



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



Optimización de un biorreactor de lecho móvil (MBBR) para la biodegradación de un efluente proveniente de la industria de celulosa Kraft

Seminario de título presentado a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas para optar al título de Biólogo

Claudio Parra Riquelme

Concepción, Diciembre de 2006

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera muy sincera a la profesora Dra. Gladys Vidal, por acogerme en su grupo de trabajo en el Centro EULA-CHILE, su disposición, dedicación y constante ejemplo de luchar por los objetivos propuestos, enfrentando los obstáculos que depara la vida con energía y positivismo.

A Jacqueline Decap, por su disposición y paciencia a toda prueba, transformándose en parte fundamental, para llevar a cabo esta investigación.

A la Comisión calificadora de mi defensa de Seminario de Título, por su tiempo, disposición y acertadas correcciones.

Al grupo de Biotecnología, gracias por incorporarme de manera tan grata, permitiendo crear un ambiente ideal de trabajo y crecimiento personal.

De manera personal, a mis Padres, por toda su enseñanza, paciencia y apoyo.

A María José, por su apoyo constante e incondicional, por contagiarme día a día con su energía y alegría, su espíritu de superación y constante esfuerzo.

Este seminario de título ha sido realizado en el Centro de Investigación en Ciencias Ambientales EULA-Chile, de la Universidad de Concepción.

Profesor Guía:

Dra. Gladys Vidal S

Ha sido aprobado por la siguiente Comisión Evaluadora:

Dra. Gladys Vidal S

Dr. Miguel Martínez

Dr. Enrique Bay-Schmith

Coordinador de Tesis:

Dra. Maritza Hoeneizen

ÍNDICE

1. RESUMEN	9
2. ABSTRACT	10
3. INTRODUCCION	11
4. HIPOTESIS	14
5. OBJETIVOS	14
5.1 Objetivo general	14
5.2 Objetivo específico	14
6. METODOLOGIA	15
6.1 Efluente	15
6.2 Operación del reactor	15
6.3 Biodegradación del efluente	15
6.4 Caracterización microbiológica de la biomasa	18
6.4.1 Caldo y agar nutritivo	18
6.4.2 Medio mínimo mineral	18
6.4.3 Recuento viable de bacterias	18
6.4.4 Microscopia de Epifluorescencia	19
6.4.5 Microscopia Electrónica de barrido	19
6.5 Métodos analíticos	20
7. RESULTADOS	21
7.1 Parámetros operacionales	22
7.2 Parámetros de eficiencia	26
7.3 Caracterización microbiológica de la biomasa	34

7.3.1 Recuento viable de bacterias	34
7.3.2 Microscopia de Epifluorescencia	35
7.3.3 Microscopia Electrónica de barrido	35
8. DISCUSION	37
9. CONCLUSION	40
10. REFERENCIAS	41

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos técnicos de la planta MBBR a escala laboratorio.....	17
Tabla 2. Datos técnicos del soporte inerte.....	18
Tabla 3. Caracterización del efluente proveniente de una industria de celulosa Kraft, previo y posterior al tratamiento con MBBR operando a TRH de 2d y 1d.....	21
Tabla 4. Caracterización de SST y SSV en el reactor MBBR, durante las dos fases de operación, con TRH 2d y 1d.....	21

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado del sistema de tratamiento secundario aeróbico MBBR.	16
Figura 2. Esquema del sistema de tratamiento secundario aeróbico tipo MBBR	17
Figura 3. Comportamiento del tiempo de retención hidráulico hasta los 110 días de operación del MBBR.	22
Figura 4. Comportamiento de la velocidad de carga orgánica a través del tiempo de operación del reactor aeróbico.	23
Figura 5. Contraste entre el comportamiento del tiempo de retención hidráulico y el comportamiento de la velocidad de carga orgánica, a través del tiempo de operación del MBBR.	24
Figura 6. Comportamiento de pH a través del tiempo de operación del reactor aeróbico.	25
Figura 7. Comportamiento del oxígeno disuelto a través del tiempo de operación del reactor aeróbico.	25
Figura 8. Contraste entre las concentraciones de demanda química de oxígeno del influente v/s efluente tratado y la demanda biológica de oxígeno del influente v/s efluente tratado, a través del tiempo de operación del MBBR.	27
Figura 9. Comportamiento porcentual de las eficiencias de remoción de demanda química de oxígeno y demanda biológica de oxígeno a través del tiempo de operación del MBBR.	28
Figura 10. Comportamiento porcentual de las eficiencias de remoción de demanda química de oxígeno y demanda biológica de oxígeno a través de los diferentes tiempos de retención hidráulico	29
Figura 11. Contraste entre porcentaje de eficiencia de remoción de la Demanda Química de Oxígeno, en relación al pH del efluente tratado, durante el periodo de operación del MBBR.	30
Figura 12. Contraste entre porcentaje de eficiencia de remoción de la Demanda Biológica de Oxígeno, en relación al pH del efluente tratado,	30

durante el periodo de operación del MBBR.

Figura 13. Variación del color para el influente sin tratar y el efluente tratado, 31 durante el tiempo de operación del reactor aeróbico MBBR

Figura 14. Porcentaje de eficiencia de remoción del ácido Linosulfónico, a 32 través del tiempo de operación del reactor MBBR.

Figura 15. Comportamiento de la lignina y derivados de lignina a través del 32 tiempo de operación del MBBR.

Figura 16. Porcentaje de remoción de compuestos aromáticos, a través del 33 tiempo de operación del reactor MBBR.

Figura 17. Comportamiento de los compuestos fenólicos totales con 34 absorbancia de 215nm, durante el periodo de operación del MBBR.

Figura 18. Fotografía de microorganismos obtenidos del biosoporte 35 Sonicado, obtenidos del MBBR.

Figura 19. Fotografía de microorganismos obtenidos del sobrenadante del 36 reactor MBBR.

1. RESUMEN

La degradación de los efluentes de celulosa Kraft se realiza con microorganismos aeróbicos en un bioreactor de lecho móvil (MBBR), los cuales actúan sobre los compuestos específicos contenidos en los efluentes para transformarlos en CO_2 y H_2O . Estos son responsables de la remoción de la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO_5), de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), de los Sólidos Suspendidos (SS), Compuestos Fenólicos Totales y de la toxicidad que tenga un efluente, previo a la descarga en el cuerpo receptor. El MBBR usa soportes inertes (biocarriers) para biopelículas (biofilms) diseñados para maximizar la superficie usada por la biopelícula activa en el reactor. Estos biorreactores poseen una insignificante pérdida de biomasa y no necesitan una limpieza periódica. Se optimiza el funcionamiento del sistema de tratamiento secundario MBBR, bajo distintas velocidades de carga orgánica (VCO) y tiempos de retención hidráulica (TRH), específicamente TRH de 2 días y 0,9 días, para obtener mejores eficiencias de depuración con especial énfasis en la estabilidad de la biopelícula adherida a los biocarriers. Todos los parámetros físico – químicos, es decir DBO_5 , la DQO, compuestos fenólicos totales, los sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), $\text{Color}_{440\text{nm}}$, caudal de trabajo (Q), pH y oxígeno disuelto (OD), se determinaron de acuerdo a los Métodos Estándar (APHA, 1989). Las mejores eficiencias de depuración se obtuvieron para la segunda fase con TRH de 0,9 días, mostrando porcentajes de remoción para DQO superiores al 45% y para la DBO_5 por sobre el 97%.

2. ABSTRACT

The degradation of the effluents of Kraft cellulose is made with aerobics microorganisms in a mobile bed bioreactor (MBBR), which act on specific compounds contained in the effluents to transform them into CO₂ and H₂O. These are responsible for the removal of the Biological Oxygen Demand (BOD₅), Chemical Oxygen Demand (COD), of Suspended Solids (SS), Total Phenolics Compounds and the toxicity that an effluent has, previously to discharge. The MBBR uses inert supports (biocarriers) for biofilms designed to maximize the surface used by the active biofilms in the reactor. These bioreactors have insignificant headloss and they do not need periodic backwashing. The operation of this secondary treatment MBBR is optimized, under different organic loading rates (OLR) and hydraulic retention times (HRT), to obtain better efficiencies of purification with special emphasis in the stability of the biofilm contained in biocarriers. All the physico – chemical parameters, that is to say, BOD₅, COD, total phenolic compounds, total suspended solids (TSS), volatile suspended solids (VSS), Colour_{440nm}, volume of work (Q), pH and dissolved oxygen (DO), are determined according to Standard Methods (APHA, 1989). The higher efficiencies were obtained in the second phase whit HRT 0,9 days, showing efficiency percentages for COD and BOD₅ above 45% and 97%, respectively.

3. INTRODUCCION

La industria de celulosa Kraft requiere para sus procesos de grandes cantidades de agua, por lo cual, se generan volúmenes considerables de efluentes. Los sistemas de tratamiento secundario aeróbico son usados a nivel mundial, para tratar el abatimiento de la materia orgánica de los efluentes industriales. La degradación de los efluentes de celulosa Kraft se realiza a través de complejas interacciones de las especies aeróbicas, esenciales para una correcta depuración, que utilizan oxígeno para degradar los compuestos orgánicos, actuando sobre los compuestos específicos contenidos en los efluentes para transformarlos en CO₂ y H₂O (Wilderer *et al.*, 2001).

El diseño y operación de estos sistemas ha sido por muchos años basado únicamente en la operación hidráulica, con poco o ningún conocimiento de los microorganismos que residen en el sistema, los cuales son responsables de la remoción de la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅), de la Demanda Química de Oxígeno y de la toxicidad que tenga un efluente, previo a la descarga en el cuerpo receptor (Saunamaki, 1989, Kovacs & Voss, 1992, Kostamo & Kukkonen, 2003, Gilbridea *et al.*, 2006). Para determinar la eficiencia de depuración del sistema, con DBO₅ y DQO, se deben controlar una serie de parámetros determinantes tales como pH, nutrientes, niveles de oxígeno y concentraciones (Oliveira-Esquerre *et al.*, 2004).

Las celulosas modernas localizadas en el Sur de Chile producen más de un millón de toneladas por año de pulpa blanqueada por método Kraft, siendo diseñadas para minimizar el impacto ambiental (Diez *et al.*, 2002), pero a diferencia de las primeras, previas celulosas fueron diseñadas sin considerar los problemas ambientales y la mayoría de ellas descarga sus efluentes líquidos en el río Bio-Bio, el cual posee un elevado nivel de contaminación (Videla & Diez, 1997), por lo cual es relevante determinar de que manera este tratamiento secundario ayuda a disminuir los tóxicos de los efluentes. El agua proveniente de la industria de celulosa contiene diferentes componentes orgánicos e inorgánicos, tales como ligninas, hemicelulosas,

extractivos de la madera, entre otros, originados de la madera y su procesamiento. Estos compuestos orgánicos disueltos pueden ser divididos tanto en compuestos de bajo o alto peso molecular. Las moléculas orgánicas más pequeñas entregan una alta DBO_5 a las aguas residuales, mientras que las moléculas de lignina más complejas no causan DBO_5 , sino que representan una fracción de DQO recalcitrante y color oscuro (Palabiyikoglu & Krogerus, 1989, Diez *et al.*, 2002).

Desde una perspectiva tecnológica, los sistemas de tratamientos aeróbicos pueden dividirse en sistemas con biomasa adherida o biomasa libre. Los sistemas basados en biomasa adherida, tienen la característica que las bacterias aeróbicas pueden formar biopelículas (biofilm), lo que permite una menor fuga o pérdida de microflora del sistema, existiendo muchos tipos diferentes de configuraciones de sistemas de biopelículas, entre los cuales se cuentan los contactor biológico rotatorio (RBC), biofiltros de medio sumergido, biofiltros de medio granular, reactores de lecho fluidizado y biorreactores de lecho móvil (MBBR) (Rusten *et al.*, 2006). Más aun, la inmovilización de la biomasa en soportes inertes presenta varias ventajas como una mayor concentración de biomasa en el reactor, mayor actividad metabólica y una mejor resistencia a la toxicidad, entre otras (Diez *et al.*, 2005).

Los MBBR corresponden a una tecnología que ha tenido una fuerte incorporación en la industria de celulosa. Este biorreactor de lecho móvil fue desarrollado en Noruega a finales de los 80s y principios de los 90s. Se encuentra cubierto por varias patentes y ha tenido un gran éxito a nivel mundial para el tratamiento de aguas residuales industriales y municipales. Adicionalmente, el MBBR ha sido exitosamente utilizado como tratamiento biológico para agua potable, así como también para criaderos de peces. El MBBR usa soportes inertes o biosoportes (biocarriers) para biopelículas, maximizando la superficie usada por la biopelícula activa en el reactor. Estos biorreactores poseen una insignificante pérdida de biomasa y no necesitan una limpieza periódica (Rusten *et al.*, 2006). El sistema MBBR ha sido satisfactoriamente usado para tratamiento de muchos efluentes municipales e industriales, incluyendo los residuos líquidos de la industria de pulpa y papel

(Ødegaard *et al.*, 1994, Rusten *et al.*, 1994, Aspegren *et al.*, 1998, Welander *et al.*, 1998).

El objetivo del presente trabajo es optimizar el funcionamiento de un sistema de tratamiento secundario del tipo MBBR, bajo distintas velocidades de carga orgánica (VCO) y tiempos de retención hidráulica (TRH), para obtener mejores eficiencias de depuración con especial énfasis en la estabilidad de la biopelícula adherida a los biocarriers.

4. HIPOTESIS

La operación de un biorreactor de lecho móvil optimizado de biopelícula, produce eliminación de materia orgánica y compuestos fenólicos contenidos en un efluente de celulosa Kraft.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Optimizar la eficiencia de eliminación de materia orgánica y compuestos fenólicos de un efluente de celulosa Kraft tratada por un reactor MBBR, evaluando la formación de la biopelícula.

5.2 Objetivos específicos

1. Determinar la eficiencia de depuración de un sistema de tratamiento biológico aeróbico del tipo MBBR a distintas velocidades de carga orgánica.
2. Determinar el crecimiento de la biopelícula soportada.
3. Caracterizar y estudiar el comportamiento de la comunidad bacteriana.

6. METODOLOGIA

6.1 Efluente

El efluente provendrá de la industria de celulosa kraft, el cual es retirado de la industria a la salida de las torres de enfriamiento, posterior a un tratamiento primario de clarificación.

6.2 Operación del reactor

Para una correcta optimización del desempeño del sistema de tratamiento se determinaron distintas velocidades de carga orgánica, las cuales están determinadas por el caudal (Q) que se le agregue al reactor (influyente), la concentración de materia orgánica medida en gramos de DQO por litro y además por el volumen útil, expresada según la ecuación:

$$VCO = \frac{Q \text{ (L/s)} \times \text{Concentración de materia orgánica (g DQO/L)}}{\text{Volumen útil (L)}}$$

Además de acuerdo a las variaciones de la VCO, se determinaron los distintos tiempos de retención hidráulica, que varían de manera inversa a la VCO, siendo determinada a partir del volumen útil que tiene el reactor y el caudal (Q), expresada según la ecuación:

$$TRH = \frac{\text{Volumen útil (L)}}{Q \text{ (L/s)}}$$

6.3 Biodegradación del efluente

Se utilizó para el tratamiento biológico del efluente de celulosa un biorreactor de lecho móvil (MBBR) con biocarriers de $23 \text{ cm}^2 / \text{cm}^3$ de superficie y de material de

polietileno. El sistema de tratamiento fue alimentado por una bomba Masterflex modelo 7014 – 20, conectada al sistema por mangueras de 12 mm y 7 mm de diámetro. Se trabajó con un reactor de material acrílico de 0,915 litros de volumen útil, con un diámetro total de 10,5 cm, diámetro interno de 9,5 cm, de 20cm de altura, con una distancia entre la base y la salida del efluente tratado de 13,5 cm. La oxigenación del sistema fue provista por una bomba para aireación Otto Air Pump modelo SA – 8000 y el reactor operó a temperatura ambiente (18 - 20°C).

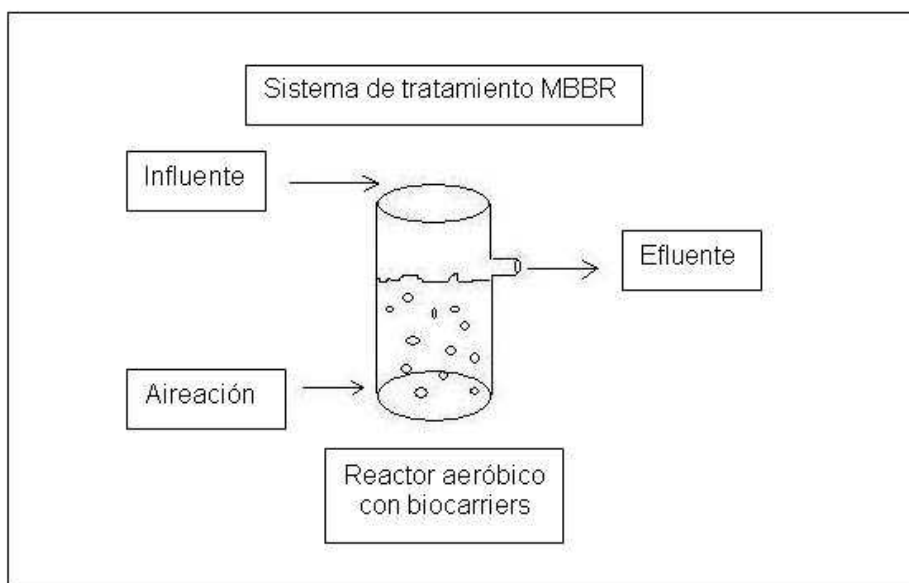


Figura 1. Esquema simplificado del sistema de tratamiento secundario aeróbico MBBR.

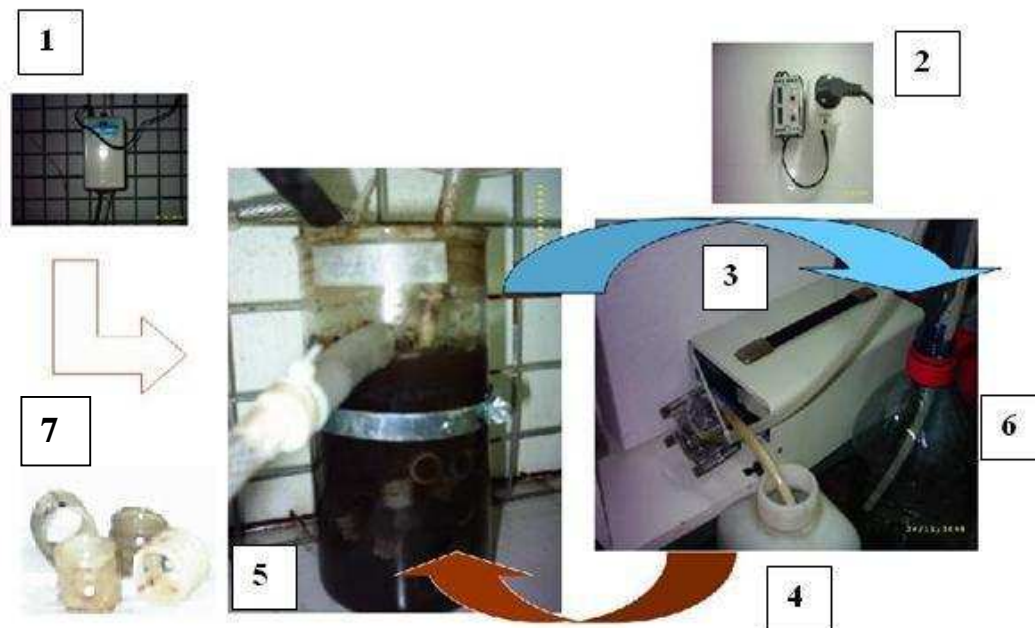


Figura 2. Esquema del sistema de tratamiento secundario aeróbico tipo MBBR, 1. aireador, 2. temporizador, 3. bomba, 4. influente, 5. reactor aeróbico MBBR, 6. efluente, 7. biocarriers.

Tabla 1. Datos técnicos de la planta MBBR a escala laboratorio.

BIOREACTOR	MBBR
Tipo	Aeróbico
Material	Acrílico
Diámetro total (cm)	10,5
Diámetro interno (cm)	9,5
Altura total (cm)	20
Altura hasta salida efluente tratado (cm)	13,5
Volumen total (L)	0,970
Volumen útil (L)	0,915

Tabla 2. Datos técnicos del soporte inerte.

BIOCARRIER	POLIETILENO
Número	150
Área (cm ² /cm ³)	22,5
Llenado volumétrico (%)	25
Volumen desplazado (%)	5

6.4 Caracterización microbiológica de la biomasa

Se analizarán muestras de lodos del biorreactor. Para el recuento viable y total bacteriano se utilizó la técnica de recuento en placa y microscopio de Epifluorescencia. Para determinar el estado del lodo además se realizarán análisis de microscopía electrónica de barrido.

6.4.1 Caldo y agar nutritivo: Se utilizó como medio nutritivo sólido Agar R2A (DIFCO Laboratories, Detroit, EE.UU.) y caldo R2A (DIFCO Laboratories, Detroit, EE.UU.).

6.4.2 Medio mínimo mineral: Se usó un medio salino mineral libre de cloruros (MSM) con la siguiente composición (gL⁻¹): (NH₄)SO₄ 0,5; MgSO₄ 7H₂O 0,1; Na₂PO₄ 2H₂O 0,715; KH₂PO₄ 0,365. Luego se esteriliza por autoclave, y se suplementa al 0,5% (vol/vol) con una solución de elementos traza con la siguiente composición (mgL⁻¹): Ca(NO₃) 4H₂O 880, FeSO₄ 7H₂O 200; ZnSO₄ 7H₂O 10; H₃BO₃ 10; CoSO₄ 7H₂O 10; CuSO₄ 5H₂O 10; MnSO₄ H₂O 4; Ni(NO₃)₂ 6H₂O 4; NaMoO₄ 2H₂O 3; NaWO₄ 2H₂O 2, y H₂SO₄ 0.05 N (Merck) ; esterilizada en autoclave (Aranda *et al.*, 2003).

6.4.3 Recuento viable de bacterias: Se efectuó mediante la técnica de microgota (Herbert, 1990). Para esto se tomaron alícuotas de 100 µl, tanto del sobrenadante del reactor, como del sobrenadante del biosoporte sonicado por 5 minutos, y se

prepararon diluciones apropiadas. De cada dilución se sembraron 20 µl en triplicado sobre la superficie de placas con agar R2A. Se incubaron a 30 °C por 48 horas.

6.4.4 Microscopía de Epifluorescencia: Para recuento bacteriano, se fijan las muestras obtenidas del sobrenadante del reactor aeróbico y de los biosoportos o biocarriers que se encuentran al interior de éste, con formalina al 3%, se dispone un volumen de 0,5ml, a continuación se filtra por una membrana de policarbonato negra de 0,2 µm de poro, agregándose 2ml de agua estéril, luego 100µL de muestra y a continuación se agregan 0,1ml de naranja de acridina a concentración de 125mg/L, tiñéndose por 4 minutos. Posteriormente se agregan 2ml mas de agua estéril y se procede a filtrar, seguidamente se retira la membrana y se deposita sobre un portaobjeto con vaselina, se agrega vaselina encima, el cubreobjeto y se observa la preparación en microscópio con lámpara de mercurio de 50W.

Para el caso de la determinación de la actividad metabólica bacteriana con marca de sales de tetrazolium (INT), se procede a incubar las muestras, del sobrenadante del reactor aeróbico y del biocarrier sonicado, con INT a concentración final de 200mg/L durante 15 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se fija con formalina al 3%, para posteriormente realizar la tinción con naranja de acridina y la filtración, de la misma manera que se detallo previamente.

6.4.5 Microscopía Electrónica de barrido: Las muestras, del sobrenadante del reactor aeróbico y del biocarrier sonicado, son fijadas con glutraldehido 2.5% para detener la actividad metabólica celular. Para la preparación de la muestra, esta se fijada con tetraóxido de osmio al 1%. Luego las muestras se deshidratan con etanol y se infiltran en una mezcla de epon-araldita y etanol. Las preparaciones se obtienen mediante corte con micrótomo.

6.5 Métodos analíticos

Todos los parámetros se determinaron de acuerdo a los Métodos Estándar (APHA, 1989). Se determinaron los parámetros de operación como el TRH, VCO, pH, OD y el caudal de trabajo. Del bioreactor se miden los volúmenes totales (vacío y lleno), su volumen útil, los sólidos suspendidos volátiles y totales (SSV y SST) para medir la biomasa orgánica (cantidad de biopelícula) obtenidos del biorreactor, mediante incineración de éste a 550° C por una hora. Fueron medidos y registrados los parámetros de eficiencia como la DBO₅ y la DQO, siendo además medidos por espectrofotometría (muestras filtradas), los compuestos fenólicos totales_{215nm}, el ácido Lignosulfónico_{346nm}, Lignina y derivados_{280nm}, compuestos aromáticos_{254nm} y color_{440nm}, de acuerdo al procedimiento descrito por ÇeÇen el año 2003.

7. RESULTADOS

Durante los 110 días de operación del reactor aeróbico se registraron y analizaron tanto los parámetros de operación, como los de eficiencia del reactor, presentándose los siguientes resultados.

Tabla 3. Caracterización del efluente proveniente de una industria de celulosa Kraft, previo y posterior al tratamiento con MBBR operando a TRH de 2d y 0,9d.

Parámetro	Efluente sin tratar	Efluente tratado	Efluente tratado
	Promedio	Promedio (1)	Promedio (2)
pH	7,0	8,1	7,9
Color (440 nm)	0,290	0,292	0,294
Demanda Química de Oxígeno (DQO) (mg/L)	661	391,8	382
Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) (mg/L)	267	11,1	12,6
%Eficiencia de remoción DQO	-	42,9	41,2
%Eficiencia de remoción DBO ₅	-	95,8	95,6
Ácido Lignosulfónico (346nm)	1,30	1,09	0,34
Lignina y derivados (280nm)	0,75	0,84	0,65
Compuestos aromáticos (254nm)	0,51	0,28	0,10
Comp. fenólicos totales (215nm)	227,4	256,1	109,9

(1) Primera fase con TRH 2d

(2) Segunda fase con TRH 0,9d

Tabla 4. Caracterización de SST y SSV en el reactor MBBR durante las dos fases de operación, con TRH 2d y 1d respectivamente.

	TRH 2 días	TRH 0,9 días
Sólidos suspendidos totales o SST (mg/L)	5,4	5,5
Sólidos suspendidos volátiles o SSV (mg/L)	0,032	0,047

7.1 Parámetros operacionales

Durante el periodo de operación del bioreactor de lecho móvil se procedió a controlar el tiempo de retención hidráulico (TRH), el cual es un factor decisivo y puede determinar la eficiencia del sistema secundario, ya que corresponde al periodo de tiempo que se encuentra el influente al interior del reactor aeróbico con biopelícula adherida a los biocarriers. Las dos fases de operación del reactor fueron definidas por el TRH el cual se mantuvo controlado en aproximadamente 2 días hasta los 75 días para, luego de ser ajustado, a continuación comenzar la segunda fase con TRH de 0,9 días a los 78 días de operación.

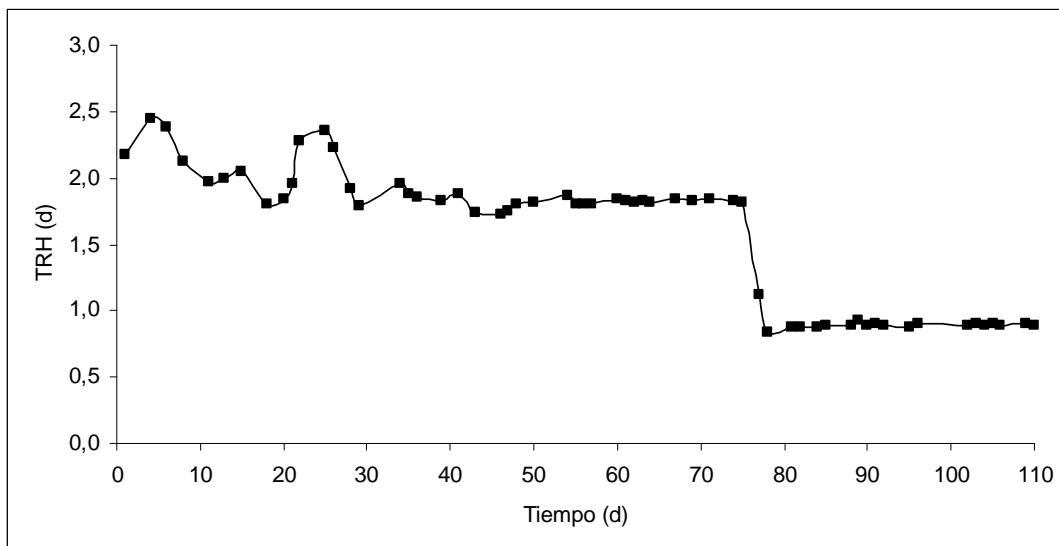


Figura 3. Comportamiento del tiempo de retención hidráulico hasta los 110 días de operación del MBBR.

Un segundo parámetro operacional determinado corresponde a la velocidad de carga orgánica o VCO, que es inversamente proporcional al TRH, y que determina la concentración de materia orgánica en el determinado caudal (Q) del RIL o en este caso influente ingresado al reactor. Durante la primera fase de operación con TRH de 2 d. por 75 días, la VCO fluctuó entre 12,1 a 15,2 gDQO/L x d, presentando un promedio de 14,5 gDQO/L*d, para posteriormente en la segunda fase de operación

que duró 32 días – desde el día 78 hasta el 110 – fluctuar entre 29,9 a 30,6 gDQO/L x d, con un promedio de 30,2 gDQO/L*d.

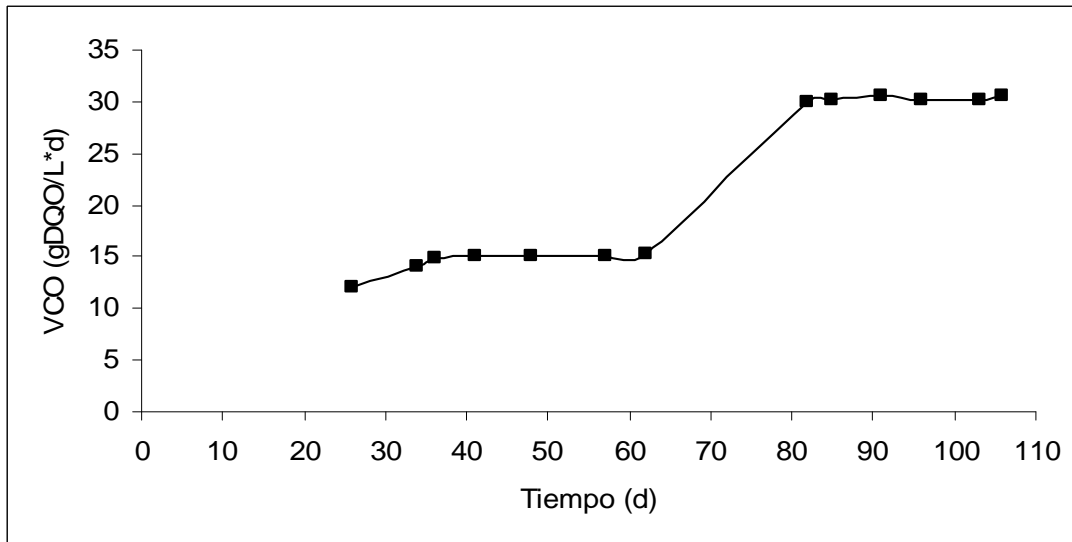


Figura 4. Comportamiento de la velocidad de carga orgánica a través del tiempo de operación del reactor aeróbico.

También se comparó el contraste entre los parámetros TRH y VCO, para visualizar de manera gráfica la relación proporcionalmente inversa que existe entre ambos factores, como es posible apreciar en la figura, observándose claramente que al disminuir el tiempo de retención hidráulico el día 76 de operación del reactor aeróbico de lecho móvil, se incrementa la velocidad de carga orgánica o dicho de otra manera la concentración de materia orgánica al interior del reactor.

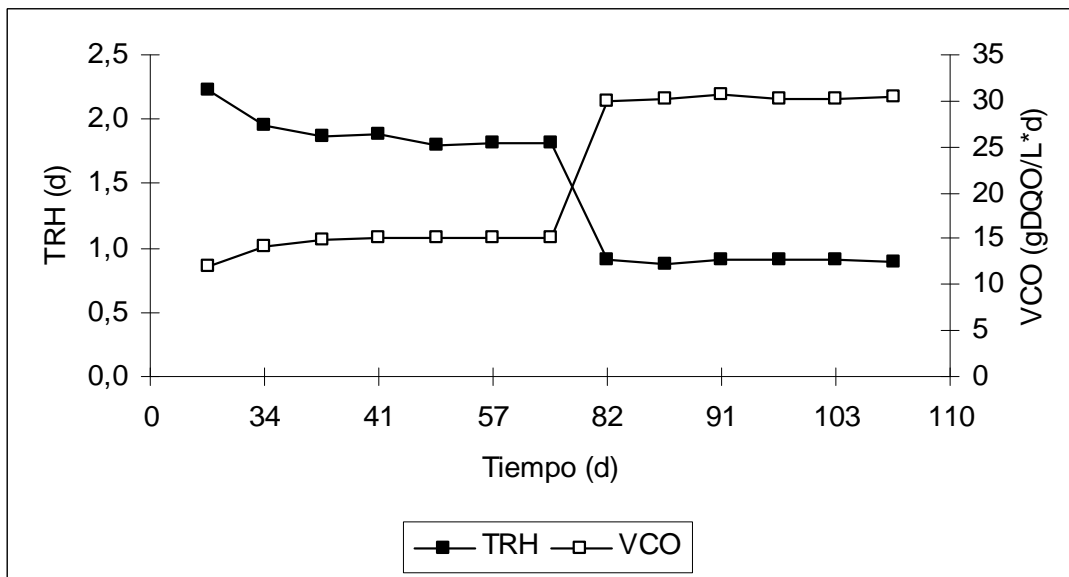


Figura 5. Contraste entre el comportamiento del tiempo de retención hidráulico y el comportamiento de la velocidad de carga orgánica, a través del tiempo de operación del MBBR

Para las dos fases de operación del reactor MBBR, los valores de pH se mantuvieron en el rango considerado óptimo para el crecimiento de los microorganismos aerobios, es decir un rango de pH 5 a 9, para el consiguiente desarrollo de la película bacteriana, por lo cual se ajustó el pH del influente en $7 \pm 0,5$, para mantener una condición controlada, el cual era levemente básico, fluctuando entre un pH 8,3 a 9,5 y se registró el pH del RIL de salida o efluente, el cual varió entre 7,3 y 8,2, con un promedio de 7,9.

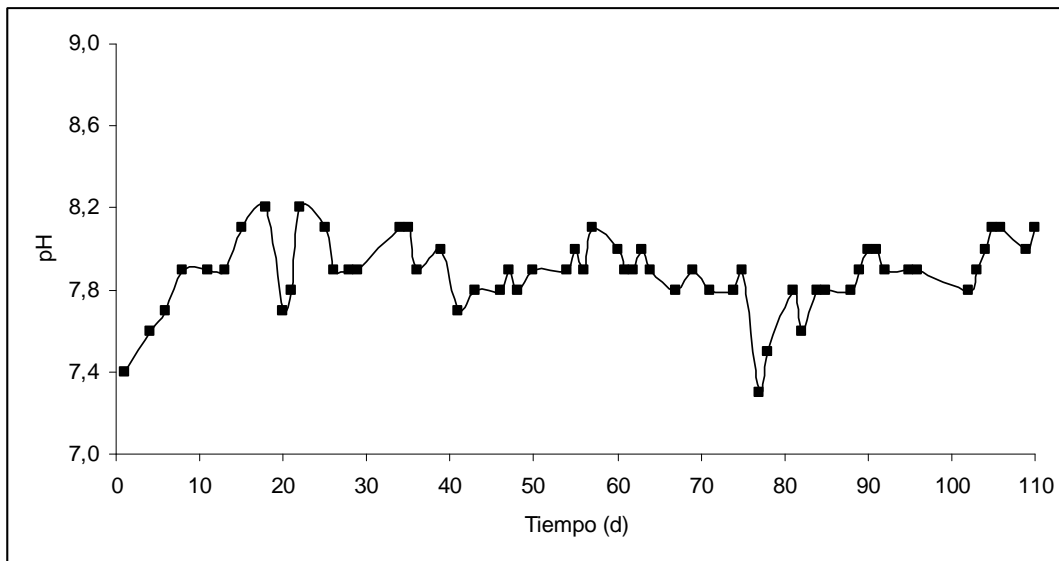


Figura 6. Comportamiento de pH a través del tiempo de operación del reactor aeróbico.

Se controló también el aporte y difusión de oxígeno disuelto (OD) para el tratamiento secundario aeróbico, para mantener un medio adecuado para el crecimiento, desarrollo y estabilización de la flora bacteriana responsable de la degradación de la materia orgánica y por tanto de la eficiencia que pueda tener el sistema.

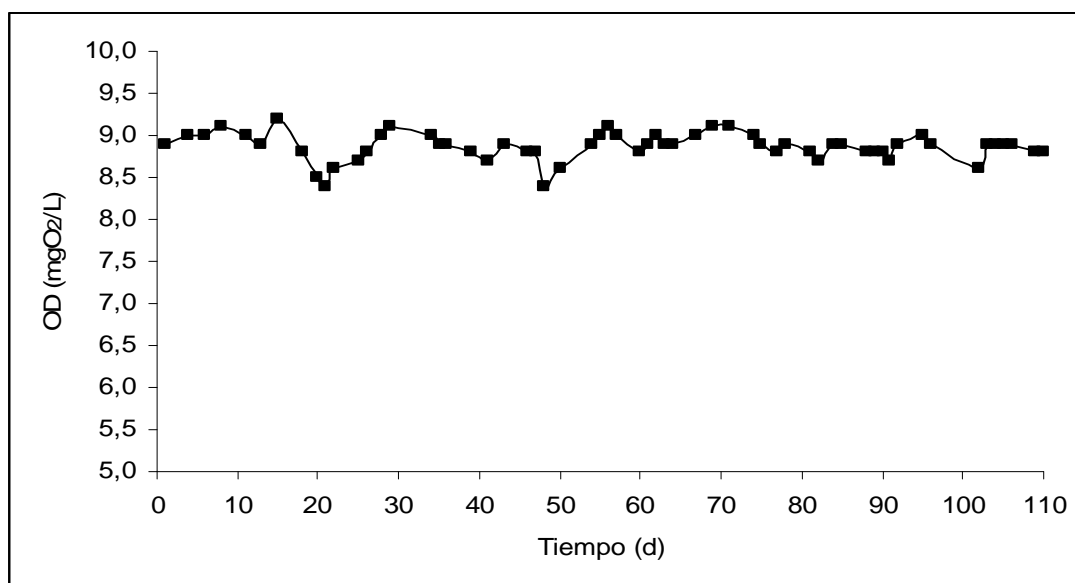


Figura 7. Comportamiento del oxígeno disuelto a través del tiempo de operación del reactor aeróbico.

El oxígeno disuelto se mantuvo relativamente estable durante todo el tiempo de operación del reactor aeróbico, presentando un rango entre 8,1 a 9,2 mgO₂/L, con un promedio de 8,9 mgO₂/L.

7.2 Parámetros de eficiencia

La DBO₅ es originada por la presencia de compuestos fácilmente biodegradables, tales como carbohidratos y los ácidos orgánicos (Vidal, 1999, Diez *et al.*, 2005) y permite determinar la cantidad de oxígeno consumido por los microorganismos, cuando la muestra es incubada en la oscuridad a 20 ° C, durante 5 días. La DQO, por su parte, evalúa el equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede oxidarse (Chamorro, 2005). Por tanto es importante determinar en principio las concentraciones de DQO y DBO₅, antes y posterior al tratamiento secundario aeróbico MBBR, es decir tanto del influente como del efluente, como puede apreciarse en la figura 8.

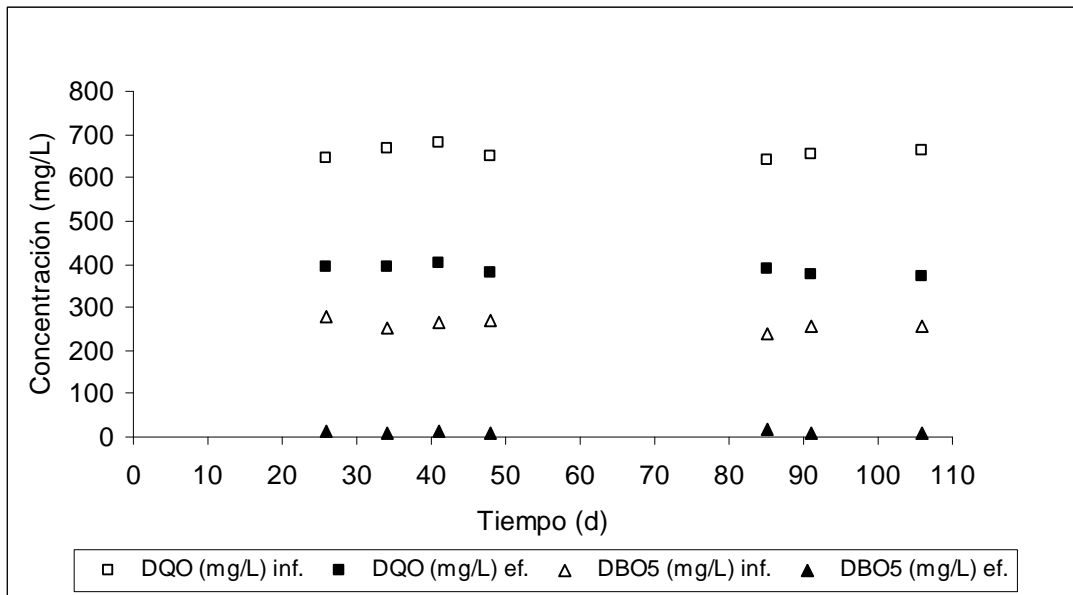


Figura 8. Contraste entre las concentraciones de demanda química de oxígeno del influente v/s efluente tratado y la demanda biológica de oxígeno del influente v/s efluente tratado, a través del tiempo de operación del MBBR.

Para la primera fase con TRH de 2 días la DQO del influente fluctuó entre 645 y 681 mg/L, del efluente entre 378 y 402 mg/L. Por su parte, la DBO₅ del influente presentó un rango entre 254 y 278 mg/L, mientras que, el efluente tratado varió entre 9,7 a 12,5 mg/L. Para la segunda fase con TRH de 0,9 días la DQO del influente se mantuvo entre 641 y 661 mg/L, mientras que el efluente entre 372 y 389. La DBO₅ del influente estuvo entre 240 y 258 mg/L, mientras que entre 9,2 y 15,6 mg/L se encontraron los valores para el efluente.

Posteriormente es fundamental determinar el porcentaje de eficiencia de remoción de ambos parámetros, como medida de la capacidad depurativa que pueda tener un sistema de tratamiento dado, lo cual se aprecia en la figura 9, en que, con TRH de 2 días, el mayor porcentaje de eficiencia de la DQO fue 43,4 % y para TRH 0,9 días 44,8 %. Por su parte, para la primera fase, la DBO₅ presentó un máximo de eficiencia de 96,3 % y para la segunda fase, el máximo correspondió a 97,1 %.

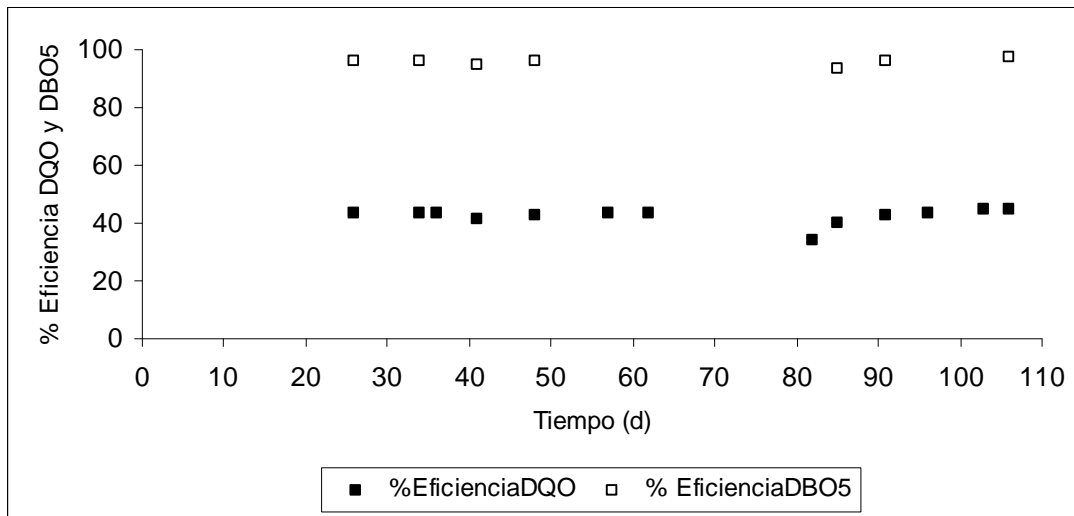


Figura 9. Comportamiento porcentual de las eficiencias de remoción de demanda química de oxígeno y demanda biológica de oxígeno a través del tiempo de operación del MBBR.

Se comparó adicionalmente el porcentaje de eficiencia de remoción de DQO y DBO₅ en relación al tiempo de retención hidráulico, para observar de manera gráfica en que fase de operación se obtuvieron las eficiencias de remoción mas altas para ambos parámetros de eficiencia del sistema de tratamiento.

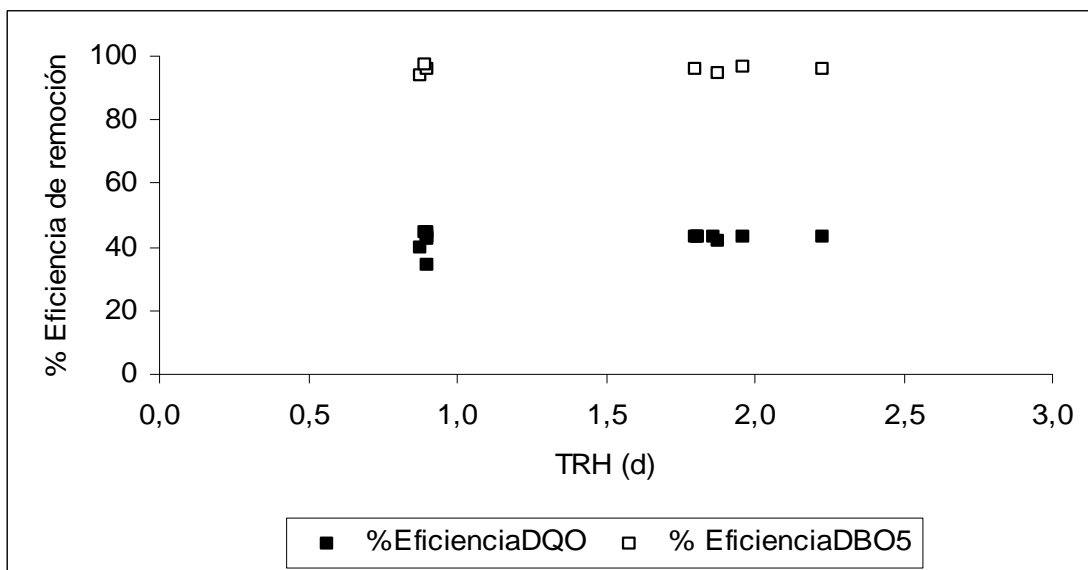


Figura 10. Comportamiento porcentual de las eficiencias de remoción de demanda química de oxígeno y demanda biológica de oxígeno a través de los diferentes tiempos de retención hidráulico.

Es importante también hacer una relación entre el pH y estos dos parámetros de eficiencia (% eficiencia DQO y DBO₅), como se puede apreciar en las Figuras 11 y 12, donde una merma en la eficiencia de ambos parámetros, va de la mano con disminuciones en el pH del efluente tratado, por lo cual el pH se transforma en una herramienta simple para determinar el estado relativo del sistema de depuración, debido a que presentó una relación directa con periodos de desestabilización y mejora del sistema.

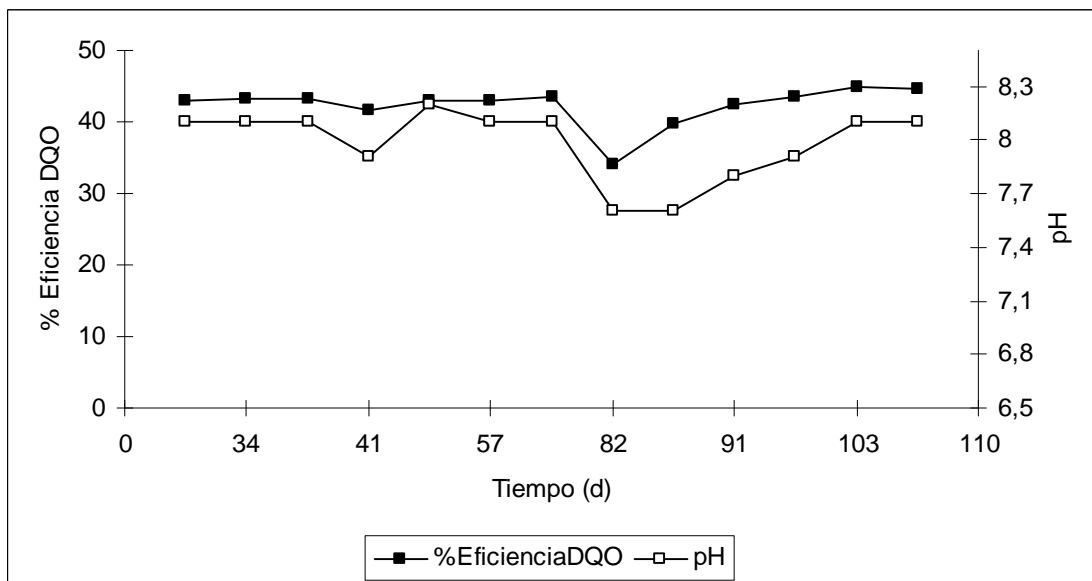


Figura 11. Contraste entre porcentaje de eficiencia de remoción de la Demanda Química de Oxígeno, en relación al pH del efluente tratado, durante el periodo de operación del MBBR.

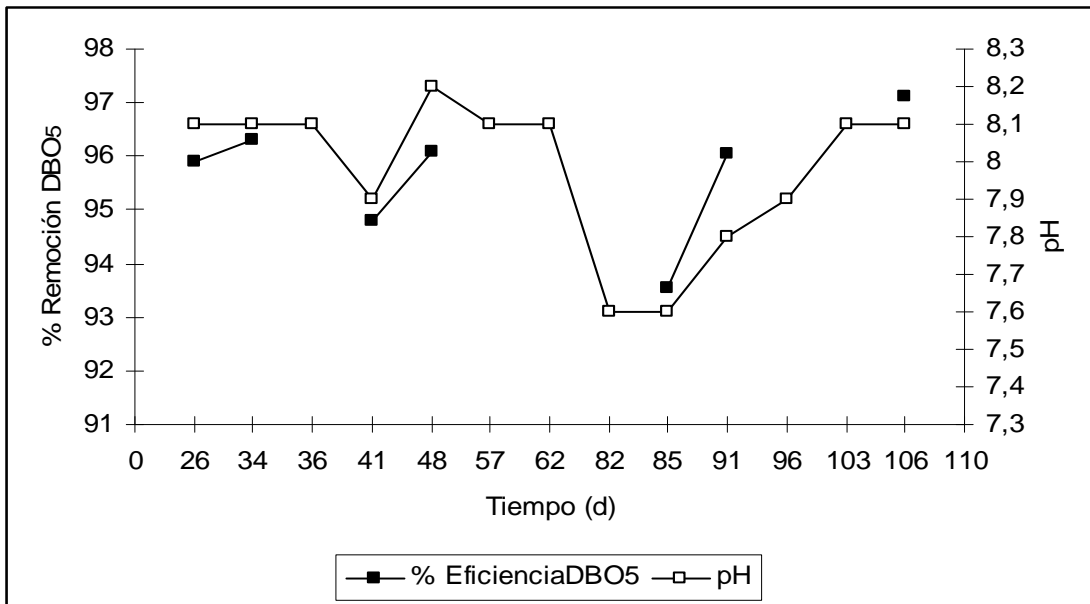


Figura 12. Contraste entre porcentaje de eficiencia de remoción de la Demanda Biológica de Oxígeno, en relación al pH del efluente tratado, durante el periodo de operación del MBBR.

Por otro lado se determinó la capacidad del sistema de remover el color, el cual se debe a la presencia de ligninas o taninos polimerizados, que aunque no son tóxicos son difícilmente biodegradables (Diez *et al.*, 2005). Los resultados demostraron que con TRH de 0,9 días, el sistema de tratamiento removió color.

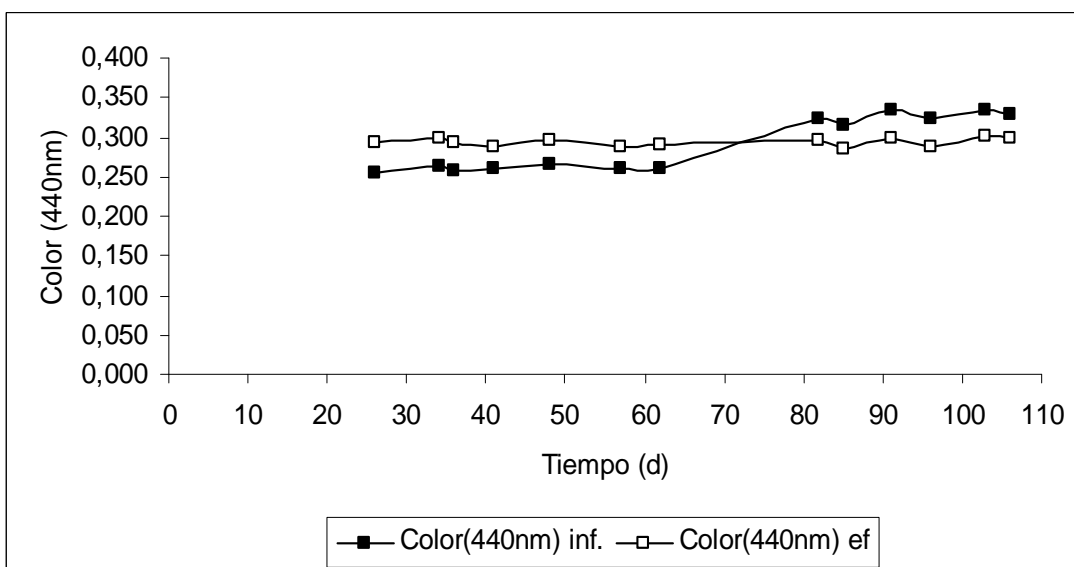


Figura 13. Variación del color para el influente sin tratar y el efluente tratado, durante el tiempo de operación del reactor aeróbico MBBR.

También se midieron muestras en el espectrofotómetro con absorbancia de 326nm, determinándose el porcentaje de eficiencia de remoción del ácido Linosulfónico. Los resultados demuestran que en la segunda fase, con TRH 0,9 días, se presentaron los mayores porcentajes de remoción, excepto para el análisis realizado inmediatamente posterior al cambio de fase el cual solo alcanzó un 21,9%, para llegar a un máximo de 64,7%.

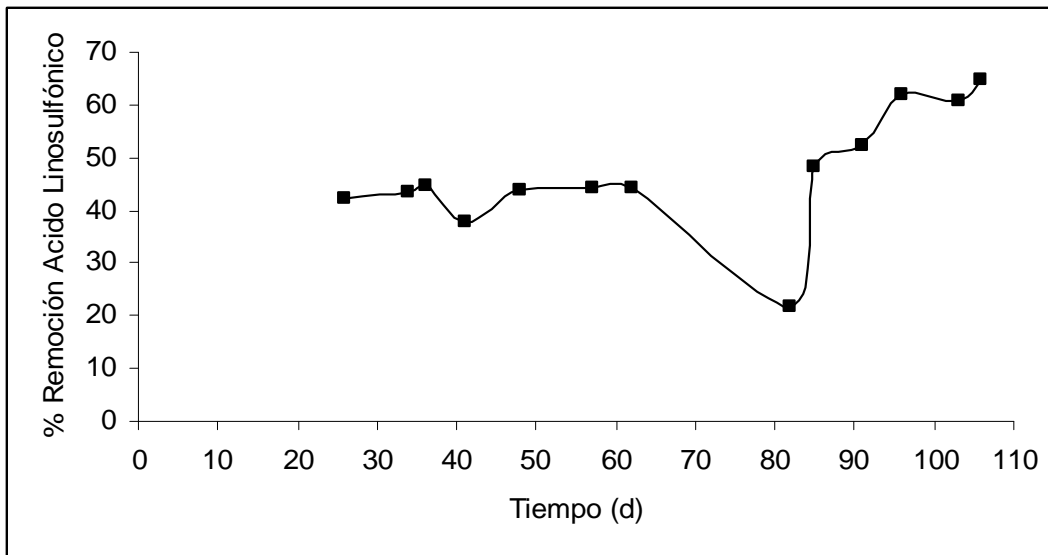


Figura 14. Porcentaje de eficiencia de remoción del ácido Lignosulfónico, a través del tiempo de operación del reactor MBBR.

Así también se midió a absorbancia de 280nm las variaciones de la lignina y derivados de ésta, y el contraste entre el influente y el efluente tratado en el reactor aeróbico, existiendo una relación inversa entre las dos fases de operación, donde en esta última, se registró una remoción de la lignina y de derivados de lignina (Figura 15).

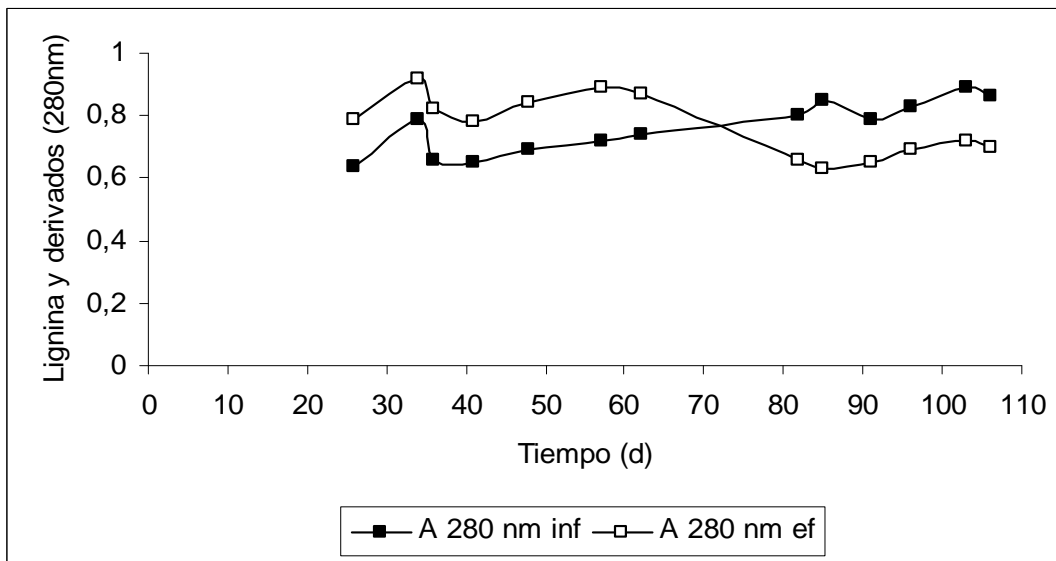


Figura 15. Comportamiento de la lignina y derivados de lignina a través del tiempo de operación del MBBR.

Adicionalmente se registraron los valores con absorbancia a 254nm, para luego determinar el porcentaje de eficiencia de remoción de los compuestos aromáticos, siendo en la segunda fase de operación (TRH 0,9 días) donde se registraron las mayores eficiencias de remoción, alcanzando un máximo de 8,4%.

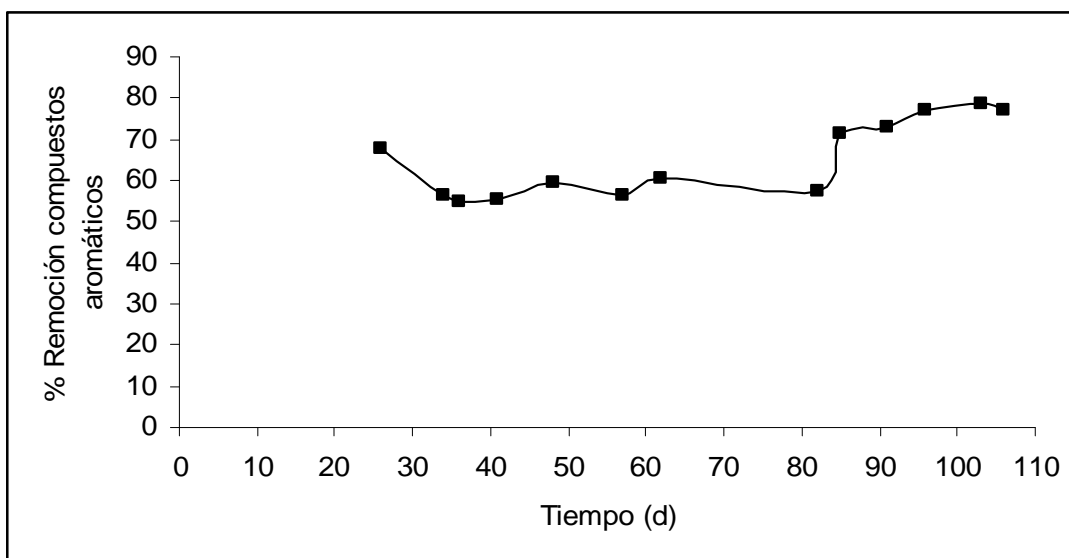


Figura 16. Porcentaje de eficiencia de remoción de compuestos aromáticos, a través del tiempo de operación del reactor MBBR.

Por último se midió a la menor longitud de onda, la absorbancia a 215nm determinando las variaciones de los compuestos fenólicos totales, y el contraste entre el influente y el efluente tratado, para posteriormente determinar los porcentajes de eficiencia de remoción de este parámetro, alcanzando un máximo para la primera fase (TRH 2 días) de 18,5%. Para la segunda fase de operación (TRH 0,9 días) se obtuvo un máximo de 35,4% (figura 17).

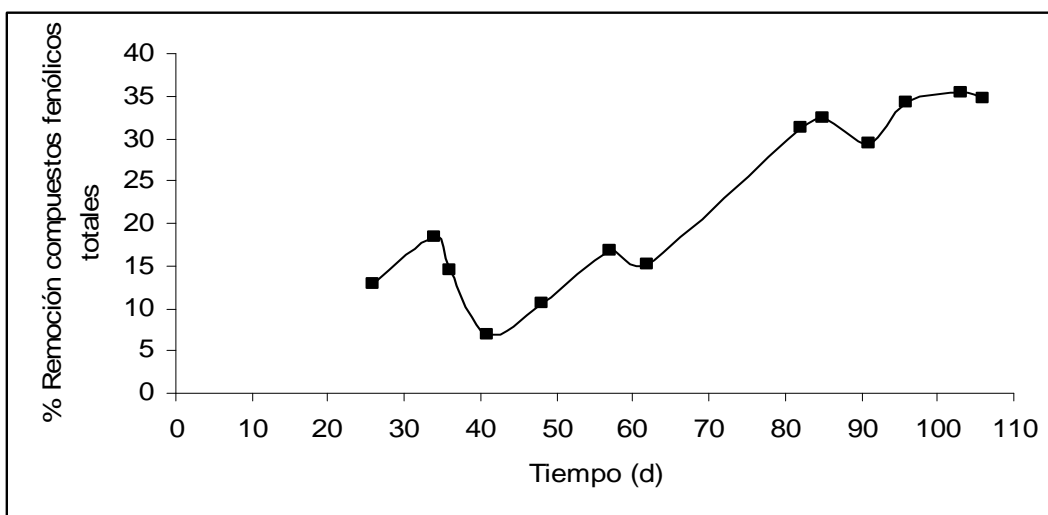


Figura 17. Comportamiento de los compuestos fenólicos totales con absorbancia de 215nm, durante el periodo de operación del MBBR.

7.3 Caracterización microbiológica de la biomasa

Los resultados microbiológicos obtenidos en esta investigación solo lograron registrar datos cualitativos de la biomasa al interior del reactor aeróbico tipo MBBR, tanto de la biomasa libre como de la adherida a los soportes inertes, excepto para el recuento viable de bacterias. En cada fase de operación, se logró hacer una correlación positiva entre el estado de la biopelícula en relación a la eficiencia de depuración del sistema, en otras palabras, para TRH de 2 días y TRH de 0,9d., se

observó que en los periodos en que el sistema se mantuvo estable, la biopelícula, adherida a los biosoportos, adquirió un color beige dorado, el cual es sugerido como indicador de un crecimiento saludable de la biomasa (Banerjee, 1997, Behling *et al.*, 2005), para influentes con aporte de fenoles.

7.3.1 Recuento viable bacteriano: Para el recuento viable de bacterias, luego de incubar por 72 horas, se obtuvo que, para la primera fase de operación del reactor aeróbico MBBR con tiempo de retención hidráulico de 2 días, el recuento del sobrenadante del reactor resulto en 3×10^5 UFC/mL y para el biosoporte sonicado se obtuvo un recuento de $2,5 \times 10^5$ UFC/mL. Por otro lado, el recuento viable, para la segunda fase de operación con tiempo de retención hidráulico de 0,9d., se obtuvo $2,1 \times 10^5$ UFC/mL para el biosoporte sonicado y $1,65 \times 10^6$ UFC/mL para el sobrenadante del reactor.

7.3.2 Microscopía de epifluorescencia: El recuento bacteriano y la actividad metabólica bacteriana con microscopía de epifluorescencia, no arrojaron resultados positivos debido a una insuficiente diseminación de la biomasa, necesario para lograr un correcto análisis. En un intento por lograr una correcta diseminación de los microorganismos, se agregaron a las muestras ya preparadas Lubrol/Pirofosfato 0,1%, tomándose 2 mL de muestra y llevándose a un volumen final de 5mL, sin resultados favorables.

7.3.3 Microscopía electrónica de barrido: El análisis microscópico de la biopelícula estabilizada, para la primera fase de operación con TRH de 2 días, mostró que las morfologías bacterianas variaron entre coco, cocobacilo, bacilo fusiforme y filamentosas, sugiriendo un cierto grado de diversidad microbiana.

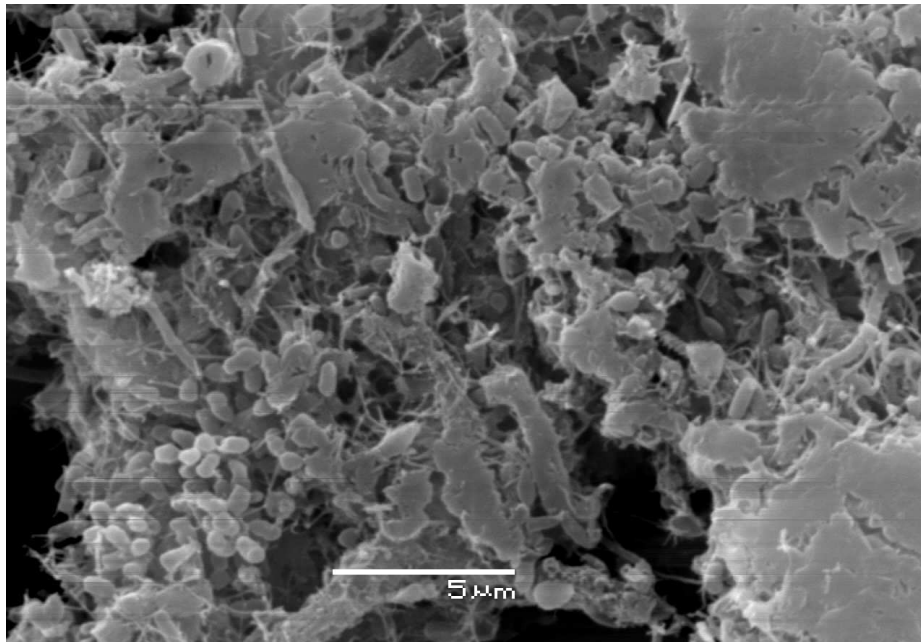


Figura 18. Fotografía de microorganismos obtenidos del biosoporte sonicado, obtenidos del MBBR.

En la figura 18, que corresponde a bacterias provenientes del biosoporte o biocarrier, se observan cocobacilos y bacilo fusiformes embebidos en una matriz de polisacáridos, que las bacterias producen para adherirse al biosoporte.

Por otro lado, en la Figura 19 se muestra la imagen proveniente del análisis de las bacterias obtenidas del sobrenadante del reactor, permite apreciar cocos, cocobacilos y bacterias filamentosas (figura 19).

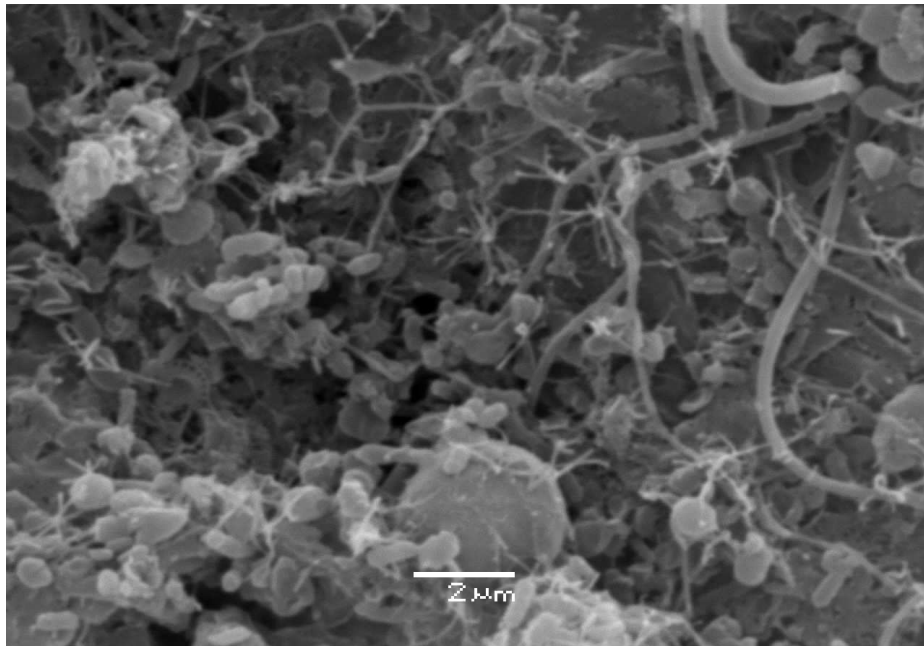


Figura 19. Fotografía de microorganismos obtenidos del sobrenadante del reactor MBBR.

8. DISCUSION

El oxígeno disuelto se mantuvo por sobre los 8mg/L, gracias a una constante limpieza de los difusores al interior del MBBR, lo que permitió mantener al reactor aeróbico con una buena oxigenación, debido a que Wang *et al.* el 2006 concluyeron que, en el sistema de tratamiento MBBR, la concentración de OD para remoción de materia orgánica debe ser superior a 2mg/L, porque de otro modo el OD se puede transformar en el factor limitante.

Se controló la relación de $DBO_5 : N : P$ en la puesta en marcha, siendo mantenida durante toda la operación del reactor MBBR con una relación de 100:3:1, siendo óptimo dentro del rango de 100:10:5 y 100:2:1, según diversos trabajos experimentales previos en distintos sistemas aeróbicos de tratamiento de efluentes, como en el caso de Videla & Diez (1996) con Laguna Aireada Adicionalmente el influente era alcalino, por lo que fue necesario ajustar el pH a neutro para tener una condición experimental controlada.

Con TRH de 2d se obtuvo un promedio de eficiencia de remoción de la DQO de 42,7%, en contraste con el 41,2% con TRH de 0,9 días, pero el bajo rendimiento de la segunda fase es producto de la limitada cantidad de datos obtenidos, debido a que al realizar el cambio de fase, la eficiencia de remoción sufrió una disminución marcada por la desestabilización del sistema, pero a través del tiempo de operación mostró en un corto periodo de tiempo una mejoría notable. Más aún, en la primera fase, la eficiencia también sufrió una disminución en la cuarta semana de operación, producto de un desperfecto en la bomba, perjudicando la alimentación del reactor, que al ser solucionado permitió una rápida recuperación del sistema. Lo mismo ocurrió con la eficiencia de remoción de la DBO_5 .

La segunda fase (TRH 0,9 días) disminuyó los promedios del influente obtenidos en la primera fase (TRH 2d), excepto para color y lignina (y derivados), los cuales fueron aumentados, si bien en la tabla 3 son superiores en relación al efluente de la primera y segunda fase (sólo color), en esta última fase existe una remoción del

color y de la cantidad de lignina, es decir, disminuyeron a pesar del valor promedio total de ambas fases. Dado que las ligninas ayudan a conferirle color al RIL, la remoción de lignina y derivados de lignina permite una disminución, aunque leve, de color presente en el efluente tratado en la segunda fase, con tiempo de retención hidráulico de 0,9 días.

Los biosoportres, al interior del reactor aeróbico, utilizados para soportar la biopelícula no serían los más adecuados, a pesar de la cantidad de éstos, el volumen que desplazan es insuficiente, cerca de un 60% menos en relación al empleado por Rusten *et al.* (1994) que, más aun, sugieren que a un mayor llenado volumétrico de biocarriers (65 a 70%) – el obtenido en esta investigación corresponde a un 25% - se obtiene una mejor eficiencia del tratamiento en relación al utilizado en uno de los tres reactores analizados con un llenado volumétrico de 47%, permitiendo operar el reactor a TRH inferior que los utilizados para el tratamiento convencional de Lodo Activado, con eficiencias de remoción máximas de DBO_7 filtrada de un 96% y de DQO filtrada de 75%. Sin embargo, si permitieron una mayor superficie disponible para el crecimiento bacteriano.

Al analizar la biomasa presente en el reactor aeróbico de lecho móvil, se hace evidente que las morfologías más comunes de encontrar corresponden a cocobacilos, pero también se encontraron bacterias filamentosas tanto en el sobrenadante del reactor como en las muestras provenientes de los biosoportres sonicados. Lo anterior concuerda con la investigación realizada el año 2005 por Hosseini y Borghei, que a partir de las pruebas microscópicas encontraron bacterias filamentosas en la biopelícula adherida a los biocarriers, al interior del reactor, y en el sobrenadante. Sin embargo, las cantidades obtenidas difieren con esta investigación, dado que el mayor número de bacterias filamentosas se observó para las muestras obtenidas del biocarrier, en cambio en ésta investigación, el mayor número de bacterias filamentosas corresponde a las muestras obtenidas del sobrenadante del reactor aeróbico.

Se sugiere que ésta discordancia puede radicar en los biocarriers, los cuales no poseen el llenado volumétrico recomendado, ni desplazan un volumen suficiente. En consecuencia, los porcentajes de remoción de la DQO no son tan satisfactorios como se esperaban de acuerdo a los obtenidos por Rusten *et al.* el año 1994, pero quizás un problema aún mayor se puede suscitar, presentándose plausible la aparición del fenómeno de esponjamiento filamentoso o bulking, al trabajar con potenciales tiempos de retención hidráulicos mas bajos.

9. CONCLUSION

Se determinó la eficiencia de depuración del sistema aeróbico del tipo MBBR en dos fases de operación, la primera con TRH de 2d y la segunda con TRH de 1d, en ambas existe una eficiencia similar, detectándose una mejoría del sistema en la segunda fase de operación luego de la estabilización del sistema, que permite concluir que a mayores velocidades de carga orgánica y menores tiempos de retención hidráulica, con una biopelícula madura y estabilizada, el sistema es más eficiente, obteniéndose eficiencias de remoción de DBO_5 superiores al 97% y eficiencias de DQO por sobre el 45%.

Se logró caracterizar y estudiar el comportamiento de la biomasa, presente al interior del reactor aeróbico, tanto para la biomasa libre como la adherida a los biocarriers formando biopelículas, así como también sus números relativos, expresados en UFC/mL, para cada fase de operación del MBBR.

Durante todo el periodo de operación del reactor aeróbico tipo MBBR, se produjo eliminación de materia orgánica y compuestos fenólicos, la cual fue incrementada al optimizar el sistema, donde la estabilidad de la biomasa libre y la biopelícula adherida a los biosoportres fue fundamental.

10. REFERENCIAS

APHA - AWWA - WPCF, 1989. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 17th ed. Washington, DC.

Aranda C., Godoy F., Becerra J., Barra R. y M. Martínez. 2003. Aerobic secondary utilization of a nongrowth and inhibitory substrate 2,4,6-trichlorophenol by *Sphingopyxis chilensis* S37 and *Sphingopyxis*-like strain S32. *Biodegradation*. 14: 265-264.

Aspegren, H., Nyberg, U., Andersson, B., Gotthardsson, S. & Jansen, J. 1998. Post denitrification in a moving bed biofilm reactor process. *Water Sci. Technol.* 38:31–38.

Banerjee, G. 1997. Treatment of phenolic wastewater in RBC reactor. *Wat. Res.* 31: 705-714.

Behling, E., Weffer, G., Marín, M., Colina, G., Rincón, N., Díaz, A. & Fernández, N. 2005. Tratamiento de un efluente sintético de glucosa y fenol en un reactor biológico rotativo de contacto. *Bol. Centro Invest. Biol.* 39: 277-292.

Chamorro, S., Xavier, C., & Vidal G. 2005. Behavior of Aromatic Compounds Contained in Kraft Mill Effluents Treated by an Aerated Lagoon. *Biotechnol. Prog.* 21:1567-1571.

ÇeÇen, F. 2003. The use of UV-Vis measurements in the determination of biological treatability of pulp bleaching effluents. 7th International Water Association Symposium on Forest Industry Wastewaters, Seattle, USA.

Diez, M., Castillo, G., Aguilar, L., Vidal, G. & Mora, M. 2002. Operational factors and nutrient effects on activated sludge treatment of *Pinus radiata* kraft mill wastewater. *Bioresource Technol.* 83:131–138.

Díez, M., Villouta, F., Montoya, M., Vidal, G. & Bomhardt, C. 2005. Tratamiento combinado de lodos activados y lecho fijo sumergido para tratar efluentes de celulosa kraft blanqueada. *Afinidad*. 62:35-41.

Gilbridea, K., Frigonc, D., Cesnika, A., Gawata, J. & Fulthorpe, R. 2006. Effect of chemical and physical parameters on a pulp mill biotreatment bacterial community. *Water Res.* 40:775 – 787.

Herbert, R. 1990. Methods for enumerating microorganisms and determining biomass in natural environments. In: *Methods in Microbiology*. 22:2-35.

Hosseini, S. & Borghei, S. 2005. The treatment of phenolic wastewater using a moving bed bio-reactor. *Process Biochem.* 40:1027–1031.

Kostamo, A. & Kukkonen, J. 2003. Removal of resin acids and sterols from pulp mill effluents by activated sludge treatment. *Water Res.* 37:2813–2820.

Kovacs, T. & Voss, R. 1992. Biological and chemical characterization of newsprint / specialty mill effluents. *Water Res.* 26:771–80.

Ødegaard, H., Rusten, B. & Wessman, F. 2004. State of the art in Europe of the moving bed biofilm reactor (MBBR) process. Paper presented at WEFTEC'04 in New Orleans, 4 October.

Oliveira-Esquerre, K., Seborg, D., Bruns, R. & Mori, M. 2004. Application of steady-state and dynamic modeling for the prediction of the BOD of an aerated lagoon at a pulp and paper mill: Part I. Linear approaches. *Chem. Eng J.* 104:73–81.

Palabiyikoglu, N. & Krogerus, M. 1989. Wastewater treatment of pulp and paper mill effluents. In: *Proceedings of International Symposium on Waste management problems in agro-industries, Istanbul, Turkey* 245–253.

Rusten, B., Matteson E., Broch-Due A. & Westrum T. 1994. Treatment of pulp and paper industry wastewater in novel moving bed biofilm reactors. *Water Sci Tech.* 30:161–71.

Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenesb, Y. & Lygren, E. 2006. Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Eng.* 34: 322–331.

Saunamaki, R. 1989. Biological waste water treatment in the Finnish pulp and paper industry. *Pap. Timber.* 2:158–64.

Videla, S. & Diez, M. 1997. Experiences in wastewater treatment in Chilean forest industry. *Water Sci. Tech.* 35:221–226.

Wang, X., Xia, S., Chen, L., Zhao, J., Renault, N. & Chovelon, J. 2006. Nutrients removal from municipal wastewater by chemical precipitation in a moving bed biofilm reactor. *Process Biochem.* 41:824–828.

Welander, U., Henrysson, T. & Welander, T. 1998. Biological nitrogen removal from municipal landfill leachate in a pilot scale suspended carrier biofilm process. *Water Res.* 32:1564–1570.

Wilderer, P., Irvine, R. & Goronszy, M. 2001. Sequencing Batch Reactor Technology, Scientific and Technical Report, IWA Publishing.

*



SEMINARIO DE TITULO

Optimización de un biorreactor de lecho móvil (MBBR) para la biodegradación de un efluente proveniente de la industria de celulosa Kraft

AUTOR

Claudio Parra Riquelme

PROFESOR GUIA

Dra. Gladys Vidal

• 2006 •

**Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción**