustancias poliméricas extracelulares como una

forma de utilizar el exceso de carbono, sin producir nuevas células bacterianas (Slade *et al.*, 2004). Debido a tales problemas, la tendencia actual es la implementación de sistemas de biomasa adherida, principio que se basa en la formación de una biopelícula en soportes móviles. Este proceso disminuye la producción de lodo y mejora su calidad, generando estabilidad y diversificación de la biomasa microbiana (Qureshi *et al.*, 2005; Pozo, 2009).

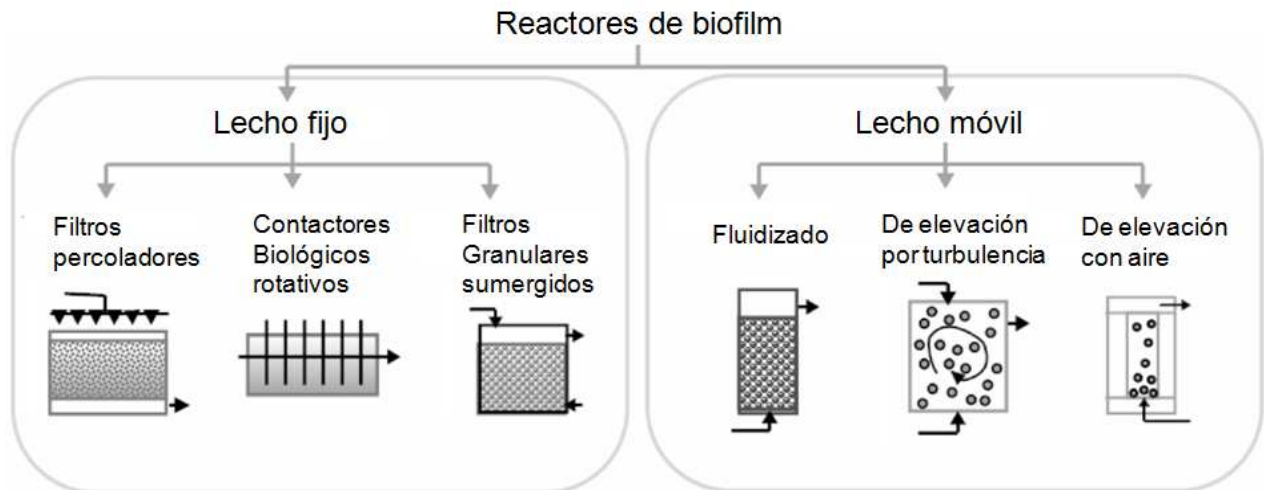
### 3.2.3. Biopelículas en el tratamiento de efluentes

El tratamiento de efluentes con sistemas de biopelícula tiene varias ventajas en comparación con los sistemas de crecimiento suspendido. Algunos de los beneficios son: la flexibilidad operacional, menor requerimiento de espacio, menor tiempo de retención hidráulica, resistencia a cambios en el ambiente, incremento del tiempo de residencia de la biomasa, concentración de biomasa altamente activa, capacidad mejorada para degradar compuestos recalcitrantes, como también una menor producción de lodo, un mejor control de la velocidad de reacción y dinámica poblacional (Andersson, 2009; Jähren *et al.*, 2002).

Las configuraciones de reactores de biopelícula aplicados en el tratamiento de aguas incluyen: filtros percoladores, filtros plásticos, contactores biológicos rotativos, reactores de lecho fluidizado, reactores de elevación por aire (*airlift*), filtros granulares y reactores con células inmovilizadas. Basado en el estado del tipo de material de soporte se puede hacer una división general entre los procesos de lecho fijo y lecho móvil (Figura 2).

Los sistemas de lecho fijo incluyen todos los sistemas donde la biopelícula se forma en un medio estático tal como rocas, plásticos, esponjas, *carriers* granulares o membranas, mientras el líquido fluye a través del medio estático suplementando oxígeno y nutrientes a los microorganismos. Los sistemas de lecho móvil incluyen todos los procesos de biopelícula con un medio que se mueve continuamente por efecto de un gran flujo de aire, flujo de agua o agitación mecánica. El material del lecho (*carrier*) se selecciona de acuerdo al tamaño, porosidad, densidad y resistencia a la erosión.

Utilizando un material de gran área superficial ( $m^2/m^3$ ), se puede mantener una elevada actividad biológica utilizando un volumen de reactor relativamente menor. El espesor la biopelícula en los reactores se controla generalmente por la aplicación de fuerzas de corte, las cuales se logran por una modificación de la intensidad de agitación o variando la velocidad de flujo (Celmer *et al.*, 2008; Andersson, 2009).



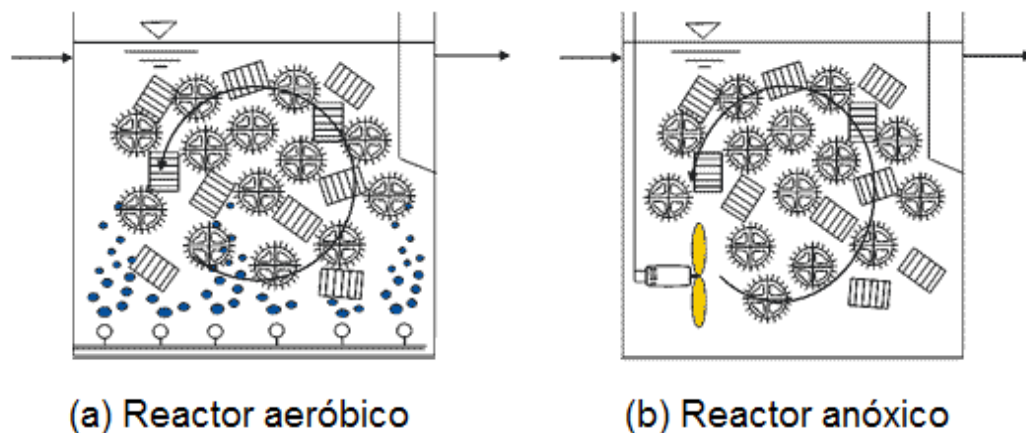
**Figura 2.** Visión general de la configuración de los reactores comúnmente utilizados en el tratamiento de aguas residuales (adaptado de Andersson, 2009).

### 3.2.4. Reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR)

El proceso MBBR fue desarrollado y patentado por la compañía noruega Kaldnes (Mijoteknologi Tonsberg, Noruega), en cooperación con la Fundación para la Investigación Científica e Industrial de la Universidad Noruega de Ciencia y Tecnología (Trondheim, Noruega). Las principales ventajas de los reactores MBBR son que se pueden operar de manera continua, no requieren lavado, tienen bajas pérdidas de carga y una alta área superficial específica para la formación de la biopelícula. Esto se logra creciendo la biopelícula en pequeños *carriers* que se mueven con el agua a lo largo del reactor. En la versión aeróbica, una parrilla de aireación colocada en el fondo del reactor suministra tanto el oxígeno necesario a la biopelícula como la energía de agitación necesaria para mantener el soporte en suspensión a lo largo de todo el

reactor. El agua tratada sale a través de un colector de rejilla que retiene el soporte dentro del reactor. Dependiendo del tipo de agua residual, el reactor puede ir equipado con boquillas especiales que previenen el apareamiento de espumas (Rusten *et al.*, 1998).

Los *carriers* están hechos de polietileno (densidad  $0.96 \text{ g/cm}^3$ ) y, dependiendo del modelo, tienen una mayor o menor área superficial protegida (caras internas) para el crecimiento de la biopelícula. El área superficial específica teórica del soporte se define como el área superficial por unidad de volumen de soporte. El relleno de *carriers* en el reactor se define como la razón del volumen ocupado por los *carriers*, considerados como soportes sólidos, en el volumen total del reactor (Salveti *et al.*, 2006). Este debe ser determinado para cada caso en particular, con un máximo cercano al 70% (Rusten *et al.*, 1998).



**Figura 3.** Principio de funcionamiento de los reactores MBBR según tipo de agitación. (a) Reactor aeróbico, (b) Reactor anóxico (adaptado de VeiolaWater, 2010).

El área específica de crecimiento de la biopelícula depende también del modelo de soporte a utilizar, según se describe en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Tipos de soportes desarrollados por Anoxkaldnes (Anoxkaldnes, 2010).

Modelo	Espesor (mm)	Diámetro (mm)	Superficie protegida (m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> )	Superficie Total (m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> )
K1	7	9	500	800
K3	12	25	500	600
Natrix C2	30	36	220	265
Natrix M2	50	64	200	230
Biofilm-Chip M	2,2	48	1200	1400
Biofilm-Chip P	3,0	45	900	990

Las especificaciones de diseño de los reactores MBBR de Norske Skog Bio Bio se pueden encontrar en el Anexo 2. A continuación se detallan los aspectos teóricos de la formación de la biopelícula y de los procesos de tratamiento biológico.

### 3.3. Biopelículas

#### 3.3.1. Formación y desarrollo de la biopelícula

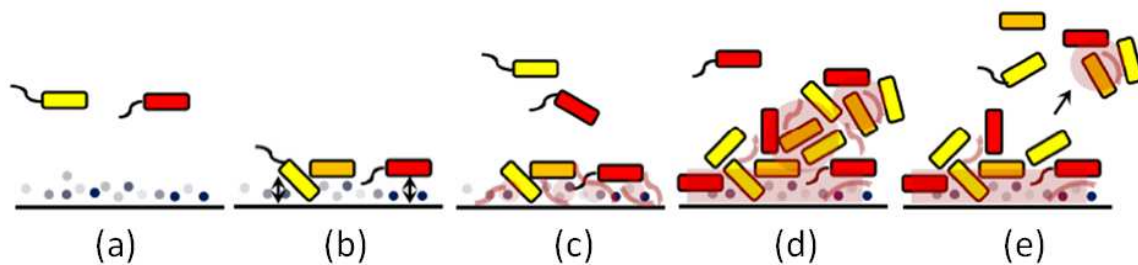
Una biopelícula es un sistema microbiano organizado, conformado por microorganismos pertenecientes a diferentes géneros y especies, que puede formarse tanto en superficies bióticas como abióticas. Dependiendo de la naturaleza de los microorganismos y el ambiente en el que se desarrollen varía su estructura, química y fisiología (Branda *et al.*, 2005). Las distintas etapas del proceso de formación de la biopelícula han sido identificadas y simplificadas en la Figura 4. Las superficies en ambientes acuosos generalmente constituyen una película formada por la adsorción de solutos inorgánicos y moléculas orgánicas (Figura 4, a). Las bacterias llegan hacia la superficie por quimio taxis y movimientos brownianos, dando origen a una asociación temporal bacteria-superficie (Figura 4, b), mediado por fuerzas no específicas tales como fuerzas de Van der Waals, fuerzas electrostáticas, puentes de hidrógeno y fuerzas de movimiento browniano (Palmer *et al.*, 2007). En la superficie, las células se van

anclando debido a la producción de sustancias poliméricas extracelulares. Este estado se conoce como adhesión irreversible (Figura 4, c), es realmente irreversible sólo en ausencia de un estrés físico o químico. Los mecanismos de adhesión irreversible son producto de la síntesis de exopolisacáridos, los cuales forman complejos en la superficie del material junto con la secreción de proteínas específicas (adhesinas) que median la unión molecular. Durante la adhesión inicial intervienen varias fuerzas de corto alcance e incluyen enlaces covalentes, puentes de hidrógeno, enlaces iónicos y también interacciones hidrofóbicas. Las células inicialmente adheridas raramente entran en contacto con la superficie, debido a las fuerzas electrostáticas repulsivas, por ello secretan exopolisacáridos que las unen al sustrato superficial. Una vez ancladas a la superficie, comienza la división celular y el reclutamiento de bacterias planctónicas (o bacterias libres) favoreciendo el desarrollo y crecimiento de la biopelícula (Figura 4, d) (James *et al.*, 1995; Palmer *et al.*, 2007; Branda *et al.*, 2005).

Las células bacterianas adheridas a la superficie utilizan los nutrientes de la biopelícula para crecer y producir más exopolisacárido, originando microcolonias que eventualmente se expanden para formar una capa que cubre la superficie. El mecanismo de control de expresión genética depende de la densidad celular y se denomina detección de quórum (*quorum sensing*), este fenómeno es el responsable de que un conjunto de células independientes, bajo la generación de señales extracelulares, desarrolle comportamientos sociales coordinados (Branda *et al.*, 2005; Andersson *et al.*, 2008).

Una biopelícula madura es dinámica, las comunidades son heterogéneas y pueden adoptar variadas formas dependiendo de las características del ambiente circundante (disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura, fuerzas de corte u osmolaridad), como también la composición del consorcio microbiano. La avanzada organización de la biopelícula le permite adaptarse continuamente a los cambios a su alrededor y, ante condiciones adversas, las bacterias pueden dejar su confortable existencia dentro de la comunidad de la biopelícula para salir en busca un hábitat más favorable para establecerse. Dicha etapa se conoce como desprendimiento (Figura 4, e).





**Figura 4.** Representación de las etapas involucradas en el proceso de formación de la biopelícula: (a) formación del film superficial por adsorción de solutos inorgánicos y moléculas orgánicas; (b) adhesión inicial de las células bacterianas; (c) adhesión irreversible de las bacterias; (d) maduración del biofilm; y (e) desprendimiento (adaptado de Andersson, 2009).

Los factores biológicos, químicos y físicos que manejan el desprendimiento son complejos y se incluyen: degradación de las sustancias poliméricas extracelulares, carencia de nutrientes u oxígeno, *quorum sensing*, fuerzas de corte hidráulico, desprendimiento y erosión. El desprendimiento involucra una sobrerregulación de genes que codifican enzimas degradadoras de carbohidratos que debilitan las fuerzas de cohesión dentro de la biopelícula, desprendiéndose en células solas o bien en unidades de biopelícula (Liu *et al.*, 2003; Qureshi *et al.*, 2005; Andersson, 2009).

### 3.3.2. Sustancias poliméricas extracelulares

La producción de una matriz extracelular es requisito para la formación de la biopelícula. La matriz de la biopelícula tiene generalmente una composición de agua superior al 97%, 2-5% de células microbianas, 3-6% de exopolisacárido e iones. El exopolisacárido, a su vez, está normalmente compuesto de un 40-95% de polisacáridos, 1-60% de proteínas, 1-10% de ácidos nucleicos y entre 1-40% de lípidos (Andersson, 2009). La composición del exopolisacárido varía con la composición del consorcio microbiano y las condiciones ambientales. Además de las propiedades estructurales y de protección, el exopolisacárido puede servir como sustrato para el crecimiento celular bajo condiciones de inanición. La distribución del exopolisacárido en la biopelícula varía temporalmente y espacialmente. En general, se ha encontrado una

relación que mientras más antigua y gruesa sea la biopelícula, mayor es la cantidad de exopolisacárido. Las biopelículas más delgadas están compuestas de menos exopolisacárido, pero son más ricas en proteínas. En la capa superior de la biopelícula se encuentran las mayores densidades celulares que disminuyen con la profundidad, donde el exopolisacárido se va haciendo más abundante (Branda *et al.*, 2005).

Estudios en el exopolisacárido de gránulos de lodos activos revelan la presencia de glicolípidos, fosfolípidos, lípidos neutros y lipopolisacáridos. Los lípidos del exopolisacárido no poseen una gran importancia del punto de vista estructural, sin embargo, juegan un rol importante en las propiedades hidrofóbicas de este (Andersson, 2009).

### **3.3.3. Interacciones en la biopelícula**

La compleja red de interacciones dentro de la biopelícula es clave para comprender la estructura de la comunidad biológica, composición y función. Las interacciones inter e intra especies tienen influencia sobre diversos aspectos en la biopelícula, tal como, la formación, estructura, exopolisacárido y su composición como también en su actividad. Las biopelículas son sistemas heterogéneos que alojan diferentes microambientes con células bacterianas inmovilizadas y posiciones relativamente fijas. En tales ambientes microbianos las interacciones son inevitables (James *et al.*, 1995).

Las interacciones que son beneficiosas para la comunidad microbiana son llamadas sinergias, mientras que las que poseen un impacto negativo a la comunidad son llamadas antagonistas. La sinergia en la biopelícula incluye una protección recíproca al estrés ambiental, potenciando la degradación de compuestos orgánicos o incrementando la formación de la biopelícula. Otro mecanismo conocido por ofrecer más protección en las biopelículas es la transferencia horizontal de genes para resistencia a antibióticos y síntesis de enzimas complementarias. Por otra parte, el antagonismo puede originarse de la competición por espacio, sustratos o por la

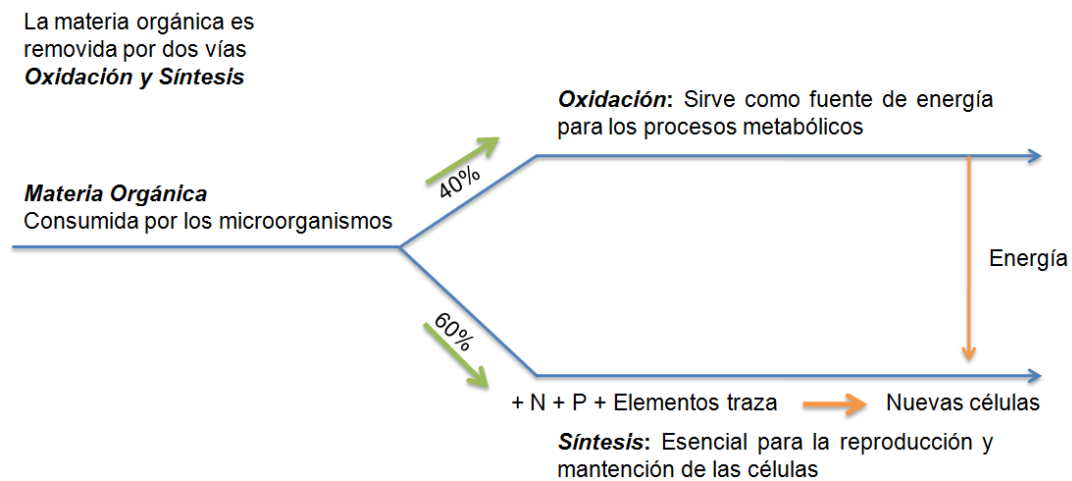
producción de sustancias inhibitorias. Entre las sustancias inhibitorias se incluyen péptidos antimicrobianos, toxinas proteicas (bacteriocinas) o metabolitos que provocan una disminución del pH. Las interacciones negativas podrían dar lugar a la supresión o competencia de una o más especies, o bien una formación deficiente de la biopelícula (James *et al.*, 1995).

Un fenómeno que no puede ser pasado por alto dentro de las interacciones en la biopelícula es la señalización celular. Las señales, también llamados autoinductores, permiten a los organismos comportarse de manera coordinada incluyendo la regulación en la formación de la biopelícula, su desarrollo y producción de bacteriocinas. Algunas cepas que no son capaces de sintetizar autoinductores pueden responder a moléculas foráneas y adaptar su comportamiento según su necesidad (James *et al.*, 1995; Branda *et al.*, 2005).

### **3.4. Los procesos de tratamiento biológico**

Los procesos de tratamiento biológico son llevados a cabo principalmente por bacterias, protozoos, microalgas, rotíferos y algunos hongos. Estos microorganismos utilizan el carbono orgánico y los nutrientes de las aguas residuales empleando diversos procesos metabólicos y respiratorios. El material orgánico biodegradable es oxidado bioquímicamente por las bacterias heterótrofas bajo condiciones aeróbicas produciendo dióxido de carbono, agua, amonio y nueva biomasa. Bajo condiciones anaeróbicas, arqueas metanogénicas oxidan parcialmente el material orgánico para producir dióxido de carbono, metano y nueva biomasa (Andersson, 2009).

El lodo generado durante el proceso de tratamiento biológico se expresa como el efecto neto de las siguientes etapas: la síntesis de nuevos microorganismos como resultado de la asimilación de materia orgánica; y, por otra parte, la reducción de la masa de microorganismos, por muerte celular y por procesos de oxidación extensos debido a la respiración endógena (Figura 5).



**Figura 5.** Vías de eliminación del carbono de aguas residuales (adaptado de Nalco Company, 2009).

### 3.4.1. Requerimientos de nutrientes

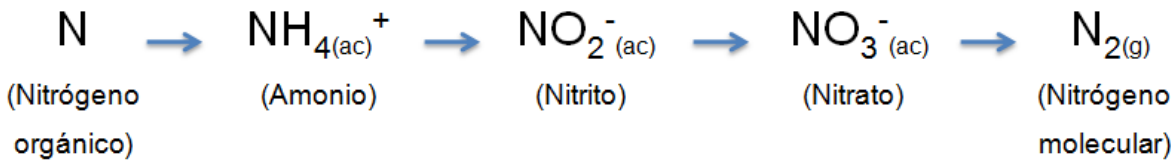
Los efluentes provenientes de industrias de la celulosa y el papel, generalmente no contienen la cantidad suficiente de nitrógeno (N) y fósforo (P) para el crecimiento adecuado de la biomasa bacteriana presente en los sistemas de tratamiento biológicos (Norton, 1991). La biomasa bacteriana ha sido definida universalmente por la fórmula estequiométrica  $C_5H_7NO_2P_{0,074}$ , relación que establece requerimientos de N entre 12 y 16% y P entre 2 y 5%, respectivamente (Sivard *et al.*, 2007; Ramalho, 1996). La carencia de ambos o uno de ellos limita el crecimiento y la actividad de los microorganismos. De la misma manera, su exceso puede favorecer el crecimiento incontrolado de unas especies a costa de otras (WEF, 2005). Debido a esto, se han desarrollado fórmulas empíricas para el cálculo de requerimientos de nitrógeno y fósforo para la síntesis de nueva biomasa (Trivedi, 2009). En general, se recomienda la razón  $DBO_5:N:P$  de 100:5:1 para mantener las mejores condiciones biológicas (Gauthier *et al.*, 2000). Para un crecimiento óptimo es importante mantener los nutrientes en un pequeño exceso en el efluente final, donde aproximadamente 1 o 2 mg/L de nitrógeno amoniacal y ortofosfatos (muestra filtrada) son suficientes (Nalco Company, 2009).

El fósforo es esencial para el desarrollo de todos los microorganismos: interviene en diferentes sistemas enzimáticos y es particularmente importante en la fermentación de los carbohidratos estructurales, principalmente de la celulosa; forma parte del material celular, como ácidos nucleicos, ATP, fosfolípidos de la membrana celular y el ácido teicoico de las paredes celulares de las bacterias Gram positivas (WEF, 2005). La eliminación biológica del fósforo se lleva a cabo por la acumulación intracelular de fosfato (como polifosfatos) y carbono (como polihidroxialcanoatos, PHA). Este proceso se logra alternando las condiciones aeróbicas y anaeróbicas del proceso de lodos activos. En la etapa anaeróbica las bacterias obtienen la energía de la hidrólisis de polifosfatos para el consumo y almacenamiento de carbono, mientras que en la etapa aeróbica el carbono almacenado es utilizado para el crecimiento y formación de polifosfato (Liu *et al.*, 2000). Las bacterias más eficientes que participan en la eliminación del fosfato son llamados organismos acumuladores de polifosfato. Entre las bacterias con capacidades de remover el fósforo en condiciones aeróbicas destacan por ejemplo: *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter iwoffii* y *Aeromonas hydrophila* (Wagner *et al.*, 2002; Andersson, 2009).

El nitrógeno también es un componente esencial de los aminoácidos y los ácidos nucleicos, vitales para los seres vivos. Se asimila bajo la forma de nitrato y tiene que ser reducido en la célula a amoníaco, para que pueda incorporarse como grupo amino a dos aminoácidos: el ácido glutámico y el ácido aspártico. Estos dos aminoácidos son los precursores de todos los compuestos nitrogenados de la materia viva. Las proteínas y ácidos nucleicos son los principales componentes nitrogenados del material celular (Trivedi, 2009).

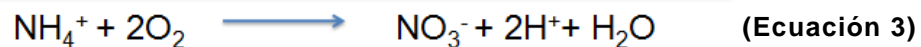
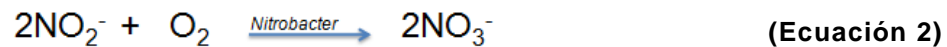
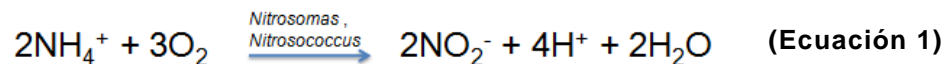
### **3.4.2. Transformaciones de los nutrientes en los sistemas de tratamiento biológico**

En reactores de biopelícula, bajo condiciones aeróbicas, puede ocurrir en forma simultánea la nitrificación y desnitrificación (Terada *et al.*, 2003). La nitrificación es la oxidación biológica de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), donde el  $\text{O}_2$  actúa como aceptor de electrones (Figura 6).



**Figura 6.** Etapas necesarias para el tratamiento biológico del nitrógeno.

La oxidación del amonio en nitrito, y la subsecuente oxidación a nitrato son realizadas por dos especies de bacterias nitrificantes. La primera etapa la realizan bacterias del género microbiológico *Nitrosomas* y *Nitrosococcus*. La segunda etapa (oxidación de nitrito a nitrato) la hacen, mayoritariamente, bacterias del género *Nitrobacter* y, en ambas etapas, produciendo energía que destinan a la síntesis de ATP, según las siguientes reacciones (Wagner *et al.*, 2002; Pambrun *et al.*, 2008; Trivedi, 2009):



Por otra parte, la desnitrificación es un proceso que realizan ciertas bacterias durante la respiración usando el nitrato como aceptor de electrones en condiciones anóxicas. El proceso requiere un sustrato oxidable, sea orgánico o inorgánico, que actúe como fuente de energía, por lo que la desnitrificación puede llevarse a cabo tanto por bacterias heterótrofas como autótrofas. En la desnitrificación heterótrofa se requiere como fuente de carbono y energía (donadores de electrones) un sustrato orgánico, tal como metanol, etanol, ácido acético, glucosa, entre otros (Wagner *et al.*, 2002; WEF, 2005). En la Tabla 4 se resume los donadores y aceptores de electrones para la oxidación de carbono, tanto para la nitrificación como para la desnitrificación.

**Tabla 4.** Donadores y aceptores de electrones para la oxidación de carbono, nitrificación y desnitrificación (adaptado de Trivedi, 2009).

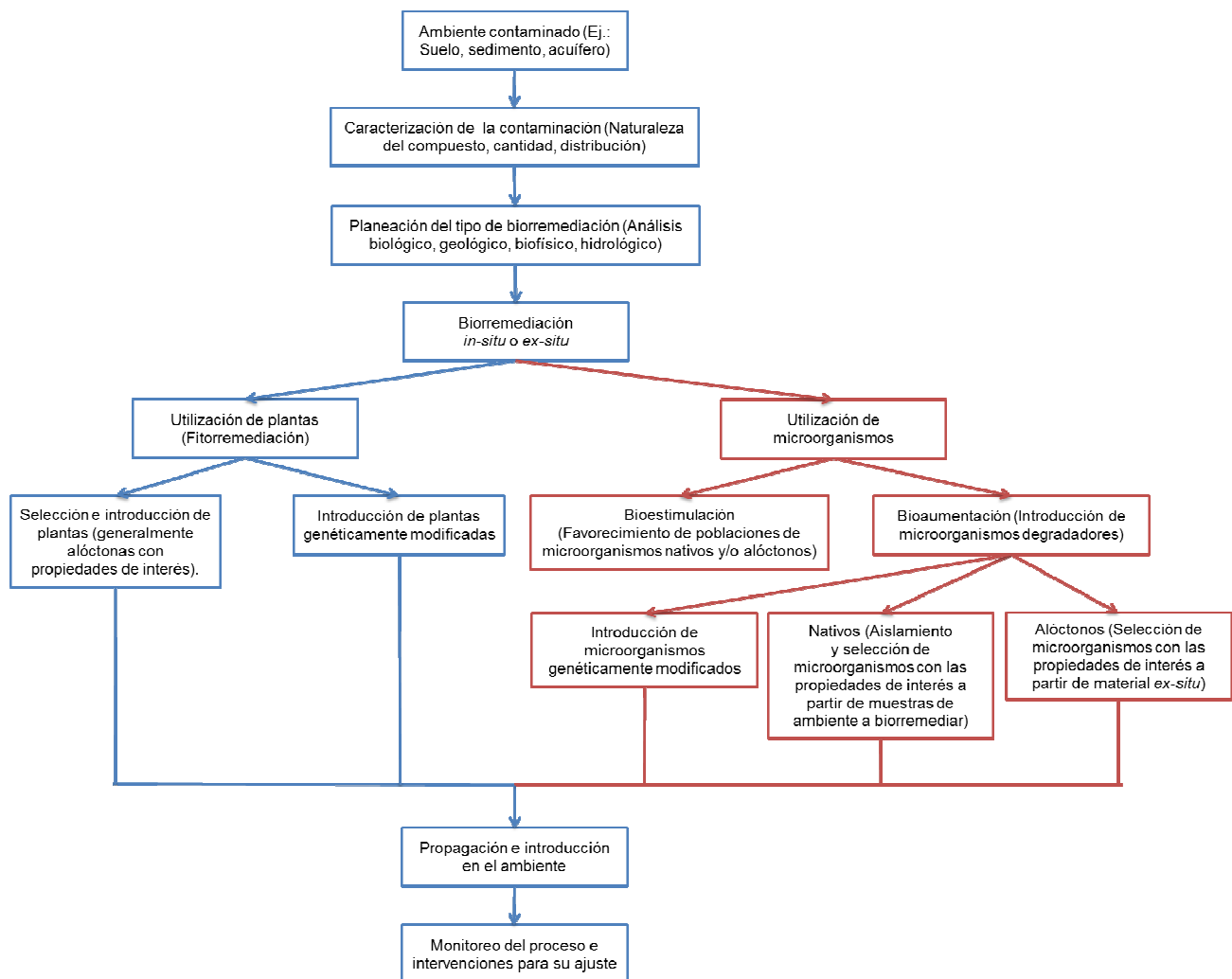
Proceso	Tipo de bacteria	Fuente de carbono	Donador de electrones	Aceptor de electrones	Productos
<b>Oxidación Aeróbica</b>	Aeróbica heterotrófica	Compuestos orgánicos (DBO <sub>5</sub> )	Compuestos orgánicos (DBO <sub>5</sub> )	Oxígeno (O <sub>2</sub> )	Dióxido de carbono, agua (CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O)
<b>Nitrificación</b>	Aeróbica autotrófica	Dióxido de carbono	Amonio, Nitrito (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Oxígeno (O <sub>2</sub> )	Nitrito, nitrato (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )
<b>Desnitrificación</b>	Facultativa heterotrófica	Compuestos orgánicos (DBO <sub>5</sub> )	Compuestos orgánicos (DBO <sub>5</sub> )	Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Nitrógeno, dióxido de carbono, agua (N, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O)

### 3.5. Biorremediación

La biorremediación puede definirse como un proceso en el cual organismos vivos, normalmente plantas o microorganismos, son utilizados tecnológicamente para remover o reducir contaminantes en el ambiente. Los procesos biológicos de remediación han sido considerados como la alternativa más adecuada y eficaz para el tratamiento de ambientes contaminados con moléculas orgánicas difíciles de degradar. Estos procesos utilizan generalmente microorganismos nativos (del propio ambiente) o introducidos (microorganismos selectos) con capacidad de biodegradar compuestos recalcitrantes (Gaylarde *et al.*, 2005).

En algunos casos, las comunidades microbianas que se encuentran naturalmente presentes en un sitio contaminado podrían no mostrar el potencial metabólico apropiado para la degradación y completa mineralización del contaminante a moléculas estables, tal como el CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>O. Esto puede deberse a la presencia de una baja cantidad de un único microorganismo que procesa el set completo de enzimas capaces de transformar el contaminante de manera eficiente, por ejemplo, en alguna ruta metabólica que permite la degradación del contaminante a un producto final inocuo

(Gaylarde *et al.*, 2005). Es más probable que los contaminantes de destino sean una mezcla de compuestos que sólo puede romperse por una combinación muy específica de microorganismos selectos, o bien, por los denominados consorcios microbianos (El Fantroussi & Agathos, 2005). En la Figura 7 se muestran las diversas formas de biorremediación existentes, entre las cuales destaca (en color rojo) la Bioestimulación y la Bioaumentación.



**Figura 7.** Esquema general de las etapas para la definición e implementación de un proceso de biorremediación (adaptado de Gaylarde *et al.*, 2005).

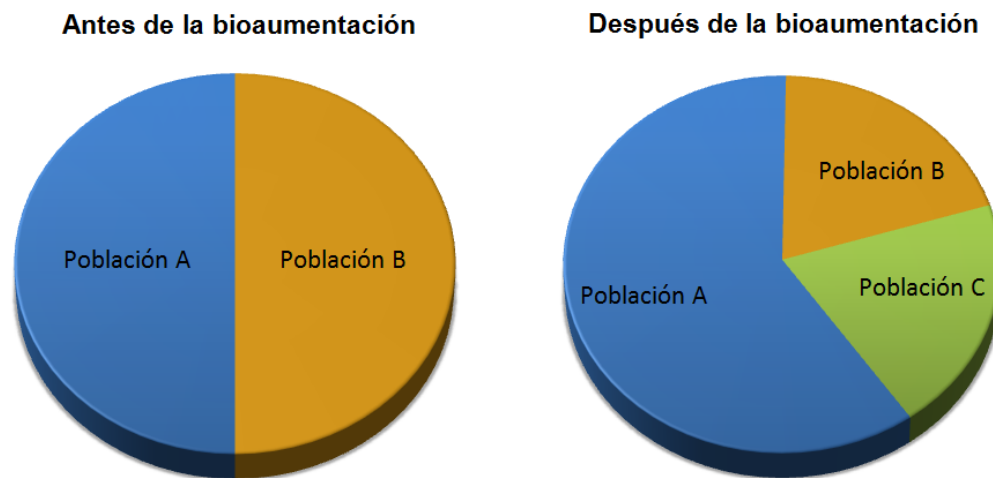


### 3.5.1. Bioaumentación

La bioaumentación se define como la aplicación de microorganismos nativos o alóctonos a sitios contaminados con desechos peligrosos, o en bioreactores para acelerar la eliminación de compuestos indeseados. Esta técnica ha sido utilizada para mejorar la puesta en marcha de plantas de tratamiento de efluentes para potenciar su performance y eficiencia, proteger la comunidad microbiana existente ante efectos adversos (shocks tóxicos, cambios bruscos de pH), acelerar el comienzo de la degradación o para compensar la sobrecarga hidráulica u orgánica (Serrano, 2010; Andersson, 2009).

En una planta de tratamiento de efluentes, se espera encontrar numerosas especies bacterianas. Esta diversidad se debe a que algunos tipos de bacteria degradan diferentes compuestos más efectivamente, debido a que se encuentran más aclimatadas. Desafortunadamente, las características del influente de una planta industrial pueden cambiar drásticamente semana a semana o día a día. Estas variaciones pueden ser por procesos *batch* programados, derrame de productos químicos o un manejo inadecuado de la planta. Por ello, muchas plantas de tratamiento biológicas nunca alcanzan una diversidad adecuada de especies (Foster *et al.*, 1992).

Sin bioaumentación la comunidad nativa debe constar de numerosos tipos de microorganismos. Algunos de estos son más eficientes y efectivos que otros en degradar una variedad de compuestos y producir biomasa sedimentable. La Figura 8 presenta de manera sencilla la biomasa de una Población A (microorganismos nativos deseados), una Población B (otros microorganismos nativos) y una Población C (microorganismos añadidos por bioaumentación). El objetivo de un programa de bioaumentación es potenciar el crecimiento de la Población A, establecer los microorganismos seleccionados de la Población C y minimizar la Población B (Foster *et al.*, 1992).



**Figura 8.** Ejemplo del impacto de la bioaumentación en la calidad y cantidad de la población microbiana: Población A – microorganismos nativos deseados; Población B – otros microorganismos nativos; Población C – microorganismos añadidos por bioaumentación (adaptado de Foster *et al.*, 1992).

Debido a las variaciones en las condiciones de los procesos industriales, los productos de bioaumentación deben ser añadidos de manera continua. Después de la dosificación inicial del producto, es necesaria una dosificación de mantenimiento para asegurar la diversidad de la población deseada (Foster *et al.*, 1992). El objetivo no es reemplazar la biomasa existente, sino ser un suplemento para mejorar la eficiencia. Su uso puede intensificar el potencial degradativo de las poblaciones microbianas nativas para evitar la depredación, competición por nutrientes e inactivación de la biomasa (Serrano, 2010).

Los consorcios microbianos también ayudan al control de olores en las plantas de tratamiento, debido a que estos son producidos por la descomposición bacteriana de materia orgánica y consecuencia de que bacterias nativas no degradan completamente dicha materia orgánica (proteínas, carbohidratos, celulosa y lignina). La mayoría de los químicos que causan estos malos olores son el ácido sulfhídrico, compuestos orgánicos azufrados, ácidos orgánicos y aminas (EmTec, 2010). En la Tabla 5 se muestran las especificaciones técnicas del consorcio microbiano BEC-118.

**Tabla 5.** Especificaciones técnicas del consorcio microbiano BEC-118 (Boletín informativo BEC-118).

<b>Especificaciones</b>	
Tipo de bacterias	Esporas de bacilos y microorganismos vegetativos.
Recuento de bacterias	$5.2 \times 10^{12}$ UFC/gramo
Rango de temperatura	5 - 50 °C
Rango de pH	5.0 - 9.5
Compuestos degradables	Lignina, celulosa, almidón, amonio, compuestos azufrados, ceras y resinas.

Existen varias opciones en la forma de introducir cepas exógenas en ambientes contaminados, de forma individual o en forma de consorcios. La opción más común es realizar ensayos a nivel de laboratorio, por ejemplo, con la adición de una cepa bacteriana o un consorcio pre-adaptado en el caso de la inoculación de una planta de tratamiento de efluentes. Una de las mayores barreras para lograr una biorremediación satisfactoria corresponde al trasfondo ecológico. En términos de supervivencia, actividad y migración, la relación de los microorganismos inoculados con su nuevo ambiente biótico o abiótico, puede ser decisiva en el resultado de cualquier estrategia de bioaumentación (El Fantroussi & Agathos, 2005). En la Tabla 6 se describen los factores que intervienen en los procesos de bioaumentación y bioestimulación.

En un estudio citado por El Fantroussi & Agathos (2005) se investigó la efectividad de un consorcio microbiano compuesto de cuatro especies (*Clavibacter michiganensis*, *Methylobacterium mesophilicum*, *Rhodococcus erythropolis* y *Pseudomonas putida*), evaluando su capacidad de degradación y su tolerancia a las fluctuaciones químicas de un residuo líquido industrial proveniente de una planta metalúrgica. Las pruebas moleculares con FISH (o en inglés, Fluorescence *in situ* hybridization) indicaron que el inóculo con el consorcio microbiano representaba un componente significativo de la comunidad en los bioreactores con o sin la presencia de

las poblaciones nativas del efluente de la industria metalúrgica. Además, la reducción en la demanda química de oxígeno fue aproximadamente el 85% de la carga orgánica, y fue entre un 30-40 % más efectivo que la comunidad nativa por sí sola. Los autores demostraron que la bioaumentación con microorganismos selectos puede dar como resultado un tratamiento más efectivo que la aplicación de comunidades microbianas sin caracterizar (El Fantroussi & Agathos, 2005).

**Tabla 6.** Factores que influyen en los procesos de bioaumentación y bioestimulación (adaptado de Tyagi *et al.*, 2010).

<b>Factor</b>	<b>Descripción</b>
Pérdida de viabilidad microbiana durante la inoculación	Estrés debido a cambios drásticos en las condiciones ambientales.
Eventual muerte celular después de la inoculación	Agotamiento de nutrientes o toxicidad debido a contaminantes.
Competición	Competencia por nutrientes entre los microbios nativos y los microbios alóctonos.
Predación	Bioaumentación seguido de una desaparición del consorcio microbiano añadido, debido a un crecimiento excesivo de protozoos.
pH	Cambios bruscos de pH inhiben los procesos de degradación microbiano.
Temperatura	La temperatura influye en el crecimiento microbiano, y en la composición física y química de los compuestos a degradar.
Humedad	Un bajo contenido de humedad en suelos, limita el crecimiento microbiano y el metabolismo; valores elevados de humedad reducen la aireación.

Los resultados de la aplicación comercial de productos para bioaumentación frente a problemas operacionales tienden a ser positivos, particularmente en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Por ejemplo: en un estudio realizado por Lazzaretti *et al.* (2000), se aplicó la técnica de bioaumentación en una industria de celulosa y papel, añadiendo un consorcio microbiano comercial en una planta de tratamiento de efluentes con lodos activos (capacidad volumétrica total de 13000 m<sup>3</sup>). Los microorganismos fueron adicionados diariamente, en principio dosificando 6 kg de

---

producto por día, durante un periodo de 10 días, y posteriormente 3,5 kg por día, durante los meses de septiembre a diciembre (120 días). Como resultado se obtuvieron eliminaciones de DQO un 30% superiores con respecto al periodo en que no se dosificó producto, así mismo se obtuvieron mejoras en la eliminación  $DBO_5$  y decantabilidad del lodo (Lazzaretti *et al.*, 2000). Sin embargo, investigaciones a nivel de laboratorio han contradicho dichos resultados. Variados productos para la bioaumentación no funcionan, tal como lo afirman los proveedores y, en muchos casos, solo se ha reportado un leve mejoramiento en el tratamiento (Serrano, 2010). Dado los recientes avances en microbiología, ecología microbiana, biología molecular y bioingeniería, se cree que en la actual década podría ser crucial en dar respuestas claras respecto al real potencial de la bioaumentación (El Fantroussi & Agathos, 2005).

### 3.5.2. Bioestimulación

La introducción de nutrientes y/o surfactantes con el objetivo de aumentar la actividad microbiana o biodisponibilidad de un contaminante es un tipo de biorremediación conocido como bioestimulación (Gaylarde *et al.*, 2005). Se ha demostrado que la biodegradación de petróleo por una comunidad microbiana nativa puede ser favorecida por la presencia de nutrientes en el sitio contaminado. Los hidrocarburos provenientes de los derrames de petróleo son una fuente de carbono para los microorganismos nativos, sin embargo, la presencia de nitrógeno y fósforo es limitada. Por tanto, la bioestimulación acelera la velocidad de descontaminación, con la adición de uno o más nutrientes limitantes. Las condiciones ambientales se pueden controlar hasta obtener los valores óptimos de pH y contenido de humedad, consiguiendo las mejores condiciones para la degradación microbiana (Tyagi *et al.*, 2010). En un estudio realizado por Sarkar *et al.* (2005) se investigó la biodegradación de hidrocarburos de petróleo en suelos contaminados con diesel, utilizando lodo proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales como fuente de nutrientes y fertilizantes inorgánicos, ricos en nitrógeno y fósforo. En ambos casos se eliminó cerca del 96% de los hidrocarburos totales de petróleo (Sarkar *et al.*, 2005).

## 4. Materiales y métodos

### 4.1. Muestreo, almacenaje y caracterización del efluente

El efluente empleado en esta investigación proviene de una planta productora de papeles y cartones que procesa *Pinus radiata*, que trabaja con proceso de pulpaje mecánico tipo PGW (*Pressurized GroundWood*). Las muestras del efluente fueron extraídas después de la reja meva, antes de la dosificación de nutrientes (ver Figura 17, Anexo 1), transportado en bidones de 20L de capacidad, refrigerado a 4 °C y almacenado en oscuridad.

La caracterización del efluente se realizó determinando los parámetros físico-químicos resumidos en la Tabla 7 y detallados en el punto 4.2.

**Tabla 7.** Resumen de los métodos utilizados en este estudio.

Parámetro	Método
pH	NCh 2313/1. Of 1995
Temperatura	NCh 2313/2. Of 1995
SST	NCh 2313/3. Of 1995
SSV	2540E. APHA 2005
DBO <sub>5</sub>	NCh 2313/5 Of. 2005
DQO	NCh 2313/24. Of 1997
P-PO <sub>4</sub>	Ácido Ascórbico (HACH 8048)
N-NH <sub>3</sub>	Nessler (HACH 8038)

### 4.2. Determinación de parámetros físico-químicos

#### 4.2.1. pH

Las medidas de pH se realizaron de acuerdo a la NCh2313/1. Of 1995 utilizando un pHmetro Hanna modelo pH-211. El instrumento fue verificado con soluciones buffer Merck pH 4,00 y pH 7,00 certificadas.

#### 4.2.2. Temperatura

La determinación de temperatura se realizó de acuerdo a la NCh2313/2. Of 1995 con una termocupla certificada.

#### 4.2.3. Demanda química de oxígeno (DQO)

El método se basa en la oxidación de la materia orgánica por el dicromato en medio de ácido sulfúrico, con lo cual el carbono es convertido en CO<sub>2</sub> y el hidrógeno en agua. Se determinó la DQO soluble, de muestras previamente filtradas con filtros Whatman 934-AH (1,5 µm), de acuerdo a la NCh 2313/24. Of 1997 (para un rango de 0 - 1000 mg/L de DQO) y se llevaron a un digestor HACH modelo DRB200 durante 120 minutos a 150 °C. Por último, la concentración se determinó en un espectrofotómetro HACH DR2800 a 600 nm.

#### 4.2.4. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

La determinación de la demanda bioquímica de oxígeno es un ensayo empírico, en el cual se mide el oxígeno consumido por microorganismos en un tiempo especificado de incubación, producto de la degradación bioquímica de la materia orgánica y el oxígeno consumido para oxidar la materia inorgánica tales como sulfuros y hierro ferroso.

La medición de DBO<sub>5</sub> se realizó según la Norma Chilena NCh 2313/5. Of 2005 por el método del electrodo de membrana, utilizando el inóculo comercial en cápsulas Polyseed (Interlab). El estándar de glucosa y el ácido glutámico fueron pesados en la balanza analítica ADN HR-200, la cual se verifica diariamente con masas certificadas por CESMEC. La incubación de las botellas para la caracterización del efluente se realizó en un refrigerador incubador VELP FT 60 y la DBO<sub>5</sub> fue medida con el sensor de oxígeno disuelto YSI 5000.

Para controlar la efectividad del producto BEC-118 se determinó la DBO<sub>5s</sub> (soluble) de manera referencial en los reactores a tiempo cero y a tiempo final, las muestras fueron analizadas en duplicado e incubadas a 20 ± 1 °C por 5 días.

#### 4.2.5. Fósforo reactivo soluble mediante método de ácido ascórbico (HACH 8048)

La reacción de los iones ortofosfatos con una solución ácida que contiene iones molibdato y antimonio, da lugar a la formación de un complejo antimonil-fosfomolibdato, que al reducirse con ácido ascórbico, produce un complejo de molibdeno con un color azul intenso, adecuado para mediciones colorimétricas. Se lee a 880 nm.

Método:

- Filtrar la muestra con un equipo de filtración por vacío, utilizando un filtro de fibra de vidrio Whatman 934-AH.
- Tomar 10 mL de la muestra filtrada y llevarlo a matraz aforado de 100 mL, aforar.
- Tomar 10 mL de la muestra diluida en el matraz aforado y llevarlos a una cubeta de vidrio. Para el blanco se toman 10 mL de agua destilada y se llevan a una cubeta de vidrio.
- Añadir un sachet del reactivo Phosver para 10 mL y agitar durante 2 minutos.
- Medir con espectrofotómetro HACH DR 2800 por el programa HACH 8048 (0.02-2.5 mg/L  $\text{PO}_4^{-3}$ ), tomando en cuenta el factor de dilución.

#### 4.2.6. Nitrógeno amoniacal mediante método de Nessler (HACH 8038)

El reactivo de Nessler, en presencia de iones amoniacal, se descompone formando yoduro de dimercuriamonio que permite la determinación colorimétrica de los iones amonios (coloración amarilla, se lee a 425 nm). En el método HACH, el estabilizador mineral forma complejos con la dureza del agua residual y el agente de dispersión de alcohol polivinílico ayuda en la formación del color.

Método:

- Filtrar la muestra con filtro de fibra de vidrio Whatman 934-AH.
- Tomar 10 mL de la muestra filtrada y llevarlo a matraz aforado de 100 mL, aforar.
- Tomar 25 mL de la muestra diluida en el matraz aforado y llevarlos a una cubeta de vidrio. Para el blanco se toman 25 mL de agua destilada y se llevan a una cubeta de vidrio.



- Añadir 3 gotas del estabilizador mineral, 3 gotas de alcohol polivinílico y, por último, con gotario se añade el reactivo de Nessler.
- Esperar un minuto, agitar y medir por el programa HACH 8038 (0.02-2.5 mg/L N-NH<sub>3</sub>) en el espectrofotómetro HACH DR 2800.

#### **4.2.7. Sólidos Suspendidos Totales**

El análisis se realizó según la metodología descrita en la NCh 2313/3. Of 1995. Esta consiste en filtrar una muestra bien homogeneizada a través de un filtro tarado, de fibra de vidrio estándar y secado del residuo retenido hasta masa constante, a 103-105 °C. El aumento de masa del filtro representa el contenido de sólidos suspendidos totales.

#### **4.2.8. Sólidos Suspendidos Fijos y Volátiles**

La determinación de sólidos suspendidos fijos (inorgánicos) y volátiles (orgánicos) se realizó de acuerdo a la metodología 2540-E para aguas de efluentes industriales y domésticos, descrita en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

El procedimiento consistió en incinerar los sólidos suspendidos totales, obtenidos en el punto 4.2.7., a una temperatura de 550°C durante 1 hora y luego se pesó gravimétricamente hasta obtener peso constante. En estas condiciones, los sólidos orgánicos se volatilizan quedando únicamente en el filtro los sólidos fijos (inorgánicos). La diferencia entre los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos fijos (SSF) da como resultado el valor de los sólidos suspendidos volátiles (SSV).

### 4.3. Procedimiento experimental

#### 4.3.1. Evaluación de la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra en el proceso de tratamiento biológico

La muestra de efluente fue caracterizada y preservada de acuerdo a lo detallado en el punto 4.1. Se ajustó de acuerdo a la relación de nutrientes  $\text{DBO}_5:\text{N}:\text{P}$  de 100:5:1, utilizando amoníaco y ácido fosfórico concentrados. Para el estudio se montaron cuatro reactores MBBR de 1 Litro de capacidad, para elaborar perfiles de biodegradación en régimen *batch* durante 22 horas, que reprodujeron las condiciones normales de operación, es decir, una temperatura entre 35-37°C, pH inicial  $7 \pm 0,2$  y oxígeno disuelto igual o superior a 4 mg/L. Cada uno de los reactores fue inoculado a tiempo cero con 12 *carriers* (biofilm Chip-P de Anoxkaldnes), obtenidos directamente del reactor MBBR2 de la planta de tratamiento de efluentes de NSBB. De acuerdo a un estudio previo, se determinó que 12 *carriers* aportan un total de  $2060,6 \pm 65,7$  mg/L de SSV. Con el fin de determinar el efecto de las pérdidas de fibra en el proceso de tratamiento biológico se prepararon dos reactores sin fibra, tal como se indica en el esquema experimental de la Figura 9. Los ciclos *batch* se realizaron en duplicado.



**Figura 9.** Esquema experimental para evaluar el consorcio microbiano comercial BEC-118 y el efecto de las pérdidas de fibra.

Para evaluar la dosificación del producto recomendada por el proveedor, se añadió a los reactores respectivos 2 mg/L de BEC-118 (Figura 10). La eficiencia de biodegradación fue calculada de acuerdo a la Ecuación 4. La toma de muestras se realizó deteniendo la aireación de los reactores.

$$\text{Ef. Biodegradación (\%)} = (C_e - C_s)/C_e * 100 \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Donde  $C_e$  es la concentración de entrada y  $C_s$  concentración de salida.



**Figura 10.** Montaje de los bioreactores con sus respectivos tratamientos.

Se aplicó un diseño factorial completo de 2 factores con dos réplicas (Tabla 8). Para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos se hizo un análisis de varianza de dos factores, acoplado al post-test de Bonferroni.

**Tabla 8.** Diseño experimental para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor (2mg/L).

Corrida	Unidades decodificadas		Unidades Codificadas	
	Fibra (A)	BEC-118 (B)	A	B
1	Con Fibra	Con BEC-118	+	+
2	Con Fibra	Sin BEC-118	+	-
3	Sin Fibra	Con BEC-118	-	+
4	Sin Fibra	Sin BEC-118	-	-
5	Sin Fibra	Con BEC-118	-	+
6	Con Fibra	Con BEC-118	+	+
7	Sin Fibra	Sin BEC-118	-	-
8	Con Fibra	Sin BEC-118	+	-

#### 4.3.2. Optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118

La muestra de efluente fue caracterizada y preservada de acuerdo a lo detallado en el punto 4.1, se ajustó de acuerdo a la relación de nutrientes  $\text{DBO}_5\text{:N:P}$  de 100:5:1 y según el mismo procedimiento descrito al inicio del punto 4.3.1. El diseño experimental se resume en la Tabla 9. En cada uno de los experimentos se reprodujeron las condiciones normales de operación, es decir, una temperatura entre 35-37°C, pH inicial  $7 \pm 0,2$  y oxígeno disuelto igual o superior a 4 mg/L. Cada uno de los reactores fue inoculado a tiempo cero con 12 *carriers* (Biofilm Chip-P de Anoxkaldnes), obtenidos directamente del reactor MBBR2 de la planta de tratamiento de efluentes, que aportan  $2060,6 \pm 65,7$  mg/L de SSV. La muestra fue analizada de acuerdo a lo detallado en el punto 4.2.3.

**Tabla 9.** Diseño de superficie de respuesta para evaluar la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118.

Corrida	Tipo de punto	Tiempo (min.)	BEC-118 (mg/L)
1	0 Punto central	120	13,6
2	-1 Punto axial	0	13,6
3	1 Punto de cubo	205	23,2
4	0 Punto central	120	13,6
5	-1 Punto Axial	240	13,6
6	1 Punto de cubo	205	4,0
7	1 Punto de cubo	35	4,0
8	1 Punto de cubo	35	23,2
9	0 Punto central	120	13,6
10	-1 Punto axial	120	27,2
11	-1 Punto axial	120	0,0
12	0 Punto central	120	13,6
13	0 Punto central	120	13,6

El límite superior (punto axial) de tiempo de residencia fue escogido de acuerdo al tiempo de residencia máximo del proceso de tratamiento de efluentes de Norske Skog Bio Bio equivalente a 4 horas (240 minutos). Respecto a la concentración de producto BEC-118 se consideró como límite superior la disponibilidad de producto en planta, que corresponde a 27,2 Kg de producto liofilizado.

## 5. Resultados

### 5.1. Evaluación de la dosificación del producto BEC-118 recomendada por el proveedor y efecto de las pérdidas de fibra

#### 5.1.1. Caracterización del efluente

La Tabla 10 muestra los resultados obtenidos de la caracterización del efluente de acuerdo a lo descrito en la metodología. El tipo de producción en la máquina papelera 1 (MP1) fue papel de diario 45 gramos, mientras que la máquina papelera 2 (MP2) producía papel marfil.

**Tabla 10.** Caracterización del efluente empleado para evaluar la dosificación del producto BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra.

Parámetro	Unidad	Promedio
pH inicial		11,4 ± 0,0
NH <sub>3</sub> -N	mg/L	1,1 ± 0,1
PO <sub>4</sub> -P	mg/L	0,2 ± 0,0
SST	mg/L	932,8 ± 5,3
SSV	mg/L	792,5 ± 4,9
DQO total	mg/L	1468,6 ± 1,7
DQO filtrada	mg/L	416,1 ± 1,0
DBO <sub>5</sub> total	mg/L	238,0 ± 10,6
DBO <sub>5</sub> filtrada	mg/L	208,8 ± 11,7
Relación DQO/DBO <sub>5</sub> (filtrada)		2,0

Los valores presentados corresponden al promedio de n = 3 muestras, con su respectiva desviación estándar

#### 5.1.2. Cinéticas de biodegradación en régimen por lotes

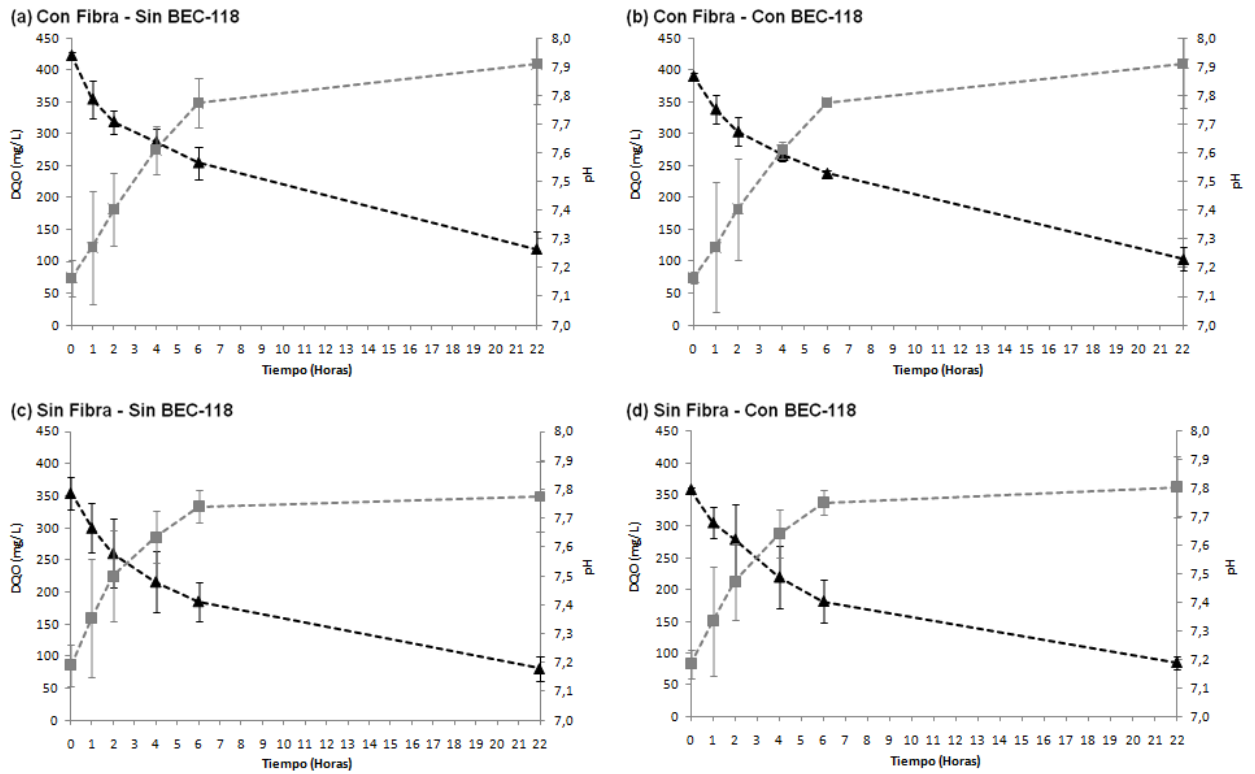
Se realizó un seguimiento para evaluar la biodegradación de la DQO y el comportamiento del pH por un periodo de 22 horas, tomando muestras a tiempo 0, 1, 2, 4, 6 y 22 horas, respectivamente. Con la información obtenida se elaboraron perfiles de

biodegradación de la DQO para cada uno de los tratamientos (Tabla 14 a la 17, Anexo 3), en la Figura 11 se presenta gráficamente los resultados obtenidos.

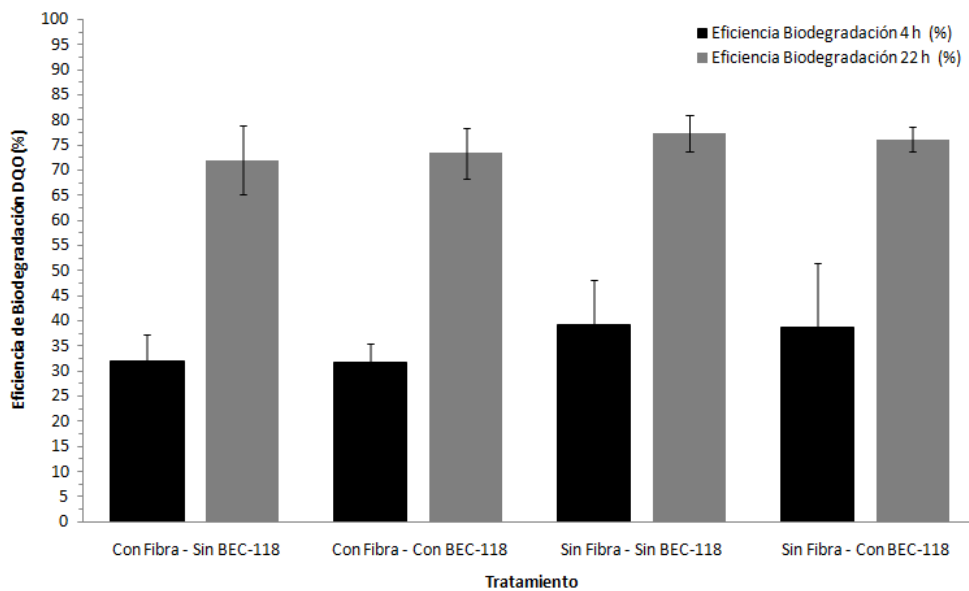
Para los ensayos con fibra, el tratamiento sin BEC-118 (Figura 18-a) logró una reducción de 423,4 a 118,4 mg<sub>DQO</sub>/L, con una eficiencia de biodegradación de 70% a las 22 horas de tratamiento; mientras que el tratamiento con BEC-118 (Figura 18-b) redujo de 390,2 a 103,6 mg<sub>DQO</sub>/L, con una eficiencia de 73,4% a las 22 horas de tratamiento. Para los ensayos sin fibra: en el tratamiento sin BEC-118 (Figura 18-c) se obtuvo una reducción de 354,0 a 80,3 mg<sub>DQO</sub>/L, con una eficiencia de biodegradación de 77,4% a las 22 horas de tratamiento; mientras que en el tratamiento con BEC-118 (Figura 18-d) se redujo de 357,8 a 85,3 mg<sub>DQO</sub>/L, con una eficiencia de biodegradación de 76,1%. El análisis de varianza de una vía, respecto a las eficiencias de biodegradación tanto a las 4 como a las 22 horas (Figura 12), indicó que no hay diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Los análisis estadísticos respectivos se presentan de la Tabla 18 a la 24 (anexo 4).

Respecto del comportamiento del pH en todos los tratamientos hay una tendencia de aumento: para los reactores con fibra el incremento promedio fue de  $7,2 \pm 0,04$  a  $7,9 \pm 0,13$  y para los reactores sin fibra de  $7,2 \pm 0,05$  a  $7,8 \pm 0,09$ .

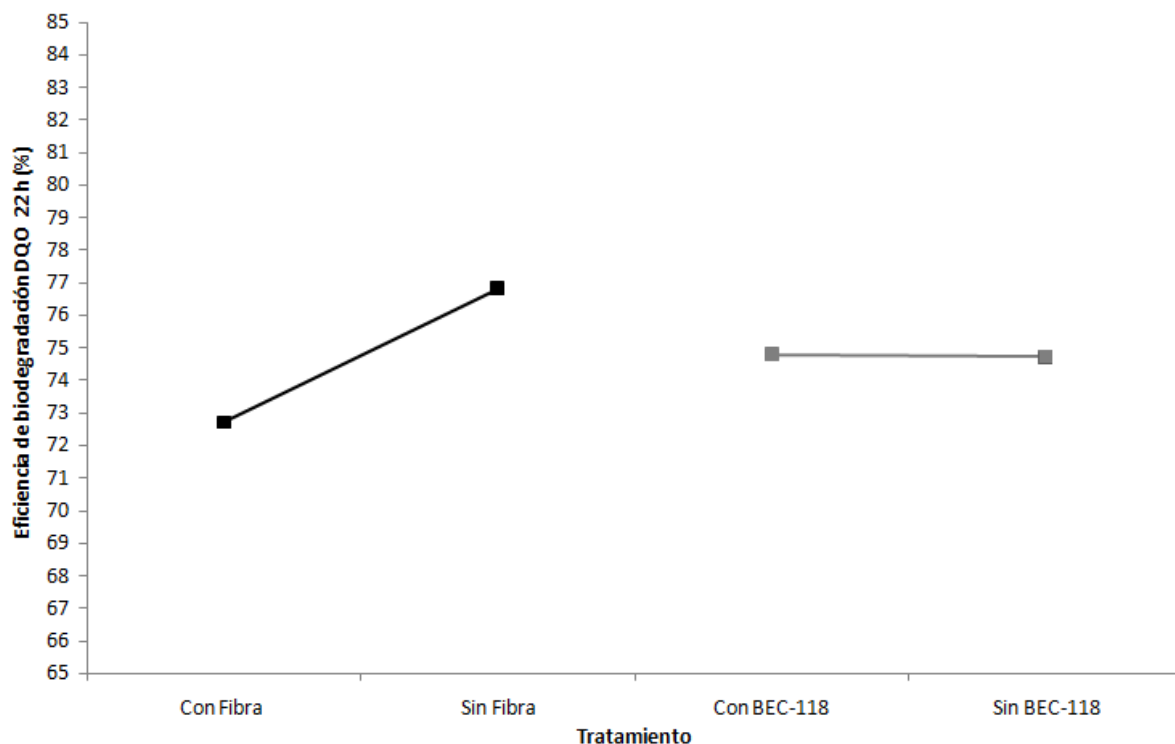
Al graficar los efectos principales entre las medias de los tratamientos en estudio (Figura 13) se observa que los tratamientos con fibra tuvieron una eficiencia de biodegradación promedio de 72,7%, en comparación con los reactores sin fibra, que obtuvieron una eficiencia promedio de 76,8%. Respecto a las medias de los tratamientos con y sin BEC-118 la respuesta es prácticamente la misma para ambos factores, con un promedio de 74,8 y 74,7%, respectivamente. Al realizar un análisis de varianza de una vía las diferencias no fueron significativas ( $p > 0,05$ ).



**Figura 11.** Cinéticas de biodegradación de la DQO para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra: (a) con Fibra – sin BEC-118; (b) con Fibra – con BEC-118; (c) sin Fibra – sin BEC-118; y (d) sin Fibra – con BEC-118. Leyenda: (▲) DQO y (■) pH.



**Figura 12.** Eficiencia de biodegradación DQO (%) según tipo de tratamiento.

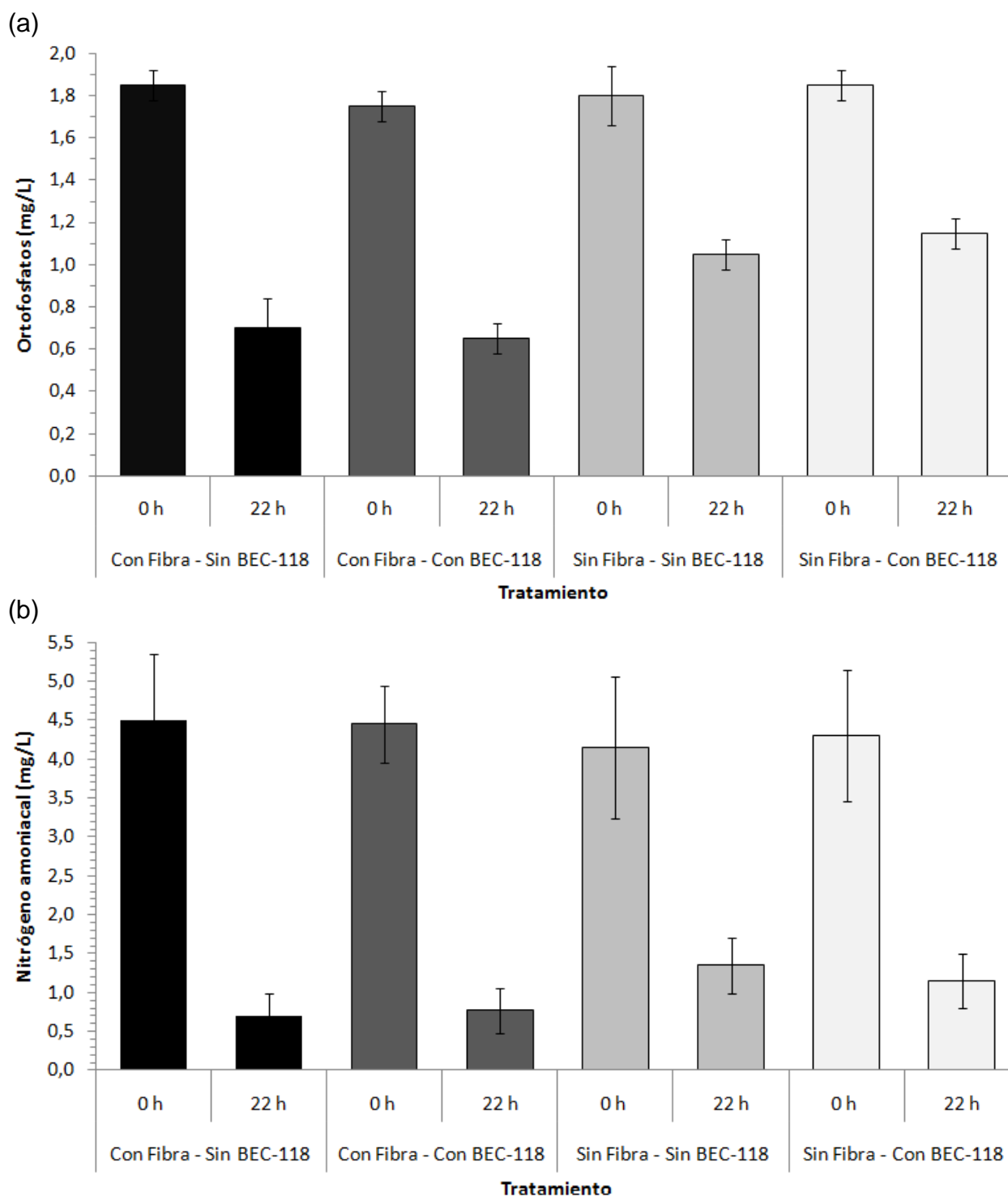


**Figura 13.** Interacción entre los factores en estudio sobre la eficiencia de biodegradación DQO (%) transcurrido 22 horas de tratamiento.

### 5.1.3. Comportamiento de los nutrientes

Para complementar la evaluación del producto BEC-118, recomendada por el proveedor, y el efecto de las pérdidas de fibra, se realizaron análisis de ortofosfatos y nitrógeno amoniacal. Respecto al comportamiento de los ortofosfatos (Figura 14, a) a tiempo 0 y 22 horas, el análisis de varianza de una vía no detectó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Lo mismo sucedió con del nitrógeno amoniacal (Figura 14, b), tanto a tiempo 0 horas como a las 22 horas, donde el análisis de varianza no detectó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ).

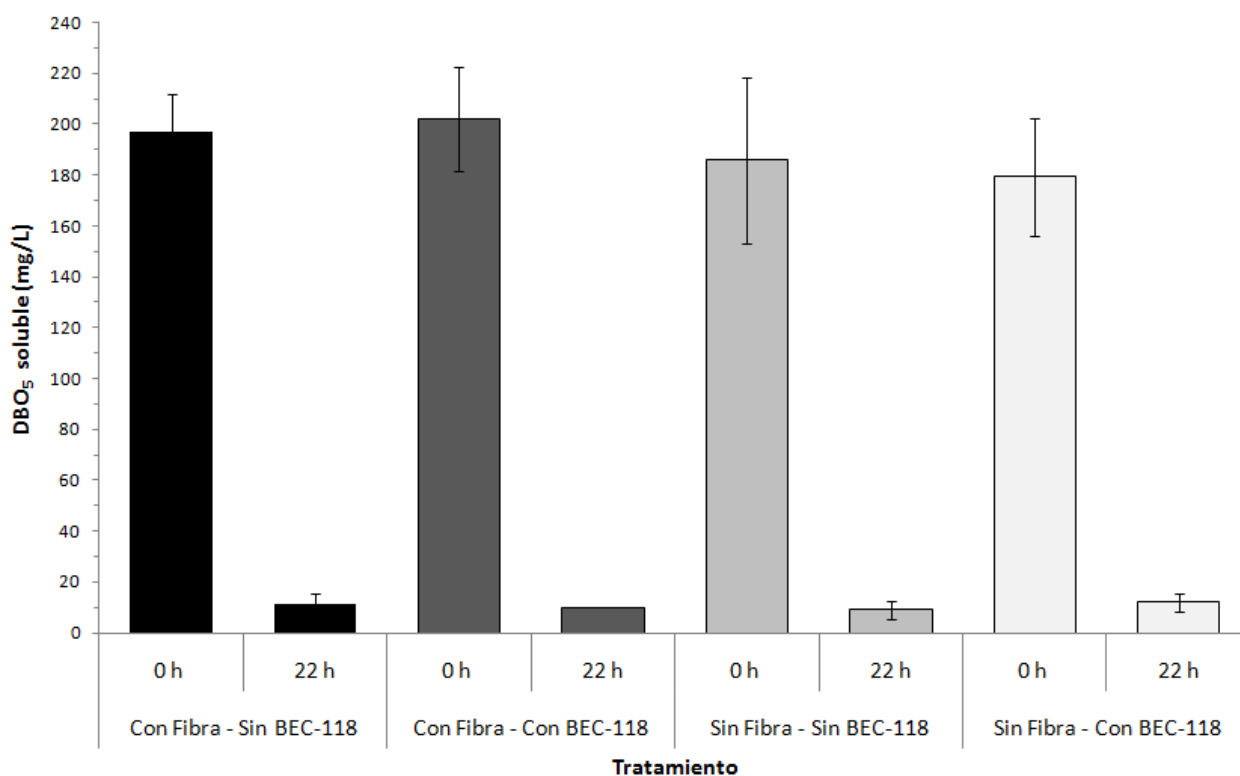




**Figura 14.** Comportamiento de los nutrientes según tipo de tratamiento, a tiempos 0 y 22 horas. (a) Comportamiento de los ortofosfatos. (b) Comportamiento del nitrógeno amoniacal.

#### 5.1.4. Comportamiento de la DBO<sub>5</sub>

Se evaluó el comportamiento de la DBO<sub>5</sub> soluble para cada uno de los tratamientos. En la Figura 15 se puede observar que aparentemente a tiempo 0 horas existe una diferencia entre los tratamientos con fibra y sin fibra, sin embargo, el análisis de varianza no indica diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Lo mismo ocurre luego de 22 horas de biodegradación, donde tampoco se observan diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ), en todo caso la eficiencia de biodegradación de la DBO<sub>5</sub> fue superior al 93%.



**Figura 15.** Comportamiento de la DBO<sub>5</sub> según tipo de tratamiento, a tiempos 0 y 22 horas.

## 5.2. Optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118

### 5.2.1. Caracterización del efluente

La Tabla 11 muestra los resultados obtenidos de la caracterización del efluente de acuerdo a lo descrito en la metodología. El tipo de producción en la máquina papelerera 1 (MP1) fue papel de diario 45 gramos, mientras que la máquina papelerera 2 (MP2) producía papel mural de 100 gramos.

**Tabla 11.** Caracterización del efluente empleado para optimizar la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118.

Parámetro	Unidad	Promedio
pH inicial		6,9 ± 0,0
NH <sub>3</sub> -N	mg/L	1,1 ± 0,2
PO <sub>4</sub> -P	mg/L	3,0 ± 0,1
SST	mg/L	420,2 ± 7,1
SSV	mg/L	390,7 ± 12,6
DQO total	mg/L	869,0 ± 10,7
DQO filtrada	mg/L	542,2 ± 11,7
DBO <sub>5</sub> total	mg/L	376,8 ± 6,4
DBO <sub>5</sub> filtrada	mg/L	285,8 ± 15,3
Relación DQO/DBO <sub>5</sub> (filtrada)		1,9

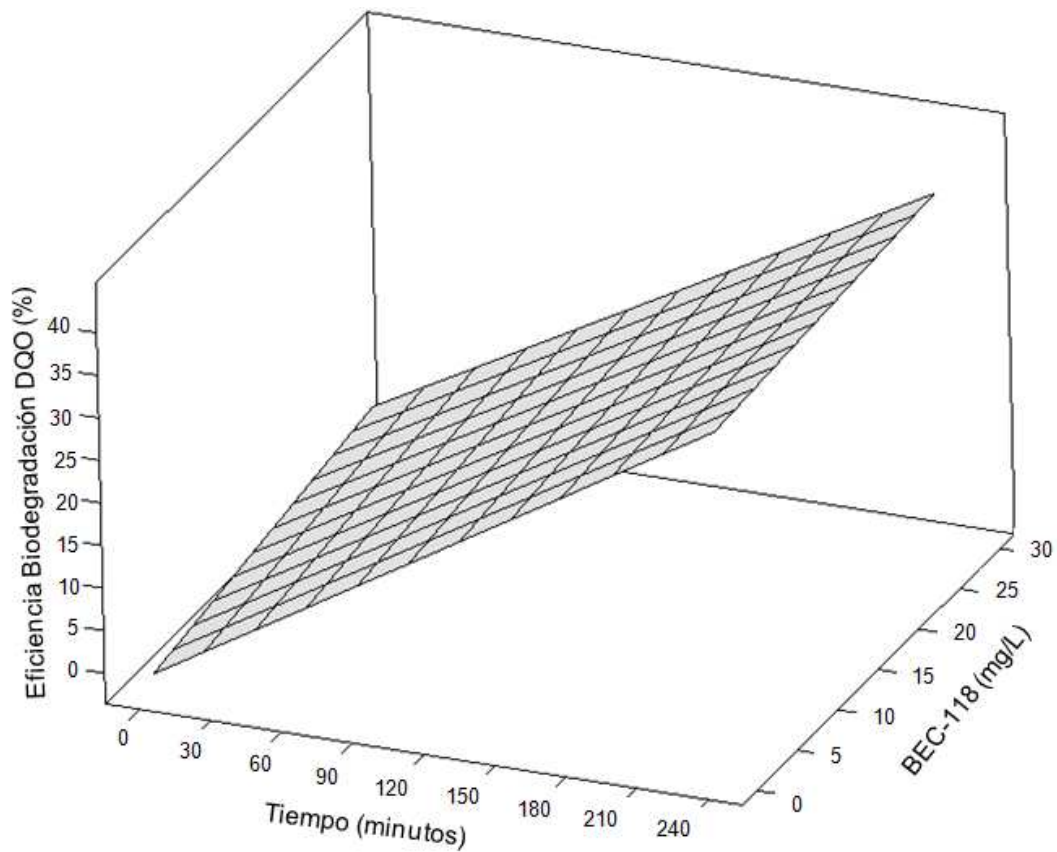
Los valores presentados corresponden al promedio de n = 3 muestras, con su respectiva desviación estándar

### 5.2.2. Eficiencia de biodegradación de la DQO

Para evaluar la relación entre la eficiencia de biodegradación de la DQO (%), el tiempo de residencia y la concentración del producto BEC-118, se aplicó el diseño de superficie de respuesta descrito en el punto 4.3.2. de la metodología.

El modelo que mejor se ajusta a los datos experimentales se presenta en la Figura 16. Los coeficientes de regresión presentados en la Tabla 12, para dicho





**Figura 16.** Superficie de respuesta para evaluar la eficiencia de biodegradación DQO (%) y su relación con las variables en estudio, dosificación y tiempo de residencia del producto BEC-118.

## 6. Discusión

### 6.1. Evaluación de la dosificación del producto BEC-118 recomendada por el proveedor y efecto de las pérdidas de fibra

El objetivo de este estudio fue evaluar si la dosificación de 2 mg/L de BEC-118 y la técnica empleada, recomendada por el proveedor, tiene un efecto significativo en el proceso de tratamiento de efluentes con reactores MBBR. Al analizar las cinéticas de biodegradación de DQO para evaluar la dosificación de BEC-118 en los reactores con fibra (Figura 11, *a* y *b*), se puede afirmar que, bajo las condiciones experimentales, el producto no aumentó la eficiencia de biodegradación de la DQO aún después de 22 horas de tratamiento, o sea, aproximadamente 11 tiempos de residencia considerando que cada uno de los reactores MBBR de Norske Skog Bio Bio tiene 900 m<sup>3</sup> de capacidad volumétrica (ver Tabla 13, Anexo 2) y trabajan con un flujo promedio de 450 m<sup>3</sup>/h. Para determinar si la fibra intervino en la efectividad del producto BEC-118 se prepararon dos reactores sin fibra (Figura 11, *c* y *d*). Sin embargo, los resultados de la bioaumentación con la dosificación recomendada por el proveedor tampoco mostraron mejoría en la eficiencia de biodegradación de la DQO. Según Wagner *et al.* (2002), la principal causa de tales anomalías se debe a que los microorganismos añadidos no son los adecuados, y no pueden competir con las bacterias nativas del sistema de tratamiento biológico, siendo eliminados o lavados. Además, se debe considerar que la biodegradación puede ser inhibida por una serie de otros factores tales como: pérdida de la viabilidad, muerte celular, predación, pH y temperatura (Tyagi *et al.*, 2010). Debido a lo anterior, se incluyó en el presente estudio un diseño de superficie de respuesta para optimizar la dosificación de producto y evaluar el tiempo de residencia necesario para que el producto logre aclimatarse a las condiciones del efluente y a las características del proceso de tratamiento de NSBB.

Por otra parte, al analizar los efectos principales de los factores en estudio (Figura 13), se puede ver que los reactores sin fibra tuvieron una eficiencia levemente mayor (76,8%) que los reactores con fibra (72,7%), aun así las diferencias no son estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Esto se puede explicar debido a que en

reactores sin fibra los microorganismos tienen mejor acceso a la DQO soluble, oxígeno disuelto y a los nutrientes. También se debe tener en cuenta que los reactores con fibra tienen una DQO inicial mayor, debido a que poseen mayor carga orgánica. Hay que considerar que en los ensayos en presencia de fibra se dificultan los fenómenos de transferencia de materia, además de la posible existencia de sustancias inhibitorias adheridas a las fibras, tales como colorantes, agentes de drenaje, anticorrosivos, ácidos resínicos, ácidos grasos, taninos, entre otros, que complican aún más la biodegradación y el crecimiento de la biomasa (Yu & Mohn, 2002; Karrasch *et al.*, 2006). Por ejemplo, en un estudio citado por Ali & Sreekrishnan (2001) se evidenció que la biomasa tipo anaeróbica no aclimatada no fue capaz de degradar significativamente ácidos resínicos luego de tiempos de exposición superiores a los 24 días, esto medido como la inhibición de la actividad metanogénica. La inhibición del consorcio anaeróbico fue evidente a razones iniciales superiores a 3,1  $\mu\text{g}$  de ácido resínico por cada milígramo de biomasa. Así mismo, se observó que las poblaciones metanogénicas inhibidas fueron capaces de aclimatarse a altas concentraciones de ácidos resínicos entre los 7-13 días de exposición. Adicionalmente, se reportó que un lodo activo tipo aeróbico no aclimatado fue capaz de una rápida biodegradación de altas concentraciones de ácidos resínicos, en condiciones *batch*, a niveles no detectables luego de 2 a 3 días (Ali & Sreekrishnan, 2001).

Al evaluar el comportamiento de los nutrientes, nitrógeno amoniacal y ortofosfatos, después de 22 horas de tratamiento tampoco se detectaron diferencias significativas al aplicar BEC-118. Gráficamente se puede observar en la Figura 14 *a* y *b*, respectivamente, que en los reactores en que había fibra hubo un mayor consumo de nutrientes. Estos resultados concuerdan con el hecho de que en estos reactores había más carga orgánica disponible para biodegradar y se requeriría un mayor consumo de nutrientes por parte de los microorganismos. Por consiguiente, es importante determinar aquellos microorganismos responsables de eliminar el nitrógeno y el fósforo que operan en la planta de tratamiento de aguas residuales (Wagner *et al.*, 2002). Si se deseara profundizar más acerca del tema es fundamental utilizar técnicas de biología molecular y determinar los cambios en la flora microbiana responsable de la eliminación del

nitrógeno y fósforo (Thompson *et al.*, 2005). Por ejemplo, en un estudio realizado recientemente por Guo *et al.* (2010), en la puesta en marcha de 3 plantas de tratamiento de aguas residuales a bajas temperaturas, se demostró que implementar una estrategia de bioaumentación durante 15 días permitió la estabilización de las comunidades bacterianas bajo condiciones de operación normal, mejorando además la tolerancia a las perturbaciones del proceso. En general, las eficiencias de biodegradación de la DQO alcanzadas fueron en promedio superiores al 83% y se logró cumplir con el estándar ( $DQO \leq 60$  mg/L) solicitado por las autoridades ambientales respectivas. La permanencia de las bacterias especializadas durante del estudio fue corroborada por análisis de PCR-DGGE y por BIOLOG Ecoplate™.

Con respecto al comportamiento de la  $DBO_5$ , luego de 22 horas de tratamiento, en todos los bioreactores se logró una eficiencia de biodegradación superior al 93%, sin detectarse diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. La eficiencia de biodegradación alcanzada es similar a la obtenida por Villamar *et al.* (2009), en reactores MBBR operando en régimen continuo, donde logró una eficiencia máxima de biodegradación de la  $DBO_5$  de 97,9%, luego de un tiempo de residencia hidráulico de 17 horas.

## **6.2. Optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118**

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede inferir que el tiempo de residencia ( $p < 0,05$ ) es el factor que más influye en la eficiencia de biodegradación de la DQO (%) y tiene una correlación muy pequeña, no significativa estadísticamente ( $p$  valor igual a 0,062), respecto a las dosificaciones de BEC-118 utilizadas en este estudio. Esto hace pensar que al probar concentraciones de producto superior a 27,2 mg/L podría tener un efecto significativo en la velocidad de biodegradación de la DQO (%). Los resultados expuestos contradicen estudios realizados por Lazzaretti *et al.* (2000), quienes aplicaron una estrategia de bioaumentación a escala industrial en una planta de celulosa y papel que funciona con un sistema de tratamiento de lodos activos



de una capacidad volumétrica total de 13000 m<sup>3</sup>. Los microorganismos fueron adicionados diariamente, en principio dosificando 6 kg de producto por día, durante un periodo de 10 días, y posteriormente 3,5 kg por día, durante los meses de septiembre a diciembre (120 días). Los resultados obtenidos se compararon con los 120 días anteriores al inicio del tratamiento con el consorcio microbiano comercial. Finalizado el estudio se concluyó que la eficiencia de biodegradación de la DQO aumentó desde un 54% a un 65%, mientras que respecto a la eficiencia de biodegradación de la DBO<sub>5</sub> esta aumentó de un 68% a un 80%. Es necesario precisar que los resultados alcanzados por Lazzaretti *et al.* (2000) se lograron en un proceso de tratamiento con lodos activos que, por lo general, tienen un tiempo de residencia hidráulico superior a 24 horas, en comparación con los reactores MBBR de este estudio que, dependiendo de su capacidad volumétrica y flujo del afluente, tienen tiempos de residencia hidráulico que varían entre 2 a 4 horas. Además, la dosificación inicial empleada por Lazzaretti *et al.* (2000), equivalente a 0.46 mg/L, fue considerablemente menor con respecto a la dosificación máxima (27,2 mg/L) utilizada en este estudio.

En otra investigación realizada por Abeysinghe *et al.* (2002), se montó a escala de laboratorio un reactor continuo de tanque agitado para evaluar un producto de bioaumentación comercial enriquecido en bacterias oxidantes de amonio. Para ello, se simularon condiciones de estrés que provocaran el lavado de las bacterias nitrificantes: (1) disminuyendo el tiempo de retención del lodo a 2 días, operando a una temperatura de 22°C y (2) disminuyendo la temperatura hasta 4°C, para reducir su velocidad específica de crecimiento, operando con un tiempo de retención de 5 días. Como resultado se obtuvo que la comunidad nativa fue incapaz de disminuir la concentración de amonio del afluente (1 mg/L) y que, en condiciones de baja temperatura, las células fueron completamente lavadas. Luego de la aplicación del producto de bioaumentación, las pruebas moleculares demostraron un incremento en la población de bacterias oxidantes de amonio en condiciones de estrés y su subsecuente lavado cuando cesó la dosificación del producto. Debido a esto, Abeysinghe *et al.* (2002) sugirieron la necesidad de utilizar concentraciones elevadas de producto para condiciones de estrés y la aplicación de dosificaciones de mantención para mejorar la eficiencia del sistema

de tratamiento de efluentes a largo plazo. Este documento técnico concluyó finalmente que el uso de una estrategia de bioaumentación, por sí sola, no es económicamente factible, y que para obtener resultados satisfactorios se deben eliminar las condiciones que causan más estrés al sistema de tratamiento biológico.

El hecho que las dosificaciones de BEC-118 utilizadas en esta experiencia no hayan tenido el resultado esperado no quiere decir que la estrategia de bioaumentación fuera inefectiva, sino que no se logró aumentar la velocidad biodegradación de la biomasa existente en la planta de tratamiento de efluentes (Lee *et al.*, 1997). Además de las otras razones propuestas en esta discusión, también se debe considerar que bajo las condiciones experimentales descritas en este estudio (incluso sin someter el sistema de tratamiento a condiciones de estrés), la ineficiencia del producto BEC-118 se debe al corto tiempo de residencia hidráulico característico del proceso de tratamiento de Norske Skog Bio Bio. Por ende, para lograr resultados satisfactorios en la eficiencia de biodegradación tanto de la DQO como de la DBO<sub>5</sub>, probablemente se requiere de concentraciones más elevadas de producto y el uso regular de dosificaciones de mantención que no garantizan una mejora a largo plazo.

## 7. Conclusiones

- La dosis de BEC-118 recomendada por el proveedor no evidencia cambios significativos en la eficiencia de biodegradación de la DQO en reactores MBBR ( $p > 0,05$ ).
- Las pérdidas de fibra no demostraron tener un efecto significativo sobre la eficiencia de biodegradación de la DQO, ni de la  $DBO_5$ , luego de 22 horas de tratamiento ( $p > 0,05$ ).
- El diseño de superficie de respuesta indica que el tiempo de residencia hidráulico es el factor que más afecta la eficiencia de biodegradación de la DQO ( $p < 0,05$ ).
- Las dosificaciones de BEC-118 estudiadas no se correlacionan con un aumento en la eficiencia de biodegradación de la DQO ( $p > 0,05$ ).
- El uso del producto BEC-118 como estrategia de bioaumentación para mejorar la eficiencia de biodegradación del proceso de tratamiento de NSBB en reactores MBBR no es factible.

## 8. Recomendaciones

- De acuerdo a los antecedentes presentados en los capítulos anteriores, el uso del producto BEC-118 para el caso particular de NSBB no es recomendable. Sin embargo, se debe tener en cuenta que en el mercado existe una amplia gama de consorcios microbianos comerciales que podrían ser evaluados, aplicando la misma metodología de este estudio.
- En el caso de que se realizara una parada de planta con una duración superior a 1 o 2 días, este periodo sería una buena oportunidad para volver a evaluar el producto a escala industrial, pues se podría dar un tiempo de retención hidráulico suficiente para estudiar si el consorcio microbiano se puede adaptar a las condiciones del proceso de NSBB.

---

## 9. Bibliografía

Abeyasinghe, D.H., Viraj De Silva, D.G., Sthal, D.A. & Rittmann, B. E., 2002. The Effectiveness of Bioaugmentation in Nitrifying Systems Stressed by a Washout Condition and Cold Temperature. *Water Environ. Res.*, 74 (2), 187-199.

Ali, M. & Sreekrishnan, T., 2001. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. *Adv. Environ. Res.*, 5(2), 175-196.

APHA, 2005. *Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 2540 E: Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C*. 20th Ed. Washington, D.C.

APL, 2005. Acuerdo de Producción Limpia - Industria Del Papel de la Región del Bío-Bío, Chile. 40.

Andersson, S., Kuttuva, G., Land, C.J. & Dalhammar, G., 2008. Biofilm formation and interactions of bacterial strains found in wastewater treatment systems. *FEMS Microbiol. lett.*, 283(1), 83-90.

Andersson, S., 2009. *Characterization of bacterial biofilms for wastewater treatment*, Stockholm, Sweden. 71.

Anoxkaldnes, 2010. Consultado el lunes 24 de mayo de 2010, disponible en: [www.anoxkalnes.com](http://www.anoxkalnes.com)

Branda, S.S., Vik A., Friedman, L. & Kolter, R., 2005. Biofilms: the matrix revisited. *Trends microbiol.*, 13(1), 20-26.

Celmer, D., Oleszkiewicz, J.A. & Cicek, N., 2008. Impact of shear force on the biofilm structure and performance of a membrane biofilm reactor for tertiary hydrogen-driven denitrification of municipal wastewater. *Water Res.*, 42(12), 3057-3065.

CORMA Región del Bio Bio, 2010. Consultado el jueves 5 de agosto, disponible en [www.corma.cl](http://www.corma.cl)

DIA, 2006. Declaración de Impacto Ambiental: Modificación Tratamiento del Efluente de Procesos de Papeles Norske Skog Bio Bio. Consultado el lunes 12 de Julio de 2010, disponible en: [www.e-seia.cl](http://www.e-seia.cl)

DIA, 2006. Declaración de Impacto Ambiental: Descarga Efluente Líquido al Mar, Papeles Norske Skog Bio Bio. Consultado el lunes 12 de Julio de 2010, disponible en: [www.e-seia.cl](http://www.e-seia.cl)

El Fantroussi, S. & Agathos, S., 2005. Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Curr. Opin. Microbiol.*, 8, 268-275.

EmTec Management Ltd., 2010. Bio-Augmentation for Wastewater Treatment. 1-2. Consultado el lunes 12 de Julio de 2010, disponible en: [www.emtec.co.th](http://www.emtec.co.th)

Foster, M.H. & Kramer, T.L., 1997. Bioaugmentation offers solution to treatment plant deficiencies. Consultado el lunes 12 de Julio de 2010, disponible en: [www.bioscienceinc.com/information/articles/BioAidsWW.pdf](http://www.bioscienceinc.com/information/articles/BioAidsWW.pdf)

Foster, M.H., Whiteman, B.S. & Whiteman, G.R., 1992. Bioaugmentation Aids Wastewater Systems. Consultado el lunes 12 de Julio de 2010, disponible en: [http://findarticles.com/p/articles/mi\\_qa3636/is\\_199705/ai\\_n8759317](http://findarticles.com/p/articles/mi_qa3636/is_199705/ai_n8759317)

Gauthier, F., Neufeld, J.D., Driscoll, B.T. & Archibald, F.S., 2000. Coliform bacteria and nitrogen fixation in pulp and paper mill effluent treatment systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(12), 5155-5160.

Gaylarde, C.C., Bellinaso, M.D. & Manfio, G.P., 2005. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotechnol. Ciênc. & Desenvolv.*, 34, 37-43.

Guo, J., Wang, J., Cui, D., Wang, L., Ma, F., Chang, C. & Yang, J., 2010. Application of bioaugmentation in the rapid start-up and stable operation of biological processes for municipal wastewater treatment at low temperatures. *Bioresour. Technol.*, 1-8.

INFOR, 2010. Consultado el jueves 5 de agosto, disponible en: [www.infor.cl](http://www.infor.cl)

Jahren, S.J., Rintala, J.A. & Odegaard, H., 2002. Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions. *Water Res.*, 36 (4), 1067-1075

James, G.A., Beaudette, L. & Costerton, J.W., 1995. Interspecies bacterial interactions in biofilms. *J. Ind. Microbiol.*, 15(4), 257-262.

Karrasch, B., Parra, O., Cid, H., Mehrens, M., Pacheco, P., Urrutia, R., Valdovinos, C. & Zaror, C., 2006. Effects of pulp and paper mill effluents on the microplankton and microbial self-purification capabilities of the Biobío River, Chile. *Sci. Total Environ.*, 359, 194-208.

Lazzaretti, E., Ferraz De Campos, A. & Batista, J.C., 2000. Efeito da adição de microrganismos (bioaumento) em uma estação de tratamento de efluentes por lodo ativado em uma indústria de papel e celulose. *ABES*, 1-6.

Lee, K., Tremblay G. H., Gauthier, J., Cobalani, S. E., Griffin, M. & Way, W. P., 1997. Bioaugmentation and biostimulation: A paradox between laboratory and field results. *Proceedings, 1997 International oil spill conference*, 697-705.

Liu, W.T., Linning, K.D., Nakamura, K., Mino, T., Matsuo, T. & Forney, L.J., 2000. Microbial community changes in biological phosphate-removal systems on altering sludge phosphorus content. *Microbiology*, 146, 1099-1107.

Liu, Y., Lin, Y, Yang, S. & Tay J., 2003. A balanced model for biofilms developed at different growth and detachment forces. *Process Biochem.*, 38(12), 1761-1765.

NCh 2313/1. Of., 1995. *Decreto Supremo N°545 de 1995 del Ministerio de Obras Públicas: Aguas residuales - Métodos de análisis - Parte 1: Determinación de pH*, Santiago, Chile.

NCh 2313/24 Of., 1997. *Decreto Supremo N°1144 de 1997 del Ministerio de Obras Públicas: Aguas residuales - Métodos de análisis - Parte 24: Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)*, Santiago, Chile.

NCh 2313/3 Of., 1995. *Decreto Supremo N°545 de 1995 del Ministerio de Obras Públicas: Aguas Residuales - Determinación de sólidos suspendidos totales secados a 103°C - 105°C* , Santiago, Chile.

NCh 2313/5 Of., 2005. *Decreto Supremo N°355 de 2006 del Ministerio de Obras Públicas: Aguas residuales - Métodos de análisis - Parte 5: Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)*, Santiago, Chile.

NCh2313/2 Of., 1995. *Decreto Supremo N°545 de 1995 del Ministerio de Obras Públicas: Aguas residuales - Métodos de análisis - Parte 2: Determinación de temperatura*, Santiago, Chile.

Nalco Company, 2009. Chapter 23: Secondary Wastewater Treatment. In *The Nalco Water Handbook*. Mc Graw Hill, 1-49.

Norton, S.C., 1991. Pulp and Paper Effluent Management. *Res. J. Water. Pollut. C.*, 63(4), 462-472.

Palmer, J., Flint, S. & Brooks, J., 2007. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 34(9), 577-588.

Papelnet, 2010. Consultado el jueves 5 de agosto, disponible en [www.papelnet.cl](http://www.papelnet.cl)

Pambrun, V., Paul, E. & Sperandio, M., 2008. Control and modelling of partial nitrification of effluents with high ammonia concentrations in sequencing batch reactor. *Chem. Eng. Process.*, 47(3), 323-329.

Pokhrel, D. & Viraraghavan, T., 2004. Treatment of pulp and paper mill wastewater - a review. *Sci. Total Environ.*, 333, 37-58.

Pozo, G., 2009. Optimización de la operación de un reactor aerobico de biopelícula bacteriana inmovilizada: Incidencia de los nutrientes en la síntesis de polihidroxialcanoato (PHA) como producto del tratamiento de efluentes de celulosa kraft. 56.

Qureshi, N., Annous B.A., Ezeji, T.C., Karcher, P. & Maddox I.S., 2005. Biofilm reactors for industrial bioconversion processes: employing potential of enhanced reaction rates. *Microb. Cell Fac.*, 4, 1-21.

Ramalho, R.S., 1996. *Tratamiento de Aguas Residuales*, Reverté S.A. 705.

Rusten, B., McCoy, M., Proctor, R. & Siljudalen, J.G., 1998. The Innovative Moving Bed Biofilm Reactor / Solids Contact Reaeration Process for Secondary Treatment of Municipal Wastewater. *Water Environ. Res.*, 70(5), 1083-1089.

Salvetti, R., Azzellino, A., Canziani, R. & Bonomo L., 2006. Effects of temperature on tertiary nitrification in moving-bed biofilm reactors. *Water Res.*, 40(15), 2981-2993.

Sarkar, D., Ferguson, M., Datta, R. & Birnbaum S., 2005. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environ. Pollut.*, 136, 187-195.

Sivard, A., Ericsson, T. & Larsson, B., 2007. Strategy for nutrient control in modern effluent treatment plants. *Water Sci. Technol.*, 55(6), 157-163.

Slade, A.H., Ellis, R.J., vanden Heuvel, M. & Stuthrige, T.R., 2004. Nutrient minimisation in the pulp and paper industry : an overview. *Water Sci. Technol.*, 50(3), 111-122.

Serrano, E., 2010. Bioaugmentation Control by BM-T Respirometry. 1-6. Consultado el jueves 24 de junio de 2010, Disponible en: [www.environmental-expert.com](http://www.environmental-expert.com).

Terada, A., Hibiya, K., Nagai, J., Tsuneda, S. & Hirata, A., 2003. Nitrogen removal characteristics and biofilm analysis of a membrane-aerated biofilm reactor applicable to high-strength nitrogenous wastewater treatment. *J. Biosci. Bioeng.*, 95(2), 170-178.

Thompson, I.P., van der Gast, C.J., Ciric, L. & Singer, A.C., 2005. Bioaugmentation for bioremediation: the challenge of strain selection. *Environ. Microbiol.*, 7(7), 909-915.

Trivedi, H.K., 2009. Advanced Biological Treatment Processes. In L. K. Wang, N. K. Shamas, & Y. Hung *Handbook of Environmental Engineering*. Humana Press, 185-207.

Tyagi, M., Carvalho, C.C. & Fonseca, M.R., 2010. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*. 1-11.



VeiolaWater, 2010. Consultado el martes 15 de junio de 2010, disponible en: [www.veiolawater.com](http://www.veiolawater.com)

Villamar, C.A., Jarpa, M., Decap, J. & Vidal, G., 2009. Aerobic moving bed bioreactor performance: a comparative study of removal efficiencies of kraft mill effluents from *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* as raw material. *Water Sci. Technol.*, 59(3), 507-514.

Wagner, M., Loy, A., Nogueira, R., Purkhold, U., Lee, N. & Daims, H., 2002. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 665-680.

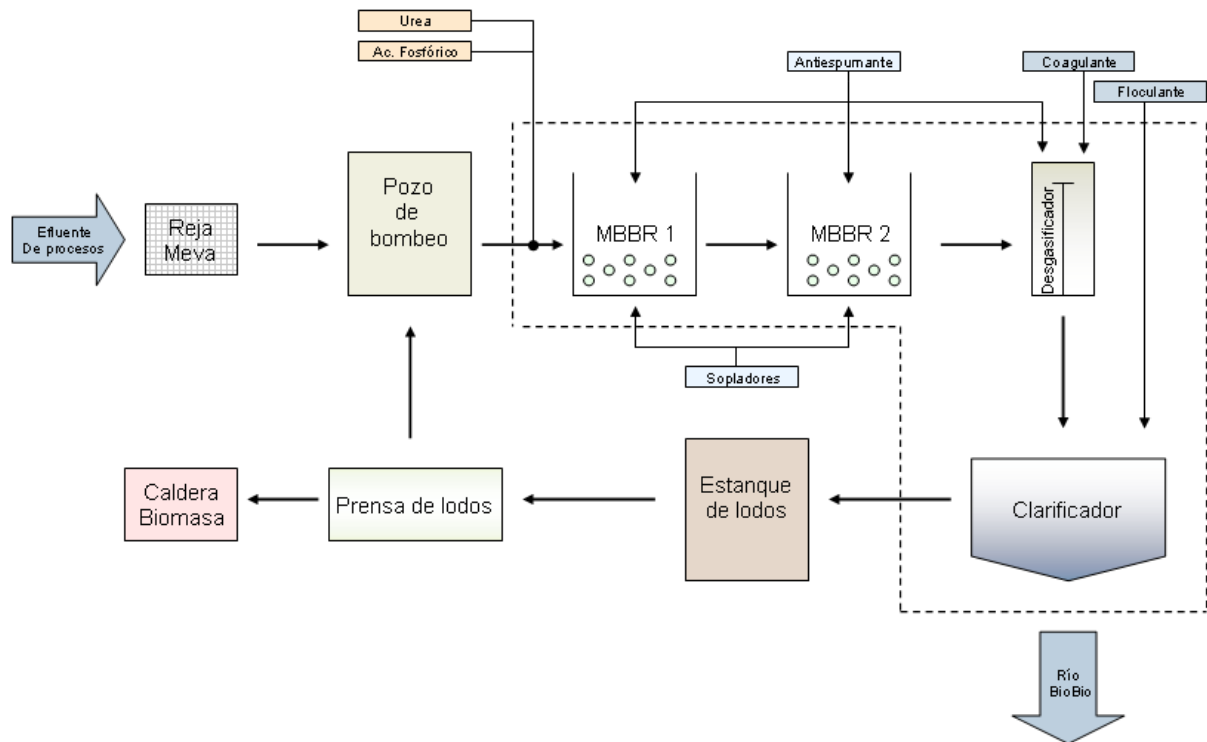
WEF, 2005. Chapter 3: Nitrification and Denitrification. In *Biological Nutrient Removal Operation in Wastewater Treatment Plants*, McGraw-Hill Professional. 35-102.

Xavier, C. & Vidal, G., 2003. Los residuos líquidos en la industria de celulosa: avances y desafíos. *Tecnología del Agua*, 243, 42-50.

Yu, Z. & Mohn, W.W., 2002. Bioaugmentation with the resin acid-degrading bacterium *Zoogloea resiniphila* DhA-35 to counteract pH stress in an aerated lagoon treating pulp and paper mill effluent. *Water Res.*, 36(11), 2793-2801.

## 10. Anexos

### Anexo 1. Proceso de tratamiento de RILES de Norske Skog Bio Bio.



**Figura 17.** Diagrama de flujo planta de tratamiento secundario de Norske Skog Bio Bio.

**Reja Meva y pozo de bombeo:** Es una rejilla Roto, Meva, Modelo RS21-506 diseñada para procesar 720 m<sup>3</sup>/h. Esta estación de bombeo está equipada con una rejilla de acero inoxidable para atrapar todas las partículas sólidas de más de 6 mm, como piedras y palos que puedan ir en el efluente y que puedan dañar las bombas de proceso. La rejilla tiene un sistema de limpieza automática tipo rastrillo para remover los sólidos atrapados y se controlan en forma automática a través del sistema de control distribuido y supervisadas por un operador en forma continua.

**Reactores MBBR:** Reactores Biológicos de Lecho Móvil (Moving Bed Biological Reactors, MBBR) para reducir el parámetro DBO<sub>5</sub> en el efluente general y mantenerlo muy por debajo del límite normado en el DS 90/00. Dichos reactores se encuentran

conectados en serie generando un volumen útil de 1540 m<sup>3</sup>. El tiempo de residencia es de 3,1 horas y la fracción total del relleno es entre un 30 - 45% del volumen del reactor.

**Sistema de dosificación de productos químicos:** Este incluye químicos (soda y ácido clorhídrico) para la neutralización del pH previo al tratamiento biológico, se utiliza antiespumante para abatir problemas de espuma en los reactores.

**Sistema de dosificación de ácido fosfórico:** Es inyectado como nutriente para el tratamiento biológico; es suministrado en forma líquida en contenedores de 1000 kg y es bombeado a la planta de tratamiento biológico con una bomba de dosificación.

**Sistema dosificación de Urea:** Se prepara una solución de urea (generalmente al 30%) y se dosifica como nutriente para la biomasa en el reactor biológico. El sistema de preparación consta de una tolva para la urea en polvo, un tornillo alimentador, un estanque de disolución, un agitador, un estanque de dosificación y una bomba de dosificación.

**Desgasificador:** Su función es disminuir la velocidad del efluente y retener parte de la espuma generada en la descarga del reactor biológico, consta de un sistema para adicionar antiespumante.

**Clarificador:** Un clarificador por decantación, EIMCO Reactor Clarifier™, que es el equipo principal del sistema para la clarificación del efluente. La principal función del clarificador es separar los sólidos suspendidos del efluente, descargándolo clarificado y concentrando los sólidos para su espesado. La segunda tarea es servir como estanque de ecualización e incluso amortiguar las variaciones en temperatura, pH y concentración de BOD. La tercera función, dado el gran volumen del equipo, es disponerlo para almacenamiento de sólidos en caso de incremento de la carga del efluente. Este equipo está diseñado para trabajar con un flujo máximo de 720 m<sup>3</sup>/h.

**Sistema dosificación Coagulante – Floculante:** El efluente se acondiciona con polímero para obtener una apropiada coagulación y floculación de los sólidos. Todo el acondicionamiento químico se realiza dentro del clarificador, lo cual permite un proceso más simple y una menor dosificación de productos químicos.

**Estanque de lodos o de almacenamiento:** La fibra secundaria recolectada desde el fondo del clarificador, con una concentración aproximada de 20 g/L, se bombea al estanque de almacenamiento. El nivel en el estanque se controla mediante las bombas, que aumentan de velocidad cuando se alcanza el nivel predeterminado, removiendo el exceso de fibra secundaria acumulada. Toda esta lógica se controla continuamente a través del sistema de control de la planta.

**Prensa de lodos o Unidad de desaguamiento:** Desde el Estanque de almacenamiento, la fibra secundaria es enviada al Filtro de Banda de alta Presión BDP, para realizar su desaguamiento mecánico. La primera parte del proceso se realiza en una mesa gravitacional con una tela sin fin sintética, donde el sólido pierde agua por efecto gravitacional. La segunda etapa del proceso consiste en una prensa continua de doble tela (High pressure Belt press EIMCO, Modelo HO 3x3x1 m para desaguar hasta 24 ton/d); en ella, por efecto de la presión que ejercen las dos telas sobre la fibra secundaria atrapada en su interior, se produce la máxima extracción de agua, obteniéndose un secado mayor a 35%. El agua filtrada que se recolecta desde el Filtro de banda y de la prensa se recircula a la estación de bombeo para ser tratada nuevamente. El sólido a la salida de la prensa de doble tela, se conduce en una cinta transportadora hasta la correa que lleva corteza, astillas y aserrín desde el descortezador a los galpones de Partículas de Madera (PDM), para conformar la mezcla combustible que utiliza la caldera para su operación normal.

**Caldera Biomasa:** El sólido decantado en el proceso de clarificación del efluente, compuesto básicamente por fibras y finos de madera del pulpaje mecánico y fabricación del papel, en una cantidad aproximada de 6,5 ton/día, es quemado en la caldera de poder marca Distral de la planta, mezclado con corteza y aserrín. El consumo de partículas de madera en la caldera es de 500 ton/d. La ceniza, unas 12 – 15 toneladas diarias en total (2-3% del combustible), se extrae de la caldera y se dispone temporalmente en el interior de la Planta para posteriormente ser utilizada como material de relleno en el mismo sitio o enviada a un Relleno Sanitario autorizado.

**Anexo 2.** Parámetros de diseño para el sistema MBBR**Tabla 13.** Parámetros de diseño para el sistema MBBR de Norske Skog Bio Bio.

<b>Parámetro</b>	<b>Promedio</b>	<b>Máximo</b>	<b>Unidad</b>
Flujo	13400	16000	m <sup>3</sup> /d
DQO concentración	800	1200	mg/L
DQO carga	10700	19200	kg/d
DBO concentración	380	700	mg/L
DBO carga	5100	11200	kg/d
SST concentración	500	1200	mg/L
SST carga	6700	19200	kg/d
<b>Descripción</b>	<b>Valor</b>	<b>Unidad</b>	
<b>Reactores</b>			
Número	2		
Volumen total	1800	m <sup>3</sup>	
Volumen por reactor	900	m <sup>3</sup>	
SWD	8	m	
Altura total	9,5	m	
Tipo de relleno	Biofilm Chip-P		
Cantidad de relleno	200	m <sup>3</sup>	
Volumen de relleno	11	%	
HRT a flujo promedio	3,2	h	
HRT a flujo máximo	2,7	h	
DQO carga promedio diaria	5,9	kg/(m <sup>3</sup> *d)	
DQO carga diaria máxima	10,7	kg/(m <sup>3</sup> *d)	
DBO carga promedio diaria	2,8	kg/(m <sup>3</sup> *d)	
DBO carga diaria máxima	6,8	kg/(m <sup>3</sup> *d)	
<b>Remoción</b>			
Remoción esperada DQOs	80	%	
Remoción esperada DBOs	90	%	
<b>Rendimiento Sólidos</b>			
Esperado a condiciones promedio	0,25 a 0,3	kgSSV/kgDQOred	
<b>Aireación</b>			
AOR	190-350	kg O <sub>2</sub> /h	
Temperatura de diseño	38	°C	
Residual OD	2 a 3	mg/L	
SOR	480-700	kg O <sub>2</sub> <sup>2</sup> /h	
Requerimiento de aire	6000-8500	N m <sup>3</sup> /h	
<b>Nutrientes</b>			
Requerimiento N	210 a 390	kgN/d	
Requerimiento P	40 a 80	kgP/d	

**Anexo 3.** Cinéticas de biodegradación de DQO para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra según tipo de tratamiento

**Tabla 14.** Resultados de la cinética del tratamiento con Fibra - sin BEC-118.

	Tratamiento: con Fibra - sin BEC-118					
	Tiempo (Horas)					
	0	1	2	4	6	22
DQO (mg/L)	423,5 ± 4,3	354,8 ± 29,4	319,1 ± 18,2	287,9 ± 19,3	254,7 ± 25,4	118,4 ± 27,6
pH	7,2 ± 0,1	7,3 ± 0,2	7,4 ± 0,1	7,6 ± 0,1	7,8 ± 0,1	7,9 ± 0,1
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	197 ± 14,8					11,5 ± 4,2
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	4,5 ± 0,8					0,7 ± 0,3
PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	1,9 0,1					0,7 ± 0,1

**Tabla 15.** Resultados de la cinética del tratamiento con Fibra - con BEC-118.

	Tratamiento: con Fibra - con BEC-118					
	Tiempo (Horas)					
	0	1	2	4	6	22
DQO (mg/L)	390,2 ± 5,7	338,7 ± 21,8	303,5 ± 22,8	266,5 ± 10,5	238,1 ± 5,1	103,6 ± 18,2
pH	7,2 ± 0,0	7,3 ± 0,2	7,4 ± 0,2	7,6 ± 0,0	7,8 ± 0,0	7,9 ± 0,2
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	202 ± 20,5					10,0 ± 0,0
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	4,5 ± 0,5					0,8 ± 0,3
PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	1,8 ± 0,1					0,7 ± 0,1

**Tabla 16.** Resultados de la cinética del tratamiento sin Fibra - sin BEC-118.

	Tratamiento: sin Fibra - sin BEC-118					
	Tiempo (Horas)					
	0	1	2	4	6	22
DQO (mg/L)	354 ± 25,8	299,8 ± 38,3	260,2 ± 54,2	216,0 ± 47,2	185,3 ± 30,4	80,3 ± 18,7
pH	7,2 ± 0,1	7,4 ± 0,2	7,5 ± 0,2	7,6 ± 0,1	7,7 ± 0,1	7,8 ± 0,1
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	185,8 ± 32,9					9,0 ± 3,5
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	4,2 ± 0,9					1,4 ± 0,4
PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	1,8 ± 0,1					1,1 ± 0,1

**Tabla 17.** Resultados de la cinética del tratamiento sin Fibra - con BEC-118.

	Tratamiento: sin Fibra - con BEC-118					
	Tiempo (Horas)					
	0	1	2	4	6	22
DQO (mg/L)	357,8 ± 4,1	305,6 ± 24,5	279,2 ± 56,1	219,9 ± 48,5	181,8 ± 34,2	85,3 ± 10,1
pH	7,2 ± 0,0	7,3 ± 0,2	7,5 ± 0,1	7,6 ± 0,1	7,8 ± 0,0	7,8
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	179,3 ± 23					12,0 ± 3,5
NH <sub>3</sub> -N (mg/L)	4,3 ± 0,8					1,2 ± 0,4
PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	1,9 ± 0,1					1,2 ± 0,1

#### Anexo 4. Análisis estadístico para evaluar la dosificación de BEC-118 recomendada por el proveedor y el efecto de las pérdidas de fibra

**Tabla 18.** Análisis de varianza de dos vías para eficiencia de biodegradación (%) a las 4 horas de tratamiento.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Prob.	F crítico
Muestra	101,4473	1	101,4473	1,4207	0,2992	7,7086
Columnas	0,5065	1	0,5065	0,0071	0,9369	7,7086
Interacción	0,0761	1	0,0761	0,0011	0,9755	7,7086
Dentro del grupo	285,6186	4	71,4046			
Total	387,6	7				

##### Bonferroni Post-Test: Sin BEC-118 vs Con BEC-118

Factor	Sin BEC-118	Con BEC-118	Diferencia	95% IC de dif.
Sin Fibra	39,31	38,61	-0,6983	-30,23 a 28,84
Con Fibra	32	31,69	-0,3082	-29,84 a 29,23

Factor	Diferencia	t	P valor	Resumen
Sin Fibra	-0,6983	0,08264	P > 0,05	No significativo
Con Fibra	-0,3082	0,03647	P > 0,05	No significativo

**Tabla 19.** Análisis de varianza de dos vías para eficiencia de biodegradación (%) a las 22 horas de tratamiento.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Prob.	F crítico
Muestra	33,6497	1	33,6497	1,4738	0,2915	7,7086
Columnas	0,0135	1	0,0135	0,0006	0,9818	7,7086
Interacción	3,5865	1	3,5865	0,1571	0,7121	7,7086
Dentro del grupo	91,3266	4	22,8316			
Total	128,5762	7				

##### Bonferroni Post-Test: Sin BEC-118 vs Con BEC-118

Factor	Sin BEC-118	Con BEC-118	Diferencia	95% IC de dif.
Sin Fibra	77,45	76,19	-1,257	-17,96 a 15,44
Con Fibra	72	73,43	1,421	-15,28 a 18,12

Factor	Diferencia	t	P valor	Resumen
Sin Fibra	-1,257	0,2631	P > 0,05	No significativo
Con Fibra	1,421	0,2974	P > 0,05	No significativo



**Tabla 20.** Análisis de varianza de dos vías para DBO<sub>5</sub> (mg/L) a las 0 horas.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Prob.	F crítico
Muestra	578,0000	1	578,0000	1,0274	0,3681	7,7086
Columnas	1,1250	1	1,1250	0,0020	0,9665	7,7086
Interacción	66,1250	1	66,1250	0,1175	0,7490	7,7086
Dentro del grupo	2250,2500	4	562,5625			
Total	2895,5000	7				

## Bonferroni Post-Test: Sin BEC-118 vs Con BEC-118

Factor	Sin BEC-118	Con BEC-118	Diferencia	95% IC de dif.
Sin Fibra	185,8	179,3	-6,5	-89,41 a 76,41
Con Fibra	197	202	5	-77,91 a 87,91

Factor	Diferencia	t	P valor	Resumen
Sin Fibra	-6,5	0,2740	P > 0,05	No significativo
Con Fibra	5	0,2108	P > 0,05	No significativo

**Tabla 21.** Análisis de varianza de dos vías para DBO<sub>5</sub> (mg/L) a las 22 horas.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Prob.	F crítico
Muestra	0,1250	1	0,1250	0,0116	0,9193	7,7086
Columnas	1,1250	1	1,1250	0,1047	0,7625	7,7086
Interacción	10,1250	1	10,1250	0,9419	0,3868	7,7086
Dentro del grupo	43,0000	4	10,7500			
Total	54,3750	7				

## Bonferroni Post-Test: Sin BEC-118 vs Con BEC-118

Factor	Sin BEC-118	Con BEC-118	Diferencia	95% IC de dif.
Sin Fibra	9	12	3	-8,460 a 14,46
Con Fibra	11,5	10	-1,5	-12,96 a 9,960

Factor	Diferencia	t	P valor	Resumen
Sin Fibra	3	0,9150	P > 0,05	No significativo
Con Fibra	-1,5	0,4575	P > 0,05	No significativo

**Tabla 22.** Análisis de varianza de una vía para evaluar el efecto principal de las medias de los tratamientos en estudio.

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Con Fibra	4	290,8607	72,7152	24,5517		
Sin Fibra	4	307,2680	76,8170	7,0905		
Con BEC-118	4	299,2285	74,8071	13,1926		
Sin BEC-118	4	298,9002	74,7250	29,6616		

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Prob.	F crítico
Entre grupos	33,6632	3	11,2211	0,6025	0,6257	3,4903
Dentro de los grupos	223,4892	12	18,6241			
Total	257,1524	15				

**Tabla 23.** Análisis de varianza de dos vías para Nitrógeno amoniacal (mg/L) a las 22 horas de tratamiento.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Prob.	F crítico
Muestra	0,5000	1	0,5000	4,8780	0,0918	7,7086
Columnas	0,0050	1	0,0050	0,0488	0,8360	7,7086
Interacción	0,0450	1	0,0450	0,4390	0,5438	7,7086
Dentro del grupo	0,4100	4	0,1025			
Total	0,9600	7				

## Bonferroni Post-Test: Sin BEC-118 vs Con BEC-118

Factor	Sin BEC-118	Con BEC-118	Diferencia	95% IC de dif.
Sin Fibra	1,35	1,15	-0,2	-1,319 a 0,9191
Con Fibra	0,7	0,8	0,1	-1,019 a 1,219

Factor	Diferencia	t	P valor	Resumen
Sin Fibra	3	0,9150	P > 0,05	No significativo
Con Fibra	-1,5	0,4575	P > 0,05	No significativo

**Tabla 24.** Análisis de varianza de dos vías para Ortofosfatos (mg/L) a las 22 horas de tratamiento.

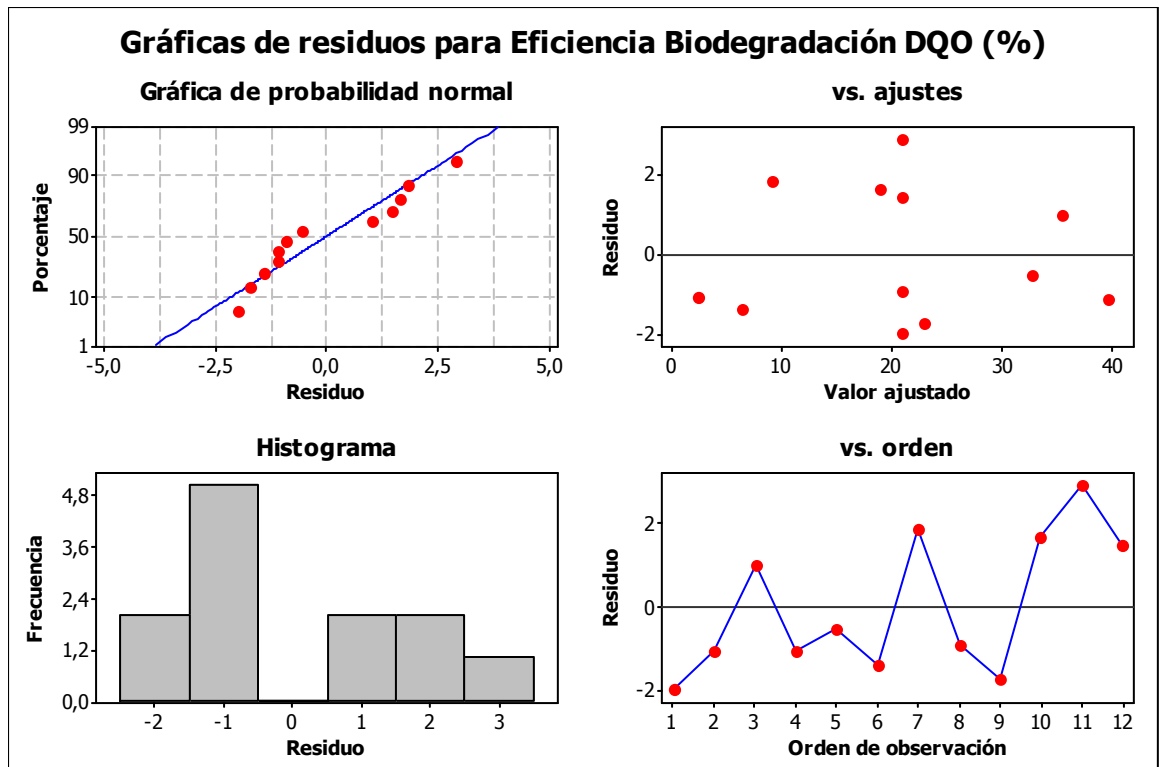
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Prob.</i>	<i>F crítico</i>
Muestra	0,5000	1	0,5000	40,0000	0,0032	7,7086
Columnas	0,0050	1	0,0050	0,4000	0,5614	7,7086
Interacción	0,0450	1	0,0450	3,6000	0,1306	7,7086
Dentro del grupo	0,0500	4	0,0125			
Total	0,6000	7				

## Bonferroni Post-Test: Sin BEC-118 vs Con BEC-118

Factor	Sin BEC-118	Con BEC-118	Diferencia	95% IC de dif.
Sin Fibra	1,05	1,15	0,1	-0,2908 a 0,4908
Con Fibra	0,7	0,5	-0,2	-0,5908 a 0,1908

Factor	Diferencia	t	P valor	Resumen
Sin Fibra	0,1	0,8944	P > 0,05	No significativo
Con Fibra	-0,2	1,789	P > 0,05	No significativo

**Anexo 5.** Gráfica de residuos para la optimización de la dosificación y el tiempo de residencia del consorcio microbiano comercial BEC-118



**Figura 18.** Análisis de residuos para eficiencia de biodegradación de DQO (%).