



Centro de Ciencias Ambientales
EULA-CHILE

Evaluación de la Estabilidad de un sistema de Lodos Activados mediante Indicadores Fisicoquímicos y Biológicos

Habilitación presentada para optar al título de
Ingeniero Ambiental

GABRIELA ROCIO MORALES BENAVIDES

CONCEPCION (Chile), 2014



Centro de Ciencias Ambientales
EULA-CHILE

Evaluación de la Estabilidad de un sistema de Lodos Activados mediante Indicadores Físicoquímicos y Biológicos

Habilitación presentada para optar al título de
Ingeniero Ambiental

Alumna:

GABRIELA ROCIO MORALES BENAVIDES

Profesora Guía:

Dra. Gladys Vidal Sáez

CONCEPCION (Chile), 2014

Esta tesis ha sido realizada en laboratorios del Grupo de Ingeniería y Biotecnología en Ambiental de la Facultad de Ciencias Ambientales y del Centro de Ciencias Ambientales EULA- CHILE de la Universidad de Concepción.

Profesores Integrantes Comisión Evaluadora:

Dra. Gladys Vidal Sáez
Tutora Tesis
Centro EULA-CHILE
Universidad de Concepción

Dra. Carolina Baeza Freer
Evaluadora interna
Centro EULA-CHILE
Universidad de Concepción

Dra. Patricia González Sánchez
Evaluadora Interna
Centro EULA-CHILE
Universidad de Concepción

NOMENCLATURA

A/M	Razón Alimento Microorganismo	(gDBO ₅ /gSSV·d)
CE	Conductividad Eléctrica	(μS)
DBO₅	Demanda Biológica de Oxígeno	(mg/L)
DQO	Demanda Química de Oxígeno	(mg/L)
IVL	Índice Volumétrico del Lodo	(mL/g)
NT	Nitrógeno Total	(mg/L)
PT	Fósforo Total	(mg/L)
OD	Oxígeno Disuelto	(mg/L)
SST	Sólidos Suspendidos Totales	(g/L)
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles	(g/L)
SSVLM	Sólidos Suspendidos Volátiles del Licor de Mezcla	(g/L)
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico	(d)
VCO	Velocidad de Carga Orgánica	(kgDQO/m ³ ·d) / (kgDBO ₅ /m ³ ·d)
VUO	Velocidad de Utilización de Oxígeno	(mgO ₂ /gSSV·min)

INDICE GENERAL

RESUMEN	10
1. INTRODUCCION.....	11
1.1 Antecedentes generales.....	11
1.2 Industria de celulosa en Chile	12
1.2.1 Proceso productivo de la industria de celulosakraft.....	13
1.2.2 Residuos líquidos de la industria de celulosa kraft	15
1.2.3 Tratamiento de residuos líquidos de la industria de celulosakraft.....	16
1.3 Sistemas de lodos activados.....	18
1.3.1 Parámetros operacionales.....	20
1.3.2 Microbiología del lodo activado.....	24
1.4 Indicadores de estabilidad del sistema de lodos activados	28
1.4.1 Índice volumétrico del lodo	28
1.4.2 Actividad heterótrofa de la biomasa.....	29
1.4.3 Microorganismos indicadores del lodo activado	30
1.5 Ingreso de tóxicos a un sistema de lodos activados	32
2. HIPOTESIS.....	35
3. OBJETIVOS.....	35
3.1 Objetivo general	35
3.2 Objetivos específicos	35
4. METODOLOGIA.....	36
4.1 Influyente	36
4.2 Sistema de lodos activados.....	36
4.2.1 Inóculo	36

4.2.2	Reactores	37
4.2.3	Operación	38
4.3	Técnicas analíticas.....	39
4.3.1	Parámetros fisicoquímicos y biológicos	39
4.3.2	Determinación de IVL	40
4.3.3	Determinación de la actividad heterótrofa de la biomasa	41
4.3.4	Observación microscópica de biomasa y conteo de microorganismos indicadores	41
5.	RESULTADOS Y DISCUSION	42
5.1	Caracterización fisicoquímica del influente	42
5.2	Caracterización del inóculo	45
5.3	Operación de los sistemas de lodos activados	47
5.4	Eficiencias de eliminación de materia orgánica, color y compuestos específicos	52
5.5	Indicadores de estabilidad.....	57
5.5.1	Evolución del índice volumétrico del lodo	57
5.5.2	Evolución de la actividad de la biomasa	61
5.5.3	Microbiología del lodo y microorganismos indicadores.....	64
5.6	Relación entre indicadores de estabilidad.....	71
5.	CONCLUSIONES	74
6.	RECOMENDACIONES.....	75
7.	REFERENCIASBIBLIOGRAFICAS	76

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso productivo industria de celulosa kraft.	14
Figura 2. Sistema de lodos activados.....	19
Figura 3. Red trófica formada por los microorganismos del ecosistema del proceso de lodos activados.....	26
Figura 4. Sucesión ecológica de microorganismos en lodos activados.....	27
Figura 5. Ciliado fijo, <i>Vorticella sp.</i> , adherido al floculo.	31
Figura 6. Especie de rotífero <i>Philodinia sp.</i>	32
Figura 7. Reactores de lodos activados. R1: Reactor 1, R2: Reactor 2.	37
Figura 8. Evolución del Velocidad de Carga Orgánica (VCO) en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).....	47
Figura 9. Evolución del Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).....	48
Figura 10. Concentración de SST en R1 (Blanco) (□) y R2 (■) y de SSV, en R1 (△) y R2 (▲).	49
Figura 11. Evolución del pH en el influente (▲) y en el efluente de los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).....	50
Figura 12. Evolución de la Temperatura (T) en R1 (Blanco) (○) y R2 (■) y del Oxígeno Disuelto (OD) en R1 (▽) y R2 (▲).....	51
Figura 13. Evolución de las eficiencias de eliminación de DQO en R1 (Blanco) (○) y R2 (■) y de DBO ₅ en R1 (▽) y R2 (▲).	53

Figura 14. Eficiencia de la eliminación de compuestos, Color (■), Lignina _{280nm} (△), Lignina _{272 nm} (▲), Ácidos lignosulfónicos (○), Compuestos aromáticos.....	55
Figura 15. Índice Volumétrico del Lodo (IVL) observado en los reactores en R1 (Blanco) (○) y R2 (■).....	57
Figura 16. Evolución del Índice volumétrico del lodo (IVL) durante shocks tóxicos, S1 (■), S2 (○), S3 (▲) y S4 (▼).	58
Figura 17. Relación entre IVL y relación Alimento/Microorganismos (A/M) observada en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).....	60
Figura 18. Evolución de la actividad heterótrofa en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).....	61
Figura 19. Evolución de la actividad heterótrofa en el reactor R1 durante shocks tóxicos, S1 (■), S2 (○), S3 (▲) y S4 (▼).	62
Figura 20. Microorganismos observados en los reactores R1 y R1 en condición de operación normal. A y B: Flóculos, C: Flagelado, D: Ciliado móvil, E: Ciliado suctor, F y G: Ciliados fijos, H: Rotíferos.	64
Figura 21. A: Estructuras de resistencia (huevos de metazoo), B: Acumulación de alimento en ciliados fijos durante Shock 4.	66
Figura 22. Evolución del número de individuos de microorganismos indicadores, ciliados fijos (▲) y rotíferos (○) en el reactor R1.....	67
Figura 23. Evolución del número de individuos de microorganismos indicadores, ciliados fijos (▲) y rotíferos (●) durante shocks tóxicos.....	69

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización efluente secundario celulosa kraft	18
Tabla 2. Valores típicos de parámetros operacionales para sistemas de lodos activados.	24
Tabla 3. Actividad específica de la biomasa de sistemas de lodos activados con distintos tipos de influente.	29
Tabla 4. Efectos observados a partir de shocks tóxicos aplicados a sistemas de tratamiento biológico aeróbico.....	34
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica de influente de celulosa kraft.	42
Tabla 6. Caracterización de influente utilizado en shock tóxico	44
Tabla 7. Caracterización del inóculo	45
Tabla 8. Parámetros de operación e indicadores de estabilidad para las distintas condiciones de operación.....	72

RESUMEN

En el tratamiento biológico de residuos líquidos mediante lodos activados, el control se realiza a través de un monitoreo continuo de parámetros fisicoquímicos. Sin embargo, usualmente estas mediciones no se relacionan con las características de sedimentación del lodo, ni con su microbiología. Al ser integrados, los parámetros fisicoquímicos y biológicos, pueden entregar valiosa información, indicando el nivel de estabilidad del sistema y permitiendo la detección temprana de problemas operativos, por ejemplo un derrame tóxico.

El objetivo de este estudio, fue determinar la estabilidad de un sistema de lodos activados sometido a shock tóxico, evaluando e interrelacionando el comportamiento de los indicadores: (a) Índice Volumétrico de los Lodos (IVL), (b) actividad de la biomasa y (c) presencia de microorganismos indicadores a través del número de ciliados fijos y rotíferos, con las condiciones de operación y la eficiencia de eliminación.

Considerando que la industria de celulosa, utiliza sistemas de lodos activados para el tratamiento de sus efluentes, se montaron dos reactores alimentados con efluente de celulosa kraft. Un reactor se utilizó como control y el otro fue sometido a cuatro shocks tóxicos, utilizando para ello, licor negro. Como resultado, se obtuvo una eficiencia de eliminación de materia orgánica para la condición normal de 60% y que disminuyó de 76 a -20% desde la aplicación del shock 1 al 4. Esta ineficiencia fue previsible a través de una disminución de la actividad heterótrofa en la hora 6 de aplicación del shock y su aumento la hora 24. Lo que concordó con las oscilaciones en el número de ciliados fijos y rotíferos, que además tuvo su menor valor 73 y 78 organismos/mL, respectivamente, durante el período de más baja eliminación. Por su parte, el IVL se mantuvo en un rango de 39,2 - 60,1 mL/gSST y no se vio fuera de los niveles óptimos durante el estudio.

En general, el sistema de lodos activados, con la biomasa adaptada al influente de celulosa kraft, pudo resistir un shock de licor negro con una concentración de DQO de 3200 mg/L, durante 24 h.

1. INTRODUCCION

1.1 Antecedentes generales

Estudios han determinado que los cursos de agua pueden sufrir alteraciones en algunos parámetros, tales como, sólidos suspendidos, materia orgánica, nutrientes y toxicidad, los cuales son indicativos de contaminación. En ese sentido, la descarga de efluentes domésticos e industriales tratados, es uno de los usos que contribuye a la alteración de dichos parámetros (Chamorro *et al.*, 2013).

Actualmente, una de las tecnologías más utilizadas para el tratamiento de residuos líquidos, son los lodos activados (WEF, 2008). Estos sistemas, corresponden a un tratamiento biológico aeróbico, en el que microorganismos oxidan la materia orgánica presente en el efluente, estabilizándola (Ramalho, 1996). La comprensión del funcionamiento de este sistema, es esencial, ya que, asegura una depuración eficiente de los vertidos, en cuanto a materia orgánica y advierte la detección temprana de problemas operativos (Chamorro y Vidal, 2013). Lo anterior, permite prevenir el incumplimiento de la normativa debido a parámetros de descarga fuera de norma, situación que finalmente repercutiría en la pérdida de calidad de los cuerpos de agua receptores.

Una de las industrias que utiliza sistema de lodos activados para el tratamiento de sus efluentes, es la industria de celulosa. Estas empresas han invertido fuertemente en poder disminuir el impacto ambiental que provocan. De esta manera, dentro del proceso del vertido de efluentes, se han implementado tecnologías para la eliminación de sólidos suspendidos, a través de un tratamiento primario, y de materia orgánica, a través de sistemas biológicos, denominados tratamientos secundarios, como los lodos activados (Belmonte *et al.*, 2006).

1.2 Industria de celulosa en Chile

La industria de celulosa es en la actualidad, uno de los sectores industriales más importantes en el mundo. Esto se debe al crecimiento sostenido de la demanda de papel, producto del cual es materia prima (Altesor, 2008). En Chile, la producción de celulosa es la base del sector forestal, siendo la principal exportación de este rubro, abarcando un 35% del total de productos forestales (ATCP, 2012). En particular, la producción de celulosa en Chile, ha experimentado un crecimiento exponencial durante las dos últimas décadas, debido a las condiciones favorables que ofrece el mercado internacional y las ventajas competitivas que presenta el país (Chiang *et al.*, 2010). De este modo, Chile ha pasado a ser uno de los principales productores a nivel mundial, estableciéndose al 2010, en el décimo lugar del ranking mundial de productores de celulosa, con 4,88 millones de toneladas/año de celulosa fabricadas (BRACELPA, 2013).

El desarrollo de esta industria, se ha concentrado en la zona centro sur del país, debido a que las especies utilizadas como materia prima, *Pinus radiata* y *Eucaliptus globulus*, han logrado una buena adaptación a las condiciones de clima y suelo (Luraschi, 2007). A su vez, la producción de celulosa, se encuentra dominada por dos empresas, Compañía Manufacturera de Papeles y Cartones (CMPC S.A.) y Empresas Arauco y Constitución S.A., las cuales, durante los últimos años, tuvieron una producción de 2,5 y 2,7 millones de toneladas al año, respectivamente (Arauco, 2012; CMPC, 2011).

En cuanto al proceso productivo, a nivel nacional se utiliza en su mayoría el proceso kraft para la fabricación de celulosa química, utilizándose como materia prima el *Pinus radiata* (Pino) para la producción de celulosa blanqueada de fibra larga (BSKP) y *Eucaliptus globulus* y *Eucaliptus nitens* (Eucaliptos) para celulosa blanqueada de fibra corta (BEKP) (Luraschi, 2007).

1.2.1 Proceso productivo de la industria de celulosakraft

El proceso kraft o al sulfato, es el más utilizado en el mundo para la producción de celulosa (Bierman, 1996; Pokhrel and Viraraghavan, 2004). De igual manera, en Chile, la industria de celulosa kraft blanqueada, corresponde al 92% de la producción. Este proceso, consiste en la separación de las fibras de celulosa de los demás componentes de la madera, principalmente de la lignina y hemicelulosas, mediante la remoción selectiva de éstos, a través de la utilización de sulfuro (Zaror, 2002).

El proceso de la fabricación de celulosa, como se observa en la Figura 1, se inicia con la preparación de la madera, la cual es descortezada y reducida a astillas (Arauco, 2013). Luego, en la etapa de digestión, las astillas ingresan a un digestor continuo en el cual son sometidas a cocción con licor blanco, compuesto por hidróxido de sodio (NaOH) y sulfuro de sodio (Na₂S), a un pH mayor a 12, con temperaturas entre 160 -180 °C, y presión, por un período entre 0,5 - 3 horas, lo que permite disolver la mayor parte de la lignina de las fibras de la madera (Bierman, 1996). A partir de este proceso, se genera licor negro (licor blanco junto con la lignina removida), el cual debe ser tratado, lo que recibe el nombre de recuperación química. En la línea de recuperación química, el licor negro proveniente del digestor se evapora, concentrándose, para luego ser quemado en la caldera recuperadora, generándose licor verde (sulfuro de sodio y carbonato de sodio) (Bajpai, 2013). El licor verde obtenido, es llevado a un proceso de caustificación, donde se recupera licor blanco, que es devuelto al proceso de digestión (Zaror, 2002).

La pulpa cruda proveniente de la digestión, contiene lignina residual que le otorga un color café, por lo que debe ser eliminada. Para ello, la pulpa es lavada a través de una corriente de agua que se ingresa al sistema (Arauco, 2013). Luego, se realiza una deslignificación a través de oxidación química (Zaror, 2002).

Adicionalmente, es necesario realizar un blanqueo que elimina la lignina aún presente y decolora el remanente. La tendencia actual, es evitar el uso de cualquier tipo de productos químicos con cloro, teniendo procesos libres de cloro total (TCF) o libres de cloro elemental (ECF). Así, se utiliza una secuencia de blanqueo en base a dióxido de cloro (ClO_2) como agente oxidante, en varias etapas sucesivas, que incluye etapas de extracción y lavados intermedios (Bajpai, 2013).

Finalmente, a la pulpa ya blanqueada, se le drena el agua por gravedad y vacío, formándose una hoja continua. Luego, se seca con aire caliente, se dimensiona y embala para su transporte y comercialización (Arauco, 2013).

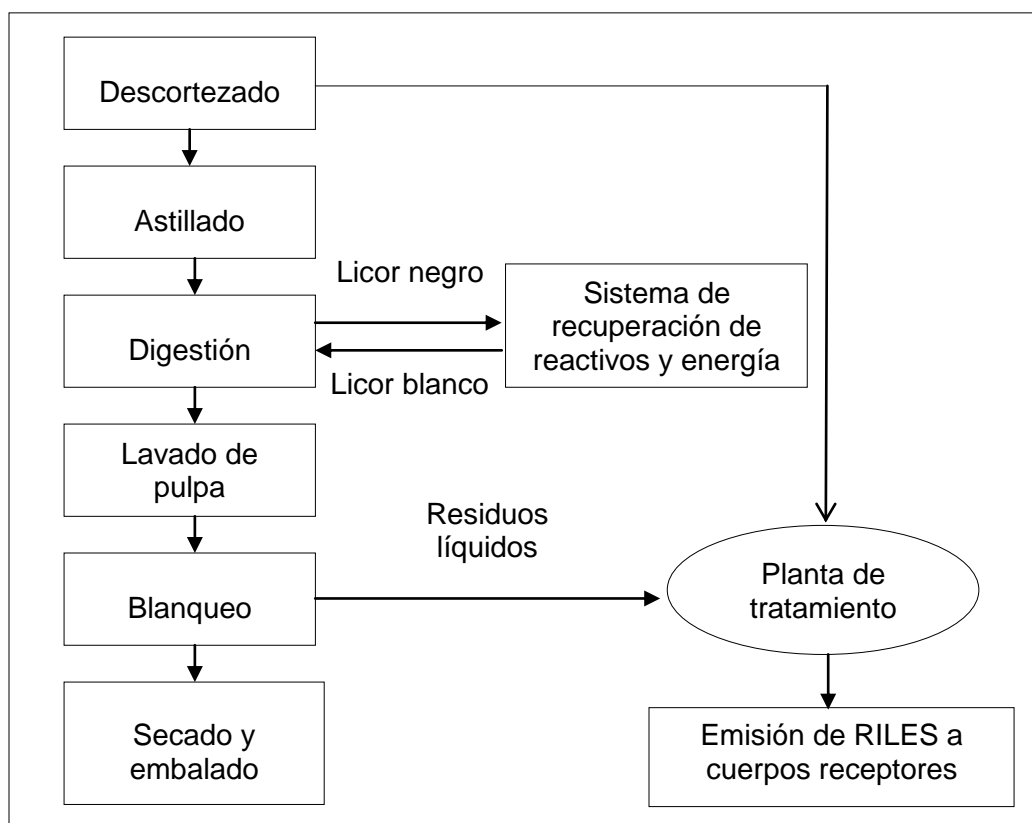


Figura 1. Proceso productivo industria de celulosa kraft. RILES: Residuos Industriales Líquidos.

Fuente: Adaptado de Luraschi (2007).

1.2.2 Residuos líquidos de la industria de celulosa kraft

La industria de celulosa, debido a las características de su proceso productivo, hace un uso intensivo del agua, ocupando el tercer lugar en el mundo, después de la minería y la industria química, en cuanto a la extracción de agua dulce (Bajpai, 2013). Lo anterior, se evidencia en los elevados volúmenes de descarga de efluentes que posee, con caudales de hasta 60 m³ por tonelada de producto elaborado (Thompson *et al.*, 2001).

Los residuos líquidos generados provienen, principalmente, de la secuencia de blanqueo, lavado de equipos y derrames de pulpa, y contienen sólidos suspendidos, material orgánico disuelto y reactivos de blanqueo (Zaror, 2002). Durante el proceso de lavado, blanqueo y deslignificación, los componentes de la madera, principalmente la lignina, quedan disueltos en el efluente. Como resultado, el efluente de este proceso es de tonalidad café oscura, color derivado de los compuestos poliméricos cromóforos de la lignina (Bajpai, 2013).

Además de los efluentes generados en las etapas de preparación de la madera, blanqueo y deslignificación, existen fuentes de emisión no habituales, como por ejemplo, ciertos derrames de componentes líquidos de la fase de digestión (Luraschi, 2007). Tal es el caso del licor negro, que es generado como agua residual durante dicho proceso, con aproximadamente 7 toneladas de licor negro por tonelada de pulpa producida. Este licor, contiene elementos del licor blanco utilizado en la cocción y la lignina disuelta, junto a otras sustancias propias de la madera que incluyen, ácidos carboxílicos, hemicelulosas (especialmente xilanos), metanol, entre otros componentes que le otorgan la característica de tóxico (Bierman, 1996).

Actualmente, el licor negro es recuperado para ser procesado en otro sector de la planta de celulosa, denominado sistema de recuperación química. Sin embargo, una pequeña parte de éste permanece entre las fibras y es arrastrado a los procesos de lavado y blanqueo (Pozo, 2010). También, existe la posibilidad de un derrame accidental. Ha sido documentada la existencia de derrames de licor negro en plantas de celulosa que han llegado al sistema de tratamiento de efluentes, y, considerando que las características de este residuo líquido son distintas al efluente normal, su ingreso al sistema de tratamiento puede tener repercusiones en el proceso de depuración (Sandberg, 2009).

1.2.3 Tratamiento de residuos líquidos de la industria de celulosakraft

Los efluentes del proceso productivo de celulosa kraft, pueden causar diferentes tipos de impacto ambiental, los cuales están asociados al contenido de: (1) sólidos en suspensión, (2) carga orgánica, en las formas de Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅) y Demanda Química de Oxígeno (DQO), (3) color, debido a la presencia de ligninas o taninos polimerizados, que aunque no son tóxicos, son difícilmente biodegradables, y (4) toxicidad, atribuida a compuestos extractivos de la madera como terpenos volátiles y ácidos resínicos y a los efluentes de blanqueo que contienen compuestos fenólicos clorados (Diez *et al.*, 2002). Debido a esto, es esencial su tratamiento antes de descargarlos a un cuerpo de agua (Pokhrel and Viraraghavan, 2004). Para ello, en general se utiliza en las plantas de celulosa kraft, un sistema de tratamiento de residuos líquidos que se inicia con un tratamiento primario, seguido de uno secundario de naturaleza biológica, finalizando con un proceso terciario (Doble, 2005).

Para el tratamiento primario, la mayoría de las industrias utilizan sedimentadores, los cuales alcanzan eficiencias de eliminación de sólidos en suspensión mayores al 80% (Thompson *et al.*, 2001).

En el tratamiento secundario, el objetivo es la eliminación de la materia orgánica contenida en el efluente, para lo cual, son empleados, sistemas biológicos aeróbicos, debido a la presencia en el efluente de potenciales inhibidores de procesos anaeróbicos, tales como el sulfato (Rodrigues *et al.*, 2010). De esta manera, han sido utilizados sistemas en los que microorganismos degradan la materia orgánica en presencia de oxígeno, entregando un efluente de mejor calidad. Estos microorganismos se pueden encontrar de manera libre, es decir, suspendidos en el líquido de mezcla del reactor, como en los sistemas de lodos activados, o se pueden encontrar adheridos a una superficie, como en los reactores de lecho móvil. Las dos tecnologías permiten reducir, la carga orgánica biodegradable y los niveles de toxicidad en el efluente, provenientes de las etapas de pulpaje y blanqueo.

En particular, los sistemas de lodos activados son uno de los más utilizados en la industria de celulosa, por su buena eficiencia de eliminación de materia orgánica. A la forma de DBO_5 , eliminan entre un 65 - 99%, del contenido de materia orgánica del influente y para la DQO se alcanzan niveles de hasta el 60% de eliminación. En general, son reactores compactos, con gran flexibilidad de operación y con cortos tiempos de retención hidráulico (Xavier *et al.*, 2005). Por otro lado, los reactores de lecho móvil o por sus siglas en inglés MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor), consisten en sistemas en los cuales la biomasa se encuentra adherida a soportes de gran área superficial que sirven como base para el crecimiento de los microorganismos (Metcalf y Eddy, 1995). Al igual que los lodos activados, el sistema MBBR ha proporcionado un tratamiento estable, compacto y eficiente para eliminar la materia orgánica, presentando una eficiencia en la eliminación de DBO_5 de entre 85 - 99% y para DQO de 24 - 85%. No obstante la biomasa se encuentra adherida, en el sistema MBBR, también existe la suspensión individual, por lo que el reactor no es exclusivamente un biofilm, sino más bien un híbrido, con características de biomasa adherida y en suspensión (Villamar *et al.*, 2009).

De manera general, las plantas de tratamiento de efluentes de celulosa kraft, consiguen atender los valores de vertimientos correspondientes, en relación a la materia orgánica biodegradable, medida como DBO₅. Sin embargo, como se observa en la Tabla 1, debido al contenido de DQO residual, toxicidad y color, presentes en el efluente, es recomendada la aplicación de un tratamiento terciario, atendiendo a las características del ecosistema acuático receptor. Tratamientos terciarios, son poco frecuentes en la actualidad, pero a medida que la legislación se vuelva más estricta, se pueden tornar habituales (Thompson *et al.*, 2001).

Tabla 1. Caracterización efluente secundario celulosa kraft

Parámetro	Unidad	Rango
pH		7,1 - 7,4
DBO ₅	mg/L	16,0 - 34,0
DQO	mg/L	202,9 - 213,7
Color (400 nm, pH 9)	Abs	0,2- 1
Fenoles totales (215nm)	mg/L	164,0 – 204,2
NT	mg/L	1,7 - 1,9
PT	mg/L	0,8 - 0,9

DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno; DQO: Demanda Química de Oxígeno; NT: Nitrógeno Total, PT: Fósforo Total.

Fuente: Chamorro *et al.*, (2010); López *et al.*, (2011).

1.3 Sistemas de lodos activados

Los sistemas de lodos activados, son uno de los tratamientos más utilizados a nivel mundial para la depuración de efluentes, debido a que presentan resistencia a fluctuaciones en el caudal de entrada, carga orgánica y composición del influente.

En general, el sistema se compone de dos partes, un tanque de aireación y uno de sedimentación, como se observa en la Figura 2. El tanque de aireación contiene un licor de mezcla, que está formado por un conjunto de microorganismos aglomerados en flóculos con materia orgánica e inorgánica. El ambiente aerobio se logra mediante la utilización de aireadores mecánicos, que sirven, además, para mantener el licor completamente mezclado. Los microorganismos estabilizan la materia orgánica mediante reacciones de oxidación biológica, después de lo cual, el licor de mezcla pasa al tanque de sedimentación donde los flóculos decantan, separándose el agua clarificada, que luego es vertida en un cauce. Parte del lodo que sedimentó, es recirculado y combinado con la alimentación inicial para mantener en el reactor la concentración de células deseadas. Una fracción es purgada y corresponde al crecimiento de tejido celular (Metcalf and Eddy, 2003).

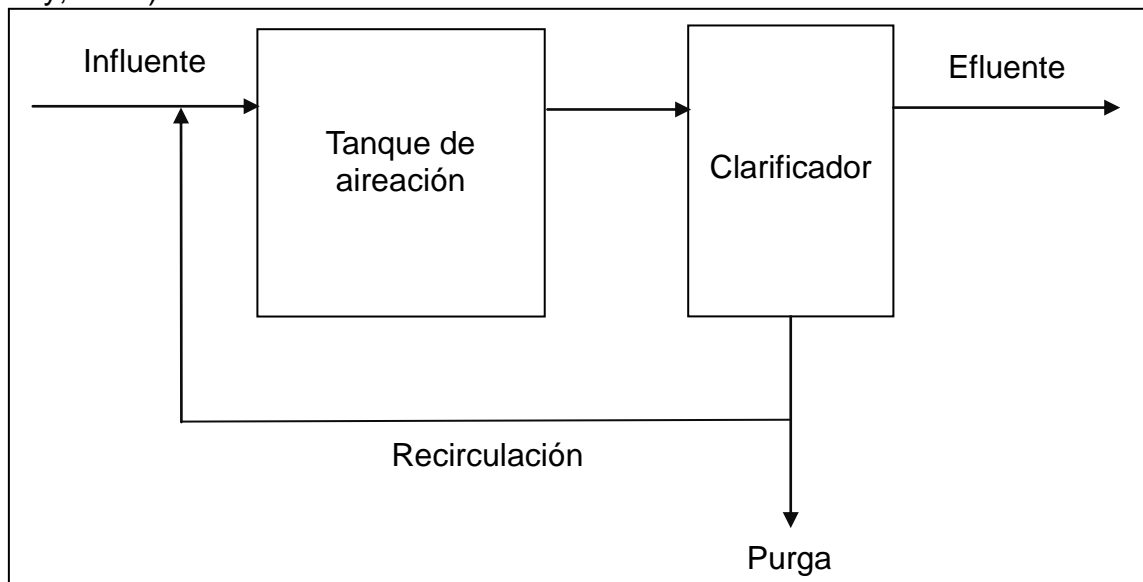


Figura 2. Sistema de lodos activados.

Una mejor comprensión del proceso lodos activados, ha resultado en la construcción de diferentes configuraciones, otorgándole mayor versatilidad a esta tecnología. Dentro de las variaciones se cuentan, sistemas de aireación extendida, de alta carga, entre otros (Mecalf and Eddy, 2003; Winkler, 1995).

1.3.1 Parámetros operacionales

El proceso de lodos activados implica un sistema biológico muy complejo, el que puede verse modificado a raíz de cambios en las condiciones ambientales. Por tanto, es necesario considerar variables del sistema y alternativas de control que estén disponibles para operar adecuadamente. Así, se considera que parámetros como el pH, el oxígeno disuelto y la temperatura, deben estar dentro de rangos determinados para la adecuada proliferación y desarrollo de los microorganismos. Adicionalmente, existen condiciones de funcionamiento que inciden en la eficiencia del proceso, tales como el tiempo de residencia, las características del agua residual, incluyendo relación entre materia orgánica y nutrientes, la toxicidad, la cantidad de microorganismos presentes en el tanque de aireación, la tasa de recirculación, entre otros (WEF, 2008).

A continuación, se describen parámetros operacionales de importancia para el control del sistema de lodos activados.

- **pH**

La concentración del ion hidrogeno (H^+), es un indicador de calidad del medio y permite la adecuada proliferación y desarrollo de organismos. Los niveles de pH deben encontrarse entre 4,0 - 9,5, ya que este, es el rango tolerado por las bacterias, existiendo un intervalo óptimo de 6,5 - 7,5 (Ramalho, 1996). Con valores de pH inferiores a 6,5, se produce el crecimiento de hongos filamentosos en lugar de bacterias, mientras que un pH por sobre 9, inhibe la actividad bacteriana. Fluctuaciones repentinas del pH en el reactor, tienen como consecuencia, la muerte de microorganismos, lo que afectará de manera indirecta la eficiencia de eliminación de materia orgánica del proceso (Sandberg and Holby, 2008).

- **Temperatura**

La importancia de la temperatura se debe a su influencia, tanto en el desarrollo de los microorganismos, como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción. En particular, la solubilidad del oxígeno disminuye a medida que la temperatura aumenta, variando desde 14,74 mg/L a 0°C hasta 7,03 mg/L a 35°C. Por otro lado, un incremento de la temperatura produce el aumento en las velocidades de las reacciones químicas, lo que a su vez, la eleva aún más. Ello, combinado con la reducción del oxígeno, puede causar agotamiento de las concentraciones de oxígeno disuelto. Además, un cambio brusco de temperatura puede generar la mortalidad de gran parte de los microorganismos (Metcalf and Eddy, 2003; Ramalho, 1996).

- **Oxígeno disuelto**

Debido a que el sistema de lodos activados es un proceso aeróbico, una concentración adecuada de Oxígeno Disuelto (OD) en el reactor, es vital, para permitir la respiración de los microorganismos. Este parámetro debe hallarse en concentraciones superiores a 2 mgO₂/L, siendo este valor, el mínimo necesario para el correcto desarrollo de la biomasa (Metcalf and Eddy, 2003; Ramalho, 1996).

- **Tiempo de retención hidráulico**

Se denomina Tiempo de Retención Hidráulico (TRH), al tiempo de residencia del agua residual en el sistema, el cual debe ser suficiente para permitir un contacto adecuado entre la materia orgánica disuelta y los microorganismos. Los sistemas convencionales presentan TRH entre 3 - 10 h, mientras que los de aireación extendida de 12 - 36 h (Metcalf and Eddy, 2003).

- **Velocidad de carga orgánica**

La Velocidad de Carga Orgánica (VCO), se refiere a la cantidad de materia orgánica que ingresa al sistema, representándose como la alimentación de DBO₅

por unidad de volumen de reactor, expresada como ($\text{kgDBO}_5/\text{m}^3\cdot\text{d}$) (Zaror, 2002). La carga orgánica varía con la operación de la planta, tanto en flujo, como en concentración de material orgánico. Típicamente, los valores de diseño son entre $0,3 - 1,6 \text{ KgDBO}_5/\text{m}^3\cdot\text{d}$ (Ramalho, 1996).

- **Concentración de la biomasa en el reactor**

La porción orgánica de los sólidos que se encuentran suspendidos en el reactor, está representada por los SSV (Sólidos Suspendidos Volátiles) del tanque de aireación, también denominados SSVLM (Sólidos Suspendidos Volátiles del Licor de Mezcla), que comprenden los microorganismos vivos, muertos y restos celulares. En un reactor convencional, los SSV tienen valores de concentración entre $1500 - 5000 \text{ mg/L}$ (Metcalf and Eddy, 2003).

- **Relación alimento microorganismos**

La relación Alimento Microorganismos (A/M), hace referencia a la cantidad de materia orgánica alimentada, expresada como DBO_5 o DQO, por unidad de biomasa presente en el reactor, como kgSSV . Valores típicos de la relación A/M se encuentran en el rango de $0,2 - 0,9 \text{ kgDBO}_5/\text{kgSSV}\cdot\text{d}$, siendo la relación óptima de $0,3 - 0,6 \text{ kgDBO}_5/\text{kgSSV}\cdot\text{d}$ (Ramalho, 1996; Zaror, 2002). Este parámetro puede ser modificado desde la operación del sistema, ya que, la concentración de microorganismos puede ser rectificada aumentando o disminuyendo la purga de lodos (Metcalf and Eddy, 2003).

- **Relación materia orgánica y nutrientes**

Se considera el nitrógeno y el fósforo por ser nutrientes esenciales en el desarrollo de los microorganismos, en especial el nitrógeno, ya que es la base para la síntesis de proteínas (Metcalf and Eddy, 2003). La deficiencia de nutrientes puede afectar el crecimiento microbiano y modificar los tipos de microorganismos presentes, alterando la velocidad de crecimiento y la cantidad y actividad de los mismos. Es decir, una dosificación inadecuada, limitaría el consumo de materia

orgánica por las bacterias. La relación óptima entre materia orgánica y nutrientes, expresada en unidad de masa como $DBO_5:N:P$, corresponde a 100:5:1 en los sistemas de lodos activados convencionales (Diez *et al.*, 2002).

- **Recirculación**

La recirculación de los microorganismos desde el sedimentador secundario al tanque de aireación, permite mantener una concentración de biomasa constante en el reactor. Valores de recirculación varían en función del caudal de entrada, desde una fracción de 0,25 a 1,25 de éste (Metcalf and Eddy, 2003).

- **Edad del lodo**

Corresponde al tiempo promedio en que los microorganismos permanecen en el proceso de tratamiento. La edad del lodo puede variar de 4 - 15 d, en sistemas convencionales. Cabe destacar que un lodo antiguo estará caracterizado por un crecimiento disperso y tendrá como resultado una pobre sedimentación (Metcalf and Eddy, 2003).

- **Eficiencia de eliminación**

Un reactor que mantenga un control permanente de los parámetros antes descritos, llevará a cabo un proceso eficiente, lo cual será evidenciado en la concentración de materia orgánica en el efluente medida como DBO_5 o DQO. Un sistema de lodos activados, funcionando de manera óptima, alcanza eficiencias de eliminación de un 60% para DQO y de un 95% para DBO_5 (Metcalf and Eddy, 2003; Sandberg and Holby, 2008).

La Tabla 2 resume parámetros de operación relevantes en los procesos de lodos activados de las dos configuraciones más empleadas y sus respectivas eficiencias de eliminación alcanzadas.

Tabla 2. Valores típicos de parámetros operacionales para sistemas de lodos activados.

Tecnología Lodos activados	TRH (h)	VCO (kgDBO ₅ / m ³ ·d)	A/M (kgDBO ₅ / kgSSVLM·d)	Edad lodo (d)	SSVLM (g/L)	Eliminación DBO ₅ (%)
Convencional	3-8	0,3-0,7	0,2-0,9	4-15	1,5-5,0	85-95
Aireación Extendida	12-36	0,1-0,3	0,05-0,2	20-60	2,5-6,0	93-98

TRH: Tiempo de Retención Hidráulico, VCO: Velocidad de Carga Orgánica, A/M: Relación Alimento Microorganismos, SSVLM: Sólidos Suspendidos Volátiles del Licor de Mezcla, DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno.

Fuente: Metcalf and Eddy (2003), Ramalho (1996).

1.3.2 Microbiología del lodo activado

El proceso de lodos activados, tiene su base en la diversidad de microorganismos que forman el licor de mezcla, la que está constituida principalmente por descomponedores, correspondientes a bacterias, que utilizan la materia orgánica como alimento. Por otro lado, están los consumidores, entre los que se cuentan, flagelados, amebas, ciliados y metazoos, que se alimentan de bacterias dispersas y otros organismos (Madoni, 1994; WEF, 2008). A continuación se describen los tipos microorganismos más representativos del proceso de lodos activados.

- **Bacterias**

Son el principal componente del ecosistema del lodo activado y el constituyente más abundantes del flóculo, correspondiendo entre un 90 - 95% de la biomasa presente en el licor de mezcla. Las bacterias pueden encontrarse libres o formando parte de los flóculos y son las responsables de la oxidación de la materia orgánica y de la transformación de los nutrientes. Además, producen polisacáridos y materiales poliméricos que ayudan en la en la floculación (Mas *et al.*, 2008).

- **Protozoos**

Los protozoos son organismos unicelulares eucariotas, se alimentan de las bacterias libres presentes en el ecosistema, reduciendo la concentración de bacterias dispersas y materia orgánica, ayudando a que el efluente sea más claro y de mejor calidad (Villaseca, 2001). Además, segregan enzimas que estimulan la floculación de las bacterias (Mas *et al.*, 2008). Son utilizados como indicadores del funcionamiento del proceso, ya que son muy sensibles a los tóxicos y a los cambios de oxígeno (Villaseca, 2001). Es posible diferenciar tres grupos de protozoos según su morfología y movilidad:

- **Flagelados:** poseen uno o más flagelos que utilizan para el desplazamiento y alimentación. Aparecen principalmente en las fases de inicio de la colonización de los lodos y no son abundantes cuando el proceso de depuración funciona adecuadamente (Villaseca, 2001).
- **Amebas:** Se distinguen dos tipos, amebas desnudas, que tienen el cuerpo sin forma definida, y las tecamebas, que presentan una estructura de protección denominada teca que recubre la célula. Se alimentan de materia orgánica disuelta, bacterias y otros protozoos (Mas *et al.*, 2008).
- **Ciliados:** Se caracterizan por presentar cilios que utilizan para desplazarse y alimentarse. Pueden clasificarse, según su relación con el flóculo, en tres grupos: nadadores, reptantes y sésiles. Los nadadores, corresponden a los ciliados que nadan activamente por el licor mezcla y entre los flóculos; los

reptantes también son formas libres, pero se encuentran en las superficies de los flóculos, y los sésiles están unidos a los flóculos mediante el propio cuerpo, por ejemplo, a través de un pedúnculo (Madoni, 1994).

- **Metazoos**

Son organismos pluricelulares. Se alimentan de bacterias y pequeñas partículas orgánicas. Los grupos más comunes son los rotíferos y nematodos, y en menor frecuencia oligoquetos, gastrotricos y los tardígrados. Su presencia es un indicador de lodo en fase madura (Villaseca, 2001).

La relación entre los diferentes microorganismos constituye una red trófica compleja, que va cambiando con el tiempo y en función de las condiciones del sistema y, como se observa en la Figura3, tiene como punto de partida (en la base), la materia orgánica que es consumida por las bacterias (Ramalho, 1996).

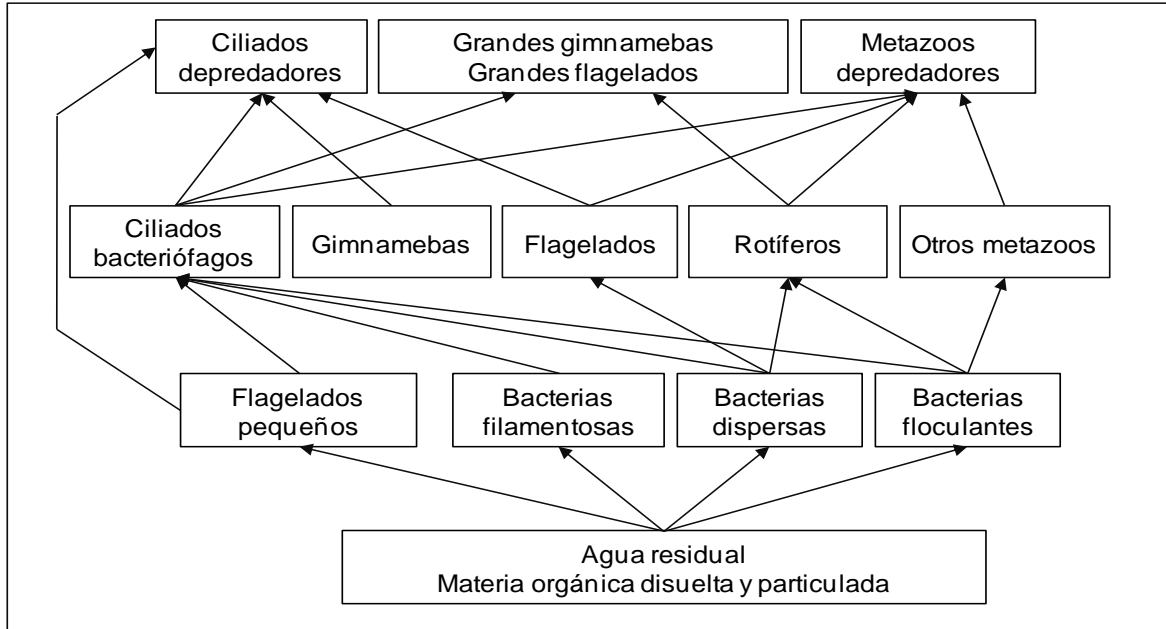


Figura 3. Red trófica formada por los microorganismos del ecosistema del proceso de lodos activados.

Fuente: Mas *et al.*, (2008).

Asimismo, entre la puesta en marcha y la estabilización del sistema, se producen sucesiones en las poblaciones de microorganismos. Como se observa en la Figura 4, en la fase inicial dominan las bacterias dispersas y los protozoos que entran con el influente. Luego, aparecen los ciliados nadadores. Seguido, se forman los flóculos, disminuyendo el número de bacterias libres y de protozoos flagelados. Se desarrollan los ciliados pedunculados y reptantes. Finalmente, aparecen los metazoos por encontrarse al tope de la cadena trófica (Villaseca, 2001).

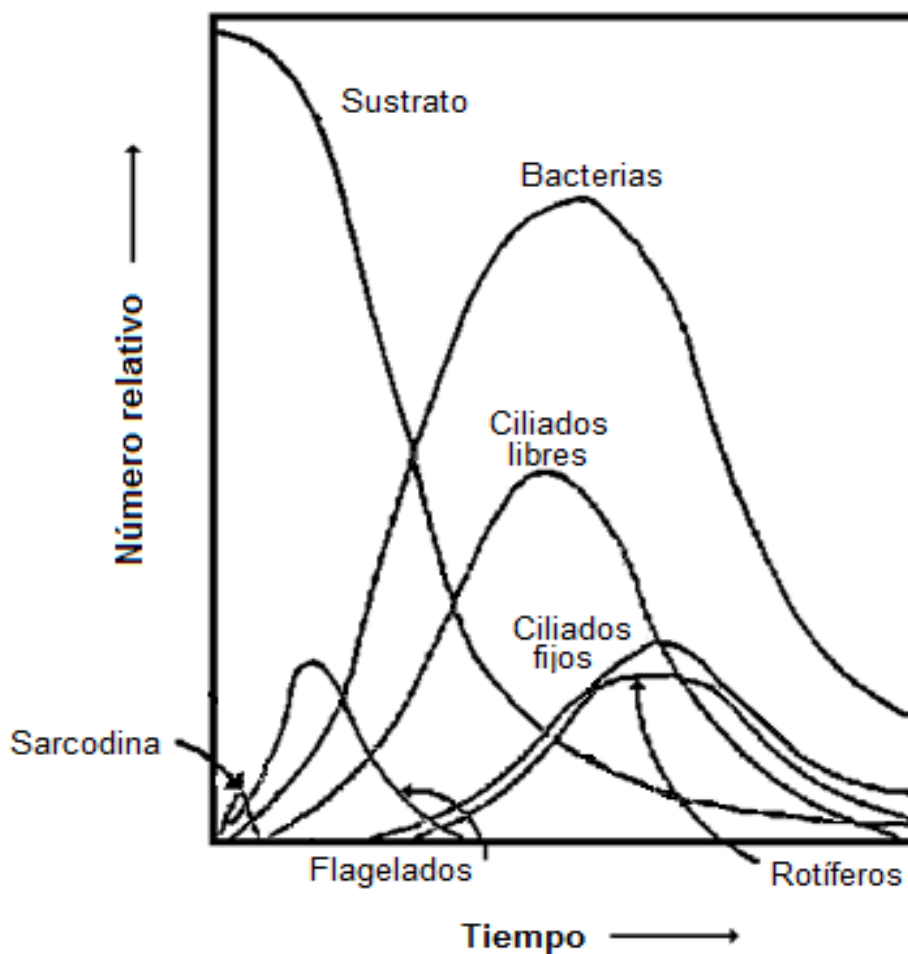


Figura 4. Sucesión ecológica de microorganismos en lodos activados.
Fuente: Adaptado de Villaseca (2001).

1.4 Indicadores de estabilidad del sistema de lodos activados

El control de una planta de tratamiento de aguas residuales, se realiza usualmente, a través de un monitoreo continuo de los parámetros de operación, con el fin de producir constantemente un efluente de calidad que cumpla con los estándares de descarga establecidos por la ley. Sin embargo, normalmente no se tienen en cuenta algunos factores importantes, como las características de sedimentación, la actividad de la biomasa y los microorganismos indicadores del funcionamiento del proceso. Dichos parámetros al ser analizados de manera integrada pueden entregar valiosa información para la optimización del proceso.

1.4.1 Índice volumétrico del lodo

El índice volumétrico del lodo o IVL, es un indicador macroscópico que permite evaluar las características de decantación del lodo. Corresponde al volumen en litros, que ocupa 1 gramo de sólidos en suspensión del licor de mezcla en peso seco, después de sedimentar por 30 minutos. En el control de una planta de tratamiento de aguas, el IVL se usa para determinar si se está produciendo un aumento de volumen del lodo, denominado lodo floculento o Bulking. Este fenómeno, se caracteriza por producir un IVL mayor a 100 mL/gSST, junto a la presencia excesiva de bacterias filamentosas (Sezgin *et al.*, 1982). Los valores típicos de IVL para lodos con buenas características de sedimentación están dentro del intervalo de 150 - 35 mL/gSST (Ramalho, 1996).

Aunque este parámetro es ampliamente utilizado, varios investigadores han demostrado que el IVL puede no ser indicativo de las verdaderas características de sedimentación del lodo, sino que solo da una aproximación a lo que en realidad sucede (Chamorro y Vidal, 2013). No obstante, es una manera rápida y sencilla de evaluar la sedimentabilidad, la cual es fundamental en el proceso, teniendo en cuenta, que cada lodo es diferente (Sezgin *et al.*, 1982).

1.4.2 Actividad heterótrofa de la biomasa

El conocimiento de la actividad bacteriana, es esencial para evaluar la degradación de la materia orgánica, la cual puede verse disminuida por condiciones desfavorables en el sistema (Fall *et al.*, 2006). La medida de la bioactividad del lodo, puede evidenciar por ejemplo, la presencia en el influente de alzas repentinas en la carga orgánica o el ingreso de elementos tóxicos (Chalasanani and Sun, 2007).

Es posible obtener la actividad heterótrofa de la biomasa, mediante el método de respirometría. Este ensayo, consiste en la determinación e interpretación de la Velocidad de Utilización de Oxígeno (VUO), por parte de los microorganismos presentes en el reactor, bajo condiciones experimentales controladas, permitiendo conocer la tasa de consumo de un sustrato específico y así el rendimiento bacteriano. El consumo, del sustrato y del oxígeno, están en directa relación con el crecimiento de la biomasa (Henríquez, 2013). En particular, es posible obtenerla actividad específica de un reactor, relacionando la VUO con la cantidad de sólidos suspendidos volátiles en el tanque de aireación, correspondiente a la biomasa del sistema (Metcalf and Eddy, 2003).

En la Tabla 3, se presentan valores de actividad heterótrofa específica para reactores de lodos activados.

Tabla 3. Actividad específica de la biomasa de sistemas de lodos activados con distintos tipos de influente.

Influente	Actividad específica (gO ₂ /gSSV·d)
Celulosa kraft	0,17
Papelera	0,13
Curtiembre	0,07 – 0,42

Fuente: Pozo (2010).

1.4.3 Microorganismos indicadores del lodo activado

El conjunto heterogéneo de microorganismos presente en el sistema de lodos activados, se encuentra en un estado permanente de cambio, en función de las condiciones ambientales externas y las variaciones del agua residual (Ramalho, 1996). De esta manera, el conocimiento de la abundancia, diversidad y estructura de la comunidad de microorganismos, se torna fundamental para evaluar el grado de depuración y la calidad del efluente, permitiendo prever la aparición de problemas en el funcionamiento del sistema (Chamorro y Vidal, 2013; WEF, 2008).

El análisis de la abundancia y frecuencia de ciertos microorganismos da una idea de la estructura de la trama trófica y puede servir como índice de estabilidad. Esto debido a que, los flóculos formados en el reactor, sedimentan en el decantador secundario y son luego recirculados, favoreciendo selectivamente a las especies asociadas a los flóculos respecto a las libres, puesto que estas pueden ser eliminadas con el efluente (Madoni, 1994). Por lo tanto, un sistema estabilizado tendrá abundancia de especies sésiles frente al resto, debido al hecho de que permanecen asociadas a los flóculos. Así, especies de ciliados fijos y rotíferos son consideradas un indicador de estabilidad en un sistema de lodos activados (Mas *et al.*, 2008).

- **Ciliados fijos**

Son el grupo más estudiado y utilizado en el control de los procesos de lodos activados. Esto, ya que la estructura de las comunidades de protozoos, permite obtener una visión del proceso, sin necesidad de efectuar largos o costosos análisis. Los ciliados fijos son un buen indicador debido a, su abundancia, con concentraciones que oscilan entre los 2.000 y 100.000 individuos por mililitro, con una gran variedad de especies. Además, su identificación sencilla y rápida de realizar, en comparación con la de las bacterias y flagelados. Por otro lado, indican un buen funcionamiento del proceso, ya que, su principal función es la ingestión

de bacterias dispersas, contribuyendo a la clarificación del efluente, debido a una disminución de la turbidez, así como de la DBO₅. Además, estimulan el metabolismo bacteriano, ya que, al ingerir bacterias, incitan el crecimiento y el metabolismo de las otras, lo que repercute en un incremento del rendimiento. Adicionalmente, presentan la capacidad de inducir la floculación de las bacterias porque secretan polisacáridos (Mas *et al.*, 2008). En la Figura 5, se aprecia uno de los ciliados fijos más comunes identificados en el proceso de lodos activados.



Figura 5. Ciliado fijo, *Vorticella sp.*, adherido al floculo.

- **Rotíferos**

Son organismos pluricelulares con una estructura más compleja que los protozoos. Su tamaño oscila entre 50 - 500 μ m y la mayoría son móviles. Se encuentran en sistemas estabilizados y con altas concentraciones de oxígeno disuelto (Villaseca, 2001). Son considerados buenos indicadores de estabilidad del proceso de lodos activados, debido a su doble papel en el sistema. En primer lugar, ayudan a eliminar las bacterias libres y se alimentan de materia orgánica particulada, contribuyendo a la clarificación del efluente. En segundo lugar, contribuyen a la formación de flóculos mediante la producción de mucosidades (Bitton, 2005). La Figura 6, presenta una especie de rotífero común.



Figura 6. Especie de rotífero *Philodinia* sp.

1.5 Ingreso de tóxicos a un sistema de lodos activados

En el proceso de lodos activados, el consorcio microbiano, trabaja en conjunto para descomponer la materia orgánica contenida en las aguas residuales. En una planta de tratamiento, el sistema está diseñado para depender en gran parte de este proceso biológico. Por lo tanto, es importante evaluar los incidentes que puedan tener alguna repercusión sobre él (Chalasan and Sun, 2007).

El sistema de lodos activados, al ser un proceso biológico, es sensible a la aparición de condiciones desfavorables o la presencia de compuestos tóxicos. Estas condiciones pueden causar inhibición de los microorganismos, observándose, un menor número de las especies indicadoras y la disminución de la actividad heterótrofa de la biomasa (Fall *et al.*, 2006). Un shock tóxico también puede resultar en un aumento de volumen de lodos, lo que sería evidenciado en mayores índices de IVL y efluentes turbios, debido a la inactivación de las bacterias o el potenciamiento de otras, por ejemplo, las bacterias filamentosas

(Sandberg, 2008). Lo anterior, conlleva concentraciones de materia orgánica mayores en el efluente de salida, situación que en ningún caso es deseable.

En la industria forestal, se utilizan miles de sustancias químicas en los procesos de producción. Por ejemplo, en Suecia, se estima que son usados entre 5000 - 6000 químicos diferentes, siendo algunos, tóxicos para los microorganismos de un sistema de lodos activados, pudiendo desestabilizarlo. Específicamente para la industria de celulosa, se han encontrado ciertos compuestos del efluente, que pueden tener efectos negativos en el sistema de tratamiento biológico. Dentro de estos, se encuentran, extractivos de la madera, sulfato y organoclorados, los que pueden presentar toxicidad. Además, se ha encontrado dentro de este rubro, que los biocidas, ácido acético monoclorado, jabón suave y trementina, inhiben la absorción de oxígeno y por lo tanto, tienen un efecto tóxico agudo sobre el lodo activado, afectando la tasa de consumo de oxígeno y la eliminación de materia orgánica disuelta (Sarlin *et al.*, 1999).

Uno de los compuestos con posibles efectos negativos sobre el sistema de tratamiento biológico, es el licor negro. Dentro de la industria de celulosa, se manejan grandes cantidades de licores que pueden ser tóxicos para los microorganismos. Dentro de ellos, el licor negro es uno de los más tóxicos, pudiendo llegar a la planta de tratamiento de aguas, a través de un derrame accidental (Sandberg, 2009).

Un derrame tóxico puede afectar al consorcio microbiano establecido, desestabilizando el sistema, disminuyendo su actividad y por tanto la eficiencia de eliminación. Dado que el tratamiento eficaz, en una condición de operación normal, depende de una alta concentración de microorganismos activos, puede tomar un largo tiempo hasta que la planta de tratamiento se recupere (Sandberg and Holby, 2008). La Tabla 4, da a conocer algunos efectos provocados por sustancias tóxicas que ingresan a sistemas de tratamiento biológicos.

Tabla 4. Efectos observados a partir de shocks tóxicos aplicados a sistemas de tratamiento biológico aeróbico.

Tecnología	Sustancia adicionada	Efectos	Referencia
Lodos activados	Sulfuro	Debilitamiento y desintegración de los flóculos en presencia de Fe(III)	Nielsen and Keiding (1997)
Lodos activados	Biocidas, ácido acético monoclórico, jabón suave y trementina	Inhibición de la velocidad de utilización de oxígeno (VUO) del lodo activado	Sarlin <i>et al.</i> (1999)
Lodos activados	Sulfato de aluminio y abrillantador óptico	Mala decantación del lodo	Sarlin <i>et al.</i> (1999)
Lodos activados y SBR	Fenol Cianuro	Cambio en la dominancia de ciliados fijos	Papadimitriou <i>et al.</i> (2007)
MultiBio	Licor negro e Hidróxido de sodio	Inhibición de la eficiencia de eliminación a una DQO de 1300 mg/L en presencia de pH básico y a 2500 mg/L a pH neutro	Sandberg and Holby (2008)
MultiBio	Licor negro	En los primeros compartimentos, reducción de la actividad biológica y la eficiencia de eliminación. Desaparición de protozoos.	Sandberg (2009)

SBR: Secuencial Batch Reactor

2. HIPOTESIS

Existe una relación entre indicadores fisicoquímicos y biológicos que permite determinar el nivel de estabilidad de un sistema de lodos activados.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar la estabilidad de un sistema de tratamiento de lodos activados sometido a shock tóxico a través de indicadores fisicoquímicos y biológicos.

3.2 Objetivos específicos

Determinar la eficiencia de eliminación de materia orgánica de un sistema de lodos activados bajo condiciones de operación normal y de shock tóxico.

Evaluar el comportamiento de los indicadores fisicoquímicos y biológicos en un sistema de lodo activados bajo condiciones de operación normal y de shock tóxico.

Relacionar el comportamiento de los indicadores fisicoquímicos y biológicos, eficiencia de depuración y las condiciones de operación de un sistema de lodos activados.

4. METODOLOGIA

4.1 Influyente

Se utilizó un efluente proveniente de una industria de celulosa kraft de la región del Biobío, que utiliza como materia prima las especies *Eucalyptus globulus* y *nitens*, y que cuenta con sistema ECF de blanqueo. La toma del efluente, se realizó después del tratamiento primario de la planta, que consiste en la eliminación de sólidos suspendidos, mediante sedimentadores. El efluente fue almacenado en bidones de 30 L y refrigerado a 4 °C, en oscuridad.

Para la condición de shock tóxico, se añadió al influente normal, licor negro proveniente de la industria de celulosa kraft, al cual se le midió el pH y la concentración de DQO.

Antes de la utilización del influente, fueron controlados y registrados los parámetros, pH, temperatura, conductividad y DQO. Adicionalmente, fueron evaluados color y ciertos compuestos específicos, mediante técnicas espectrofotométricas descritas por Çeçen (2003).

En toda condición de operación, el influente fue suplementado con nitrógeno en forma de urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), para alcanzarla proporción óptima de $\text{DBO}_5:\text{N}:\text{P}$ (100:5:1). Además, el pH se mantuvo en torno a la neutralidad, siendo ajustado con ácido clorhídrico (HCl), cuando presentó valores mayores a 7,5.

4.2 Sistema de lodos activados

4.2.1 Inóculo

La biomasa bacteriana utilizada como inóculo, fue obtenida de la línea de recirculación de un reactor de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas de la industria de celulosa kraft. Se transportó en un bidón de 5 L y fue almacenada y refrigerada a 4 °C, en oscuridad. Se le determinó la concentración de sólidos y la actividad de la biomasa microbiana.

4.2.2 Reactores

Se instaló un sistema continuo de lodos activados a escala laboratorio, ubicado en la Planta Piloto de Investigación del Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental, en la Facultad de Ciencias Ambientales y el Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, de la Universidad de Concepción.

Se utilizaron dos reactores de lodos activados, denominados Reactor 1 (R1, Blanco) y Reactor 2 (R2, Prueba), presentados en la Figura 7, cada uno con un volumen útil en el tanque de aireación de 0,920 L y 0,823 L, respectivamente.

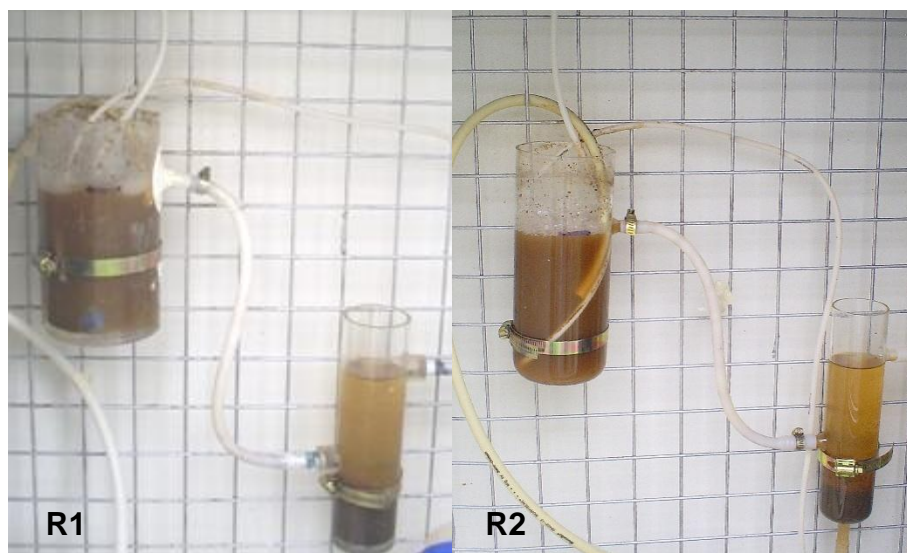


Figura 7. Reactores de lodos activados. R1: Reactor 1, R2: Reactor 2.

Cada reactor fue inoculado con 5 mgSSV/L. Se utilizaron dos bombas Masterflex, una para la alimentación y otra para la recirculación, de ambos reactores.

4.2.3 Operación

Los sistemas de lodos activados fueron operados en flujo continuo, por un periodo de 103 días, ambos a una temperatura promedio de $25,43 \pm 2,12^{\circ}\text{C}$. La operación de los sistemas se realizó a un TRH de 2 días, en una etapa de adaptación, la cual abarcó 20 d, y TRH de 1 día en período de operación, etapa de 83 d. La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo sobre 2 mg/L mediante un difusor de oxígeno, que además permitió la mezcla completa de la biomasa suspendida. Con respecto a la recirculación del sistema, esta se mantuvo en 1,2 veces el caudal de entrada.

La estrategia de operación consideró, una condición de operación normal para R1, siendo alimentado con influente crudo y, una condición de shock tóxico para R2, siendo desestabilizado mediante la alimentación de influente con licor negro, durante 24 horas.

Para la desestabilización de R2, se realizaron 4 shocks tóxicos, agregando al influente normal, licor negro proveniente de una planta de celulosa kraft. Los shocks fueron aplicados por 24 horas, los días 61, 83, 91 y 97 de operación, y fueron denominados como, S1 (Shock 1), S2 (Shock 2), S3 (Shock 3) y S4 (Shock 4), respectivamente. Se añadieron, 2, 4, 10 y 30 mL de licor negro por litro de influente normal, consiguiendo aumentos de la VCO promedio de 203, 233, 408 y 743%, para S1, S2, S3 y S4, respectivamente.

Para evaluar la evolución de los sistemas biológicos, en ambas condiciones de operación, se determinaron parámetros en el reactor, tales como, oxígeno disuelto, pH, temperatura, y conductividad, estos tres últimos medidos también en el efluente. Además, se determinó la eficiencia de eliminación de materia orgánica en las formas de DQO y DBO_5 , y de color y compuestos específicos detectables al ultravioleta. Con respecto a la biomasa se midió la concentración de sólidos suspendidos totales y volátiles, y se realizó una observación general de microorganismos, en ambos reactores. Para determinar si la concentración de nutrientes era la adecuada, se analizó el nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT), contenido en el influente y efluente.

Por otro lado, para evaluar la estabilidad del sistema, se analizó semanalmente en operación normal, el IVL, la actividad de la biomasa y se realizó conteo de microorganismos indicadores, este último efectuado solo en R2. Para la condición de desestabilización, los análisis fueron realizados con mayor frecuencia. Durante cada hora (entre hora 1 a 8 y hora 24), se monitorearon en R2, los parámetros, pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto. Mientras que en las horas 2, 6 y 24, se determinó el IVL, la actividad de la biomasa y se observaron los microorganismos indicadores.

4.3 Técnicas analíticas

4.3.1 Parámetros fisicoquímicos y biológicos

La determinación de los parámetros físico químicos, para el influente, reactor y efluente, se realizó mediante las técnicas analíticas que se detallan a continuación. Específicamente, las muestras utilizadas en el análisis de, DQO, DBO₅, color, compuestos y nutrientes, fueron previamente filtradas por membrana Wathman de 0,45µm.

- pH y conductividad: Fueron medidas a través de un pH metro WTW Inolab pH level 1.
- Temperatura y oxígeno disuelto: Fueron medidos a través de un electrodo de oxígeno WTW Oxycal 323B.
- DQO: Se determinó sobre muestras solubles, mediante el método colorimétrico de reflujo cerrado 5220-D, del Standard Methods (APHA, 2005) a 600 nm, a través del equipo, Thermo Spectronic modelo Genesis 10 UV.
- DBO₅: Fue determinada sobre muestras solubles, por la prueba de DBO del quinto día, 5210-B (APHA, 2005). Se empleó un volumen suficiente

para que la concentración de oxígeno disuelto se reduzca a la mitad, durante 5 días de incubación a 20°C.

- Sólidos: Los SST (Sólidos Suspendidos Totales) fueron determinados según el método 2540 D, y los SSV (Sólidos Suspendidos Volátiles), por el método 2540 E (APHA, 2005).
- Color: Se determinó espectrofotométricamente a una longitud de onda de 440 nm, en cubeta de vidrio 1×1 cm, a través del equipo Thermo Spectronic modelo Genesys 10 UV. A la muestra utilizada se le ajustó el pH a 9, con ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido de sodio (NaOH), según fue necesario.
- Compuestos específicos: Se midieron, compuestos fenólicos totales (UV 215 nm), lignina y derivados (UV 272 nm y UV 280 nm), compuestos aromáticos (UV 254 nm) y ácidos lignosulfónicos (UV 346 nm), en cubeta de cuarzo 1×1 cm, según describe Çeçen (2003). Todas las mediciones espectrofotométricas se efectuaron con el equipo Thermo Spectronic modelo Genesys 10 UV.
- Nitrógeno total (NT) y Fósforo total (PT) se determinaron mediante kit específicos de Spectroquant NOVA-60 de Merck.

4.3.2 Determinación de IVL

Debido al volumen de los reactores, no fue posible tomar la muestra de 1 L de lodo requerida por el Standar Method. Así, la determinación del IVL se realizó tomando una muestra de 100 mL de lodo, dejándolo decantar por 30 minutos en una probeta graduada de 100 mL. Esta medición se realizó una vez por semana a cada reactor y cada 2 horas al reactor R2, durante los shocks tóxicos. Para obtener el valor del IVL, se realizó la medición de sólidos suspendidos totales de la muestra de lodo utilizada.

4.3.3 Determinación de la actividad heterótrofa de la biomasa

Se evaluó la actividad heterótrofa de la biomasa a través de análisis respirométrico, determinando el oxígeno consumido por los microorganismos durante la degradación de un sustrato orgánico, en este caso, acetato de sodio (CH_3COONa). Para realizar el análisis, el lodo fue lavado 3 veces con una solución de tampón fosfato en base a fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) y dibásico (K_2HPO_4), a pH 7. Luego del lavado, el lodo se aireó por 30 minutos, hasta la saturación.

La concentración de biomasa utilizada en el ensayo fue de 0,8 - 1 mgSSV/L, para un volumen de muestra de 10 mL. El análisis respirométrico se basó en el protocolo de Mosquera *et al.* (2005), con mediciones cada 15 segundos.

4.3.4 Observación microscópica de la biomasa y conteo de microorganismos indicadores

Se observaron microorganismos presentes en el licor de mezcla en suspensión para evaluar la calidad del lodo. El análisis microscópico se llevó a cabo con las muestras frescas, utilizando un microscopio óptico Leica Microsystems, modelo DM500. Mediante el acople de una cámara digital al lente del microscopio, se pudo capturar fotografías de la biomasa presente, para su posterior identificación.

Para la estimación de la densidad de microorganismos indicadores, correspondientes a ciliados fijos y rotíferos, se realizó un recuento directo de una alícuota de 25 μl , extraída con una micropipeta automática. Se realizaron 3 réplicas para cada muestra. La abundancia se expresó como el número de organismos por unidad de volumen (organismos/mL) (Martín-Cereceda *et al.*, 1996).

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Caracterización fisicoquímica del influente

El influente, cuya caracterización se observa en la Tabla 5, fue el utilizado en la condición de operación normal en R1 y R2, y fue al cual se le añadió licor negro para su aplicación en la condición de shock tóxico.

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica de influente de celulosa kraft.

Parámetro	Unidad	Rango	Promedio
pH		6,67 - 7,90	7,27 ± 0,31
CE	mS	2,69 - 2,94	2,81 ± 0,08
DBO ₅	mg/L	143,2 - 284,6	227,0 ± 60,7
DQO	mg/L	282,5 - 677,2	448,5 ± 133,5
SST	g/L	0,17 - 0,96	0,48 ± 0,26
SSV	g/L	0,12 - 0,62	0,32 ± 0,18
Color (pH 9, VIS 440 nm)	Abs	0,11 - 0,21	0,14 ± 0,03
Ácidos lignosulfónicos (UV 346 nm)	Abs	0,43 - 0,60	0,51 ± 0,07
Fenoles totales (UV215 nm)	mg/L	75,6 - 149,2	108,6 ± 23,6
PT	mg/L	1,3 - 2,1	1,7 ± 0,3
NT	mg/L	<0,5	<0,5
Sulfato	mg/L	211,8 - 239,8	225,8 ± 19,80

CE: Conductividad Eléctrica; DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno; DQO: Demanda Química de Oxígeno; SST: Sólidos Suspendidos Totales; SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles, NT: Nitrógeno Total, PT: Fósforo Total.

La caracterización del influente utilizado en condición de operación normal, mostró rangos de variabilidad en el pH, en torno a la neutralidad (6,7 - 7,9), siendo casi innecesario su ajuste para el ingreso a los reactores, lo que se realizó sólo en los casos en que el pH fue mayor a 7,5. La conductividad en tanto, tiende a tener un rango relativamente constante de 2,70 - 2,94 mS, el que fue posible utilizar como una línea de base para la comparación con las mediciones de conductividad en el influente utilizado en los shocks. En cuanto a la concentración de materia orgánica, el influente presentó valores promedio

de $448,7 \pm 133,5$ mg/L para DQO, y de $252,0 \pm 76,7$ mg/L para DBO₅, correspondiendo esta última a compuestos fácilmente biodegradables, tales como, carbohidratos y ácidos orgánicos (Chamorro *et al.*, 2005). Se han obtenido valores similares en investigaciones realizadas con efluente del tratamiento primario de la industria celulosa kraft, con rangos de 444,5 - 491,4 mg/L para DQO y de 150,0 - 168,0 mg/L para DBO₅ (Pozo *et al.*, 2011; Villamar *et al.*, 2009). La biodegradabilidad del efluente, se determinó a través de la relación DBO₅/DQO, la cual indicó un valor promedio de 0,46, evidenciándose la presencia de compuestos recalcitrantes. Estos compuestos podrían corresponder a, compuestos aromáticos, lignina y sus derivados, los que además de aportar en el valor de la DQO, causan el color observado en el efluente con rangos de absorbancia de 0,106 – 0,212 (Diez *et al.*, 2002; Pozo, 2010; Villamar *et al.*, 2009). De igual manera, niveles de color con valores entre 0,086 - 0,104 Abs, fueron evidenciados en efluente secundario de celulosa en base a *Eucaliptus globulus* (Villamar, 2008).

En relación a los fenoles totales, se registraron concentraciones entre 75,6 - 149,2 mg/L. Estos valores, fueron inferiores a los presentados por Villamar *et al.* (2009), con rangos de 117,2 - 150,0 mg/L, y Chamorro *et al.* (2005) con rangos entre 190,0 - 350,0 mg/L. Cabe mencionar, que en la determinación del contenido de fenoles, es necesario considerar la especie arbórea utilizada, ya que, fenoles totales han sido reportados en concentraciones más altas, para efluentes de *Pinus radiata*, en un estudio con promedio de $248,7 \pm 0,5$ mg/L, en comparación a valores obtenidos de efluentes de *Eucalyptus globulus*, anteriormente descritos (Pozo *et al.*, 2011).

La determinación de nutrientes, realizada en las formas de nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT), presentó concentraciones menores a 0,5 mg/L para NT y de $1,7 \pm 0,3$ mg/L para PT. A partir de dichas concentraciones, se obtiene una relación promedio entre materia orgánica y nutrientes, representada como DBO₅:N:P de 100:<0,5:1,1, comparada con la relación recomendada para un óptimo funcionamiento del sistema, 100:5:1, resulta deficiente en nitrógeno (Diez *et al.*, 2002). Debido a lo anterior, el influente debió ser suplementado con

urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), para aumentar la proporción de nitrógeno a los niveles requeridos por los microorganismos.

Al influente anteriormente descrito, denominado influente normal, se le añadieron distintos volúmenes de licor negro, dependiendo del shock a aplicar. Luego de una mezcla completa y ajuste de pH, el influente de shock fue alimentado a R2, por 24 h. Se consideró un aumento progresivo de la concentración de licor negro, de esta manera, fueron agregados al influente normal, 2, 4, 10 y 30 mL/L de licor negro, en S1, S2, S2 y S4, respectivamente.

En la Tabla 6, se presenta la caracterización realizada al influente alimentado durante cada shock tóxico.

Tabla 6. Caracterización de influente utilizado en shock tóxico

Shock	pH	DQO (mg/L)	CE (mS)
S1	7,50	882,9 ± 2,3	3,74 ± 0,02
S2	7,07	1014,5 ± 18,5	3,65 ± 0,02
S3	7,27	1773,5 ± 81,3	4,22 ± 0,02
S4	7,45	3225,0 ± 116,0	7,53 ± 0,02

DQO: Demanda Química de Oxígeno, CE: Conductividad Eléctrica, S1: Shock 1, S2: Shock 2, S3: Shock 3, S4: Shock 4

Debido a la basicidad que presenta el licor negro, con un pH mayor a 12, el pH de los influentes de cada shock, fue ajustado con ácido clorhídrico (HCl), obteniéndose en todos los casos, valores cercanos a la neutralidad, entre 7,07 - 7,5, al igual que el influente normal.

La regulación de pH, replica lo que se produciría en una planta real, en la que antes del ingreso del influente, existe una cámara de neutralización con ajuste de pH. Lo anterior, es de vital importancia, ya que, se ha establecido que para un mismo shock con licor negro, un pH normal en el influente, produce una menor inhibición de la biomasa, que un pH no estabilizado (Sandberg, 2008).

Por otro lado, en relación a la concentración de materia orgánica, se observa el aumento en los niveles de DQO, debido a la adición del licor negro. A mayor cantidad de licor negro añadida al influente, mayor DQO obtenida. De esta manera, considerando como valor normal de DQO, $448,7 \pm 133,5$ mg/L, se obtuvo un aumento de 197, 226, 395 y 719% en S1, S2, S2 y S4, respectivamente. Ha sido documentada la utilización de licor negro para la realización de shock tóxico en sistemas de lodos activados, con concentraciones de DQO en el influente de entre, 888 - 1965 mg/L por 24 h, las que consideran aumentos entre 154 a 243%, con respecto al influente normal, siendo similares a las este estudio hasta S2 (Sandberg, 2009).

Otro parámetro, que se vio significativamente modificado, fue la conductividad. Se observó un incremento de ésta, a medida que el influente contenía mayor cantidad de licor negro. Así, se vio aumentada, desde una condición normal de $2,82 \pm 0,08$ mS, a $7,53 \pm 0,02$ mS, en S4. Este incremento pudo incidir en la solubilidad del oxígeno y dio cuenta de la cantidad de iones en disolución que pudieran resultar tóxicos para los microorganismos (EPA, 2014).

5.2 Caracterización del inóculo

Se realizó la medición del contenido de sólidos presentes en el lodo con el fin de inocular 5 gSSV/L en cada reactor. Además, se determinó la actividad de la biomasa, para poder evaluar el comportamiento de ésta a lo largo de las distintas condiciones de operación. En la Tabla 7, se observan los parámetros analizados en el lodo.

Tabla 7. Caracterización del inóculo

Parámetro	Unidad	Valor
SST	g/L	$17,80 \pm 0,02$
SSV	g/L	$15,12 \pm 0,02$
SSV/SST		0,85
VUO	mgO ₂ /L·min	$0,137 \pm 0,006$
Actividad heterótrofa	mgO ₂ /gSSV·min	$0,050 \pm 0,023$

SST: Sólidos suspendidos totales; SSV: Sólidos suspendidos volátiles; VUO: Velocidad Utilización de Oxígeno.

El lodo presentó una concentración de SST de 17,8 g/L, de los cuales, 15,12 g/L correspondieron a SSV. La cantidad de sólidos, indica que el lodo provenía de la línea de recirculación del sistema de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas de la industria de celulosa, en la que los valores de SSV deben ser de alrededor de 10 g/L (Metcalf y Eddy, 1995). Por otra parte, la biomasa, presentó una tasa de Velocidad de Utilización de Oxígeno (VUO) de $0,137 \pm 0,006$ mgO₂/L·min, encontrándose en condiciones óptimas de transferencia de oxígeno para su activación en el reactor. La actividad heterótrofa, por su parte, demuestra el estado de renovación de los microorganismos. Se observa que está por debajo de la velocidad de consumo, con un promedio de $0,050 \pm 0,023$ mgO₂/gSSV·min. Pozo *et al.* (2011), reportaron, para inóculo de un sistema biológico con influente de celulosa kraft, valores de VUO de $0,30 \pm 0,01$ mgO₂/L·min, mientras que la actividad heterótrofa fue $0,12 \pm 0,02$ mgO₂/gSSV·min, siendo ambos valores superiores a los estudiados en este caso. Sin embargo, es necesario considerar que la biomasa debe ser adaptada a las condiciones de tratamiento, por tanto, una vez acondicionada es previsible que alcance su máxima actividad.

5.3 Operación de los sistemas de lodos activados

Uno de los parámetros fundamentales en la operación de un sistema de lodos activados, es la VCO, que junto al TRH, determinan la cantidad de materia orgánica y el tiempo en que esta estará en contacto con la biomasa en el tanque de aireación (Chamorro, 2005). En la Figura 8, se observa la evolución en el tiempo de la VCO en los dos reactores.

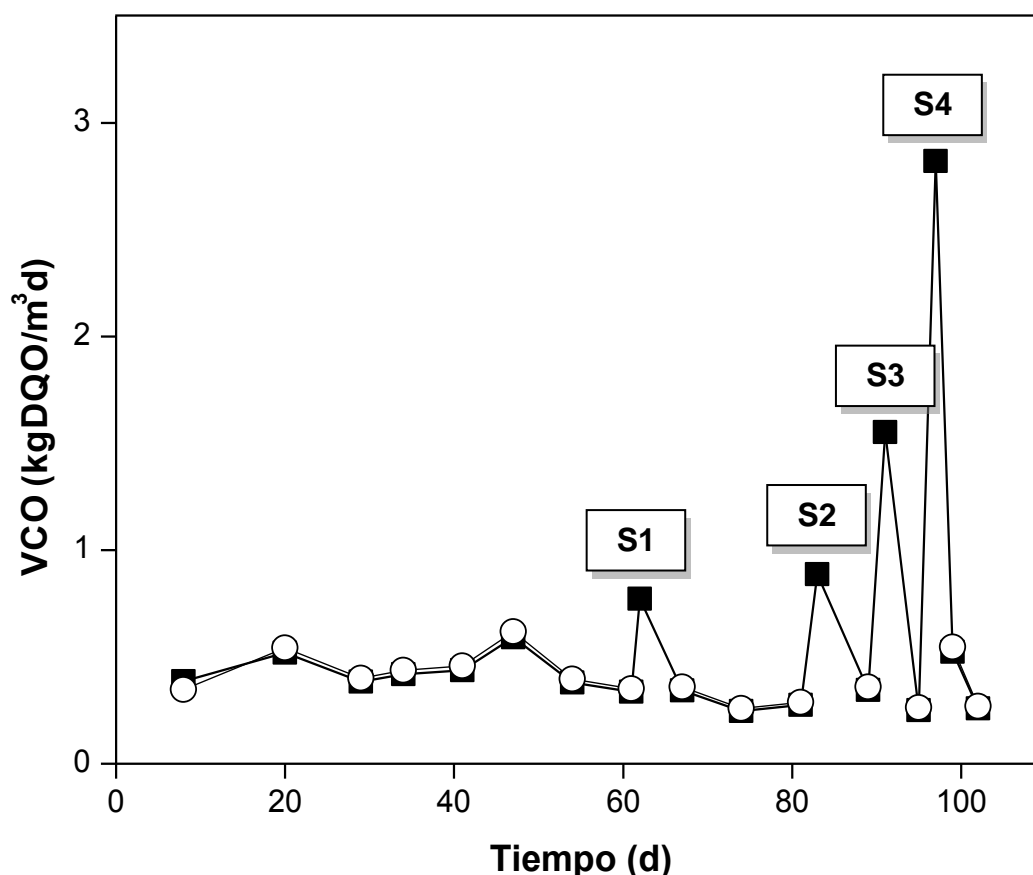


Figura 8. Evolución del Velocidad de Carga Orgánica (VCO) en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■), donde S1: Shock 1, S2: Shock 2; S3: Shock 3; S4: Shock 4.

Es posible observar, que durante todo el período de operación en R1 y para los períodos sin shock en R2, la VCO se mantuvo relativamente constante, con valores promedio de $0,39 \pm 0,11$ y $0,38 \pm 0,11$ kgDQO/m³·d, respectivamente. Dichos valores, fueron similares a los reportados por Vergara (2013), operando un sistema biológico aeróbico con influente de celulosa kraft con una VCO de $0,343 \pm 0,001$ kgDQO/m³·d.

Específicamente, en R2, la VCO osciló entre 0,24 - 2,82 kgDQO/m³·d. Este rango fue tan amplio, debido a que cada shock consideró un aumento de VCO. Así, a partir del día 60, se observan en la Figura 8, los 4 picks, representando cada uno, un shock tóxico. Específicamente, durante S1 y S2 los valores fueron de VCO fueron 0,77 y 0,89 kgDQO/m³·d, respectivamente. Estos valores, son 2,0 y 2,3, veces el valor promedio de VCO normal. Por otro lado, en S3, la VCO fue de 1,55 kgDQO/m³·d, representado un aumento de 4,1 veces. Finalmente, en S4, la VCO fue de 2,82, implicando un aumento de 7,4 veces la VCO normal. Estos valores, concuerdan con los presentados por Sandberg (2009), durante la aplicación de shock de licor negro en el sistema de lodos activados.

Como se mencionó anteriormente, junto con la VCO, un parámetro fundamental, es el TRH. En la Figura 9, es posible observar la variación del TRH en los reactores.

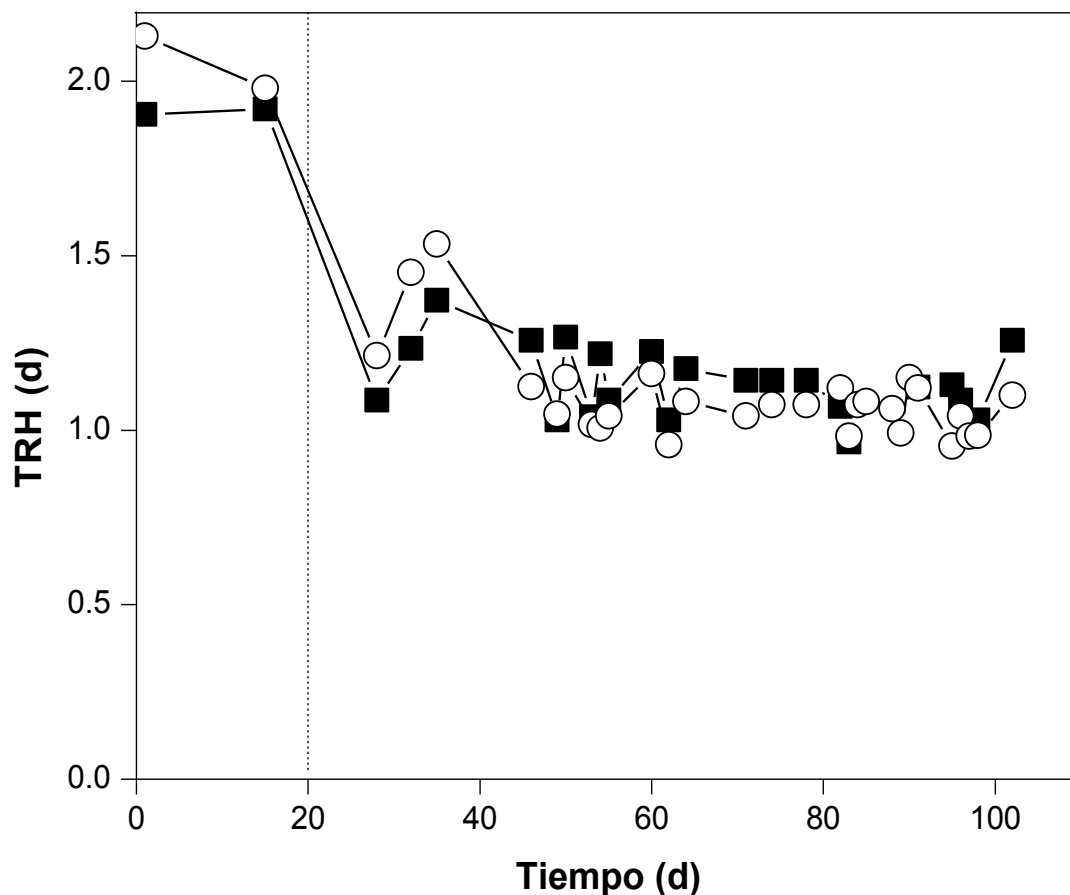


Figura 9. Evolución del Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).

Entre los días 1 y 20, el TRH fue de $2,08 \pm 0,06$ y $1,92 \pm 0,04$ d, para R1 y R2 respectivamente. Este período, fue denominado de puesta en marcha, con el fin de permitir la adaptación de la biomasa a las nuevas condiciones ambientales y operativas. Luego, el TRH fue disminuido a $1,09 \pm 0,13$ y $1,12 \pm 0,10$ d, en R1 y R2, respectivamente.

Cabe mencionar, que la variabilidad del TRH durante ambos períodos, fue debido a la obstrucción de mangueras y a procesos de evaporación en el tanque de aireación, sedimentación y en los bidones receptores de efluente, a causa de las elevadas temperaturas en el sitio de implementación de las cámaras de los reactor reactores.

Otro parámetro estudiado, fue la concentración de sólidos, que indica la cantidad de materia orgánica e inorgánica del reactor. La Figura 10, presenta la concentración de biomasa de los reactores durante el período de operación.

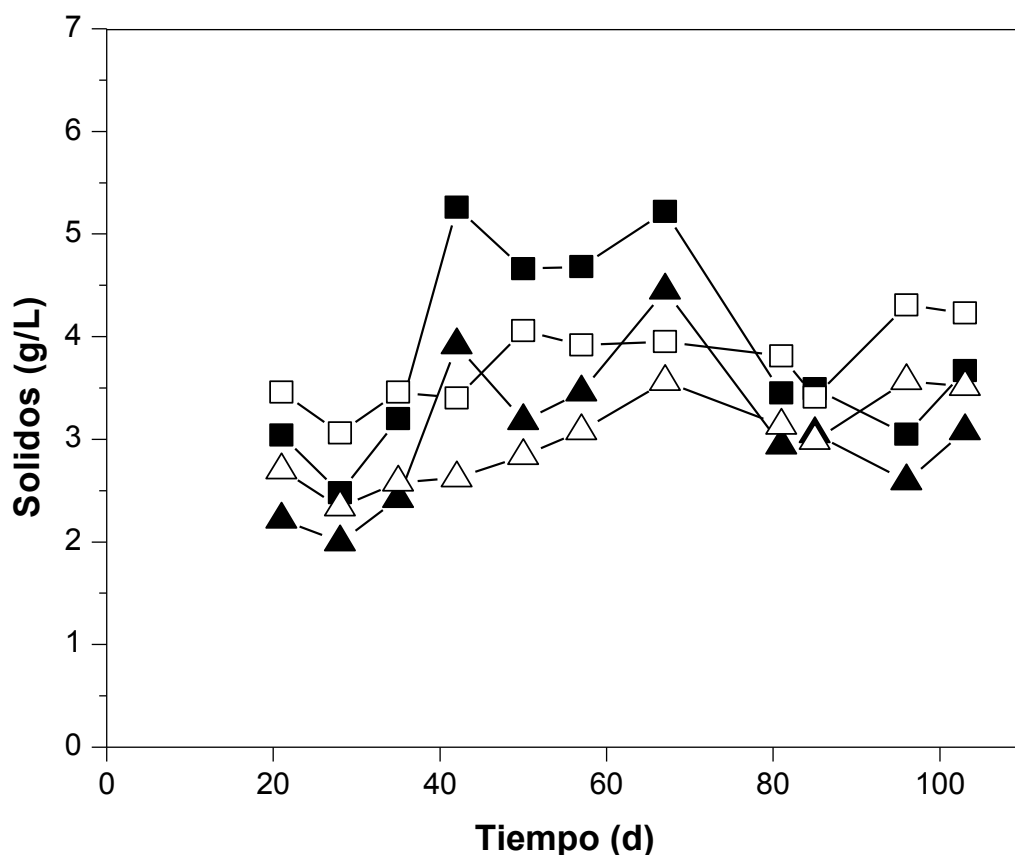


Figura 10. Concentración de SST en R1 (Blanco) (□) y R2 (■) y de SSV, en R1 (△) y R2 (▲).

En particular, los SSV representan la biomasa en el tanque de aireación, la que osciló entre 2,1 - 3,6 g/L, en R1, y 2,0 - 4,45 g/L en R2. Dichas concentraciones, coinciden con las reportada por Xavier *et al.* (2009), operando un sistema de lodos activados con 2 - 6 gSSV/L. Cabe señalar que la concentración de sólidos se mantuvo dentro de los niveles de la condición de operación normal, durante todos los shocks aplicados. Lo anterior, debido a la tasa de recirculación, que permitió mantener estable la concentración de sólidos en el reactor y a que no se presentó ningún fenómeno que implicara la salida de biomasa del sistema.

Parámetros operacionales, tales como, pH, T y OD, fueron monitoreados en forma continua para llevar un control del sistema. El comportamiento del pH, presentado en la Figura 11, evidenció una tendencia constante en el tiempo, tanto para el influente y efluente.

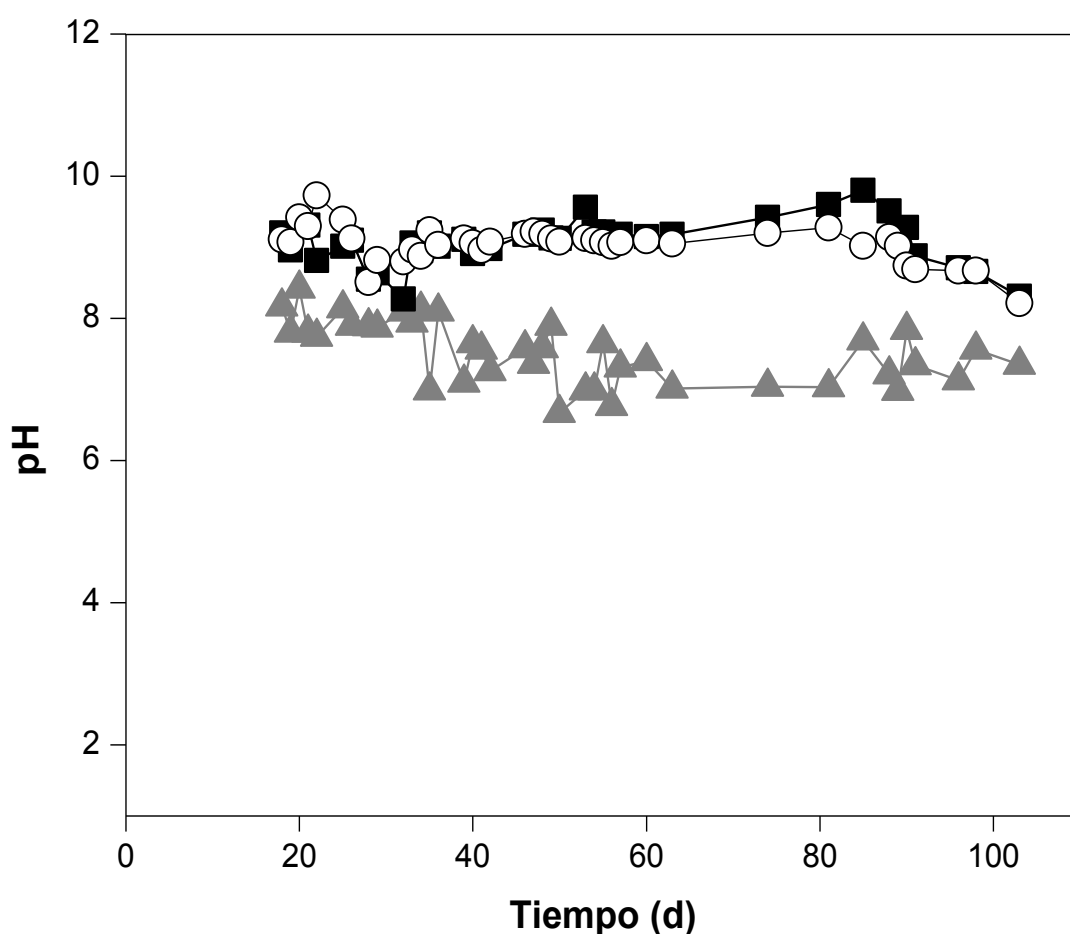


Figura 11. Evolución del pH en el influente (▲) y en el efluente de los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).

En el influente, el pH promedio fue de $7,47 \pm 0,43$, siendo adecuado para el óptimo desarrollo de los microorganismos, tanto en la condición de operación normal como de shock tóxico. Esto adquiere vital importancia, ya que, se ha determinado que la neutralización del pH de un influente tóxico, implica un menor impacto de éste en el sistema de biológico (Sandberg and Holby, 2008).

Por otro lado, en el efluente, se observó un aumento del pH, con valores promedio de $9,04 \pm 0,26$ y $9,08 \pm 0,31$, para los reactores R1 y R2, respectivamente. Esta situación se produjo, tanto en condición normal, como de shock tóxico, y pudo ser consecuencia de la degradación de microorganismos que generan un aumento del pH en el reactor y por tanto en el efluente, lo que también fue reportado por Vergara (2013) (Ramalho, 1996).

La evolución de la temperatura y el oxígeno disuelto, son presentados en la Figura 12.

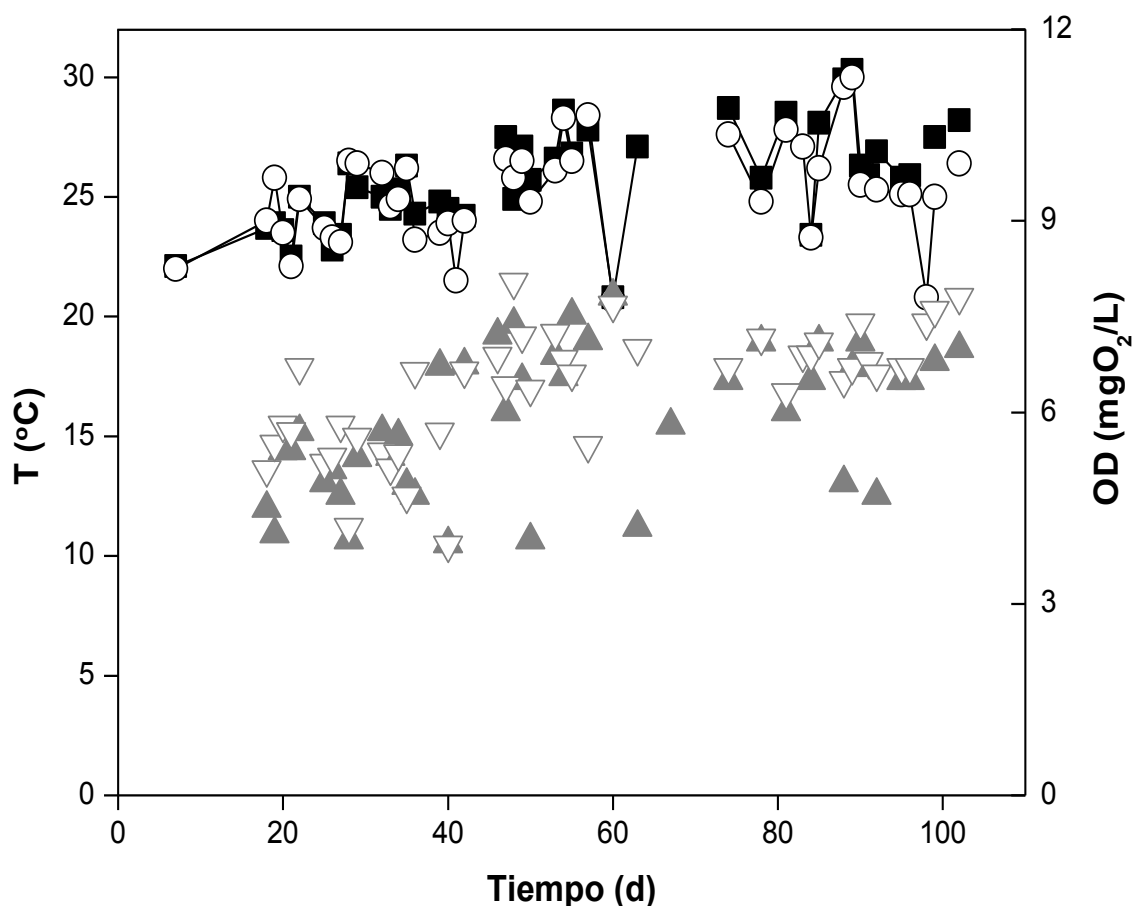


Figura 12. Evolución de la Temperatura (T) en R1 (Blanco) (○) y R2 (■) y del Oxígeno Disuelto (OD) en R1 (▽) y R2 (▲).

En ambos reactores, durante todo el período de funcionamiento, existió una variabilidad, tanto para la temperatura como para el oxígeno disuelto, relacionada a los cambios de estacionalidad.

El OD se mantuvo, en operación normal y durante los shocks tóxicos, dentro del rango de 3,92 - 8,04 mgO₂/L, con un valor siempre superior al sugerido por Diez *et al.* (2002) de 2 mgO₂/L.

Dado que los microorganismos en un proceso aeróbico consumen el OD, la transferencia de oxígeno puede ser limitante para un tratamiento eficiente. En particular, para el caso de los shocks tóxicos, derrames con una alta concentración de DQO, como S3 y S4, pueden disminuir la concentración de oxígeno disuelto y por tanto, inhibir la eficiencia de eliminación (Sandberg and Holby, 2008). Además, como se mencionó anteriormente, la temperatura influye en la solubilidad del oxígeno, existiendo a mayor temperatura menor solubilidad del gas. En este caso, las alzas de temperatura debido a la estacionalidad, pudieron tener efecto en la concentración de OD. No obstante, todas las situaciones que pudieron haber incidido en la concentración o transferencia del OD en el reactor, la aplicación de aireación fue muy controlada, por tanto este parámetro no se vio fuera del rango de operación normal, en ningún caso.

5.4 Eficiencias de eliminación de materia orgánica, color y compuestos específicos

Como consecuencia de la operación del sistema, asociada a los parámetros anteriormente analizados, se obtiene una eficiencia de eliminación de materia orgánica, la cual es el objetivo del sistema de tratamiento. Asimismo, a partir de esta eficiencia, es posible establecer una condición de estabilidad en el reactor. De esta manera, cuando el sistema presenta eficiencias de eliminación de DQO de alrededor de un 60 - 65% y de DBO₅ de un 95%, se considera estable (Metcalf y Eddy, 2003; Sandberg, 2009).

La Figura 13, muestra la eficiencia de eliminación de materia orgánica obtenida durante la operación de los reactores en términos de DQO y DBO₅.

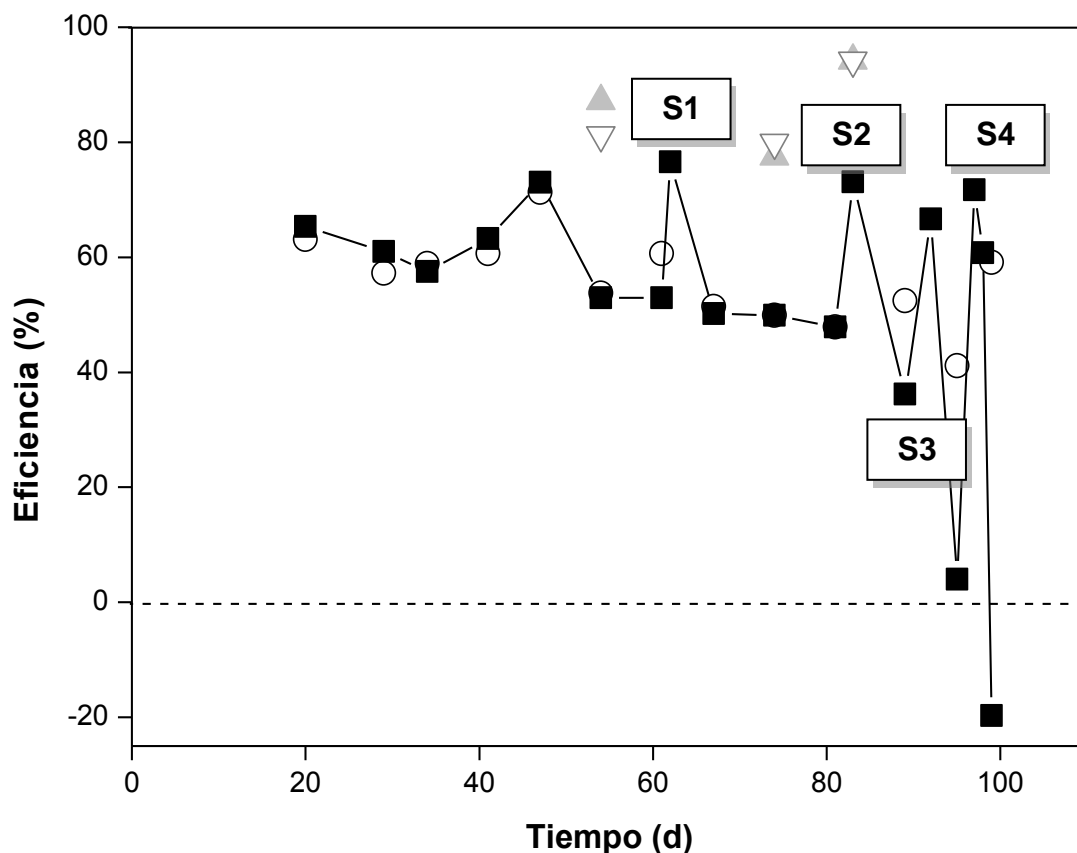


Figura 13. Evolución de las eficiencias de eliminación de DQO en R1 (Blanco) (○) y R2 (■) y de DBO₅ en R1 (▽) y R2 (▲).

Para el reactor control (R1), la eficiencia promedio de eliminación de DQO fue de $56,0 \pm 7,7\%$, alcanzando un máximo de $71,3\%$ en el día 47. Por su parte, la eficiencia de eliminación de DBO₅ fue de $85,7 \pm 7,1\%$, con un máximo medido de 81% , valores considerados típicos para un sistema de lodos activados (Pokhrel and Viraraghavan, 2004). Estos resultados, establecidos como operación normal, concuerdan con los obtenidos por Pozo *et al.* (2011), donde fueron reportadas eficiencias de eliminación de DQO de $56,0 \pm 1,2\%$ y de DBO₅ de $80,5 \pm 1,6\%$. Igualmente, Xavier *et al.* (2011), reportaron valores de eficiencia de eliminación de DQO de $63,3 \pm 10,3\%$ en un sistema de lodos activados.

Como se observa en la Figura 13, hasta el día 61, las eficiencias de eliminación de DQO fueron similares en ambos reactores. Lo anterior, indica que el reactor R2, se encontraba en operación normal antes de la aplicación de S1.

A partir del día 63, se observan oscilaciones en la eficiencia de eliminación de DQO con respecto a la condición de operación normal. Los análisis realizados después de S1, evidenciaron una eliminación de DQO de un 76,5 %. Luego, cuando el reactor vuelve a ser alimentado en influente normal, la eficiencia decae a 50%, se vuelve estable y similar a la de R1. Este aumento de eficiencia, puede deberse a que la biomasa aún permitía el ingreso de materia orgánica, tolerando una VCO, 2,0 veces la acostumbrada y a que el influente con licor negro, poseía materia orgánica disponible para los microorganismos. En S2, para una VCO, 2,3 veces superior a la normal, la eficiencia de eliminación de DQO no se vio notablemente afectada. Lo anterior es confirmado, con los estudios realizados por Sandberg and Holby (2008), que mencionan que en derrames moderados, la mayor parte de la DQO degradable será eliminada, existiendo una buena eficiencia, como en S1 y S2.

Es a partir del día 80, cuando se observan, marcadas oscilaciones, debido al ingreso de cargas orgánicas significativamente superiores. Durante S3, la VCO fue 4,1 veces superior al promedio. En tanto, durante S4, se aplicó una VCO 7,4 veces superior a la normal, lo que se evidenció en la eficiencia de eliminación, ya que es el día 99, dos días después de la aplicación de S4, cuando se obtuvo el valor más bajo de eficiencia (-19%). La disminución de eficiencia de eliminación se mantiene días posteriores de los shocks, ya que el licor negro, sigue en el sistema por un periodo prolongado. En un derrame de licor negro en planta, la tasa de degradación tardó más de 150 horas en restablecerse (Sandberg, 2009).

Considerando lo anterior, desde el día 80, las oscilaciones de eficiencia de eliminación, dan cuenta de una desestabilización de sistema, consecuencia en este caso, del ingreso de una carga orgánica elevada, aplicada en S3 y S4.

El efluente de celulosa kraft, presenta además, compuestos característicos, como ligninas y derivados, fenoles y color, los que pueden ser eliminados por el sistema de lodos activados. En la Figura 14, se observa la eficiencia de eliminación de compuestos en los reactores R1 y R2.

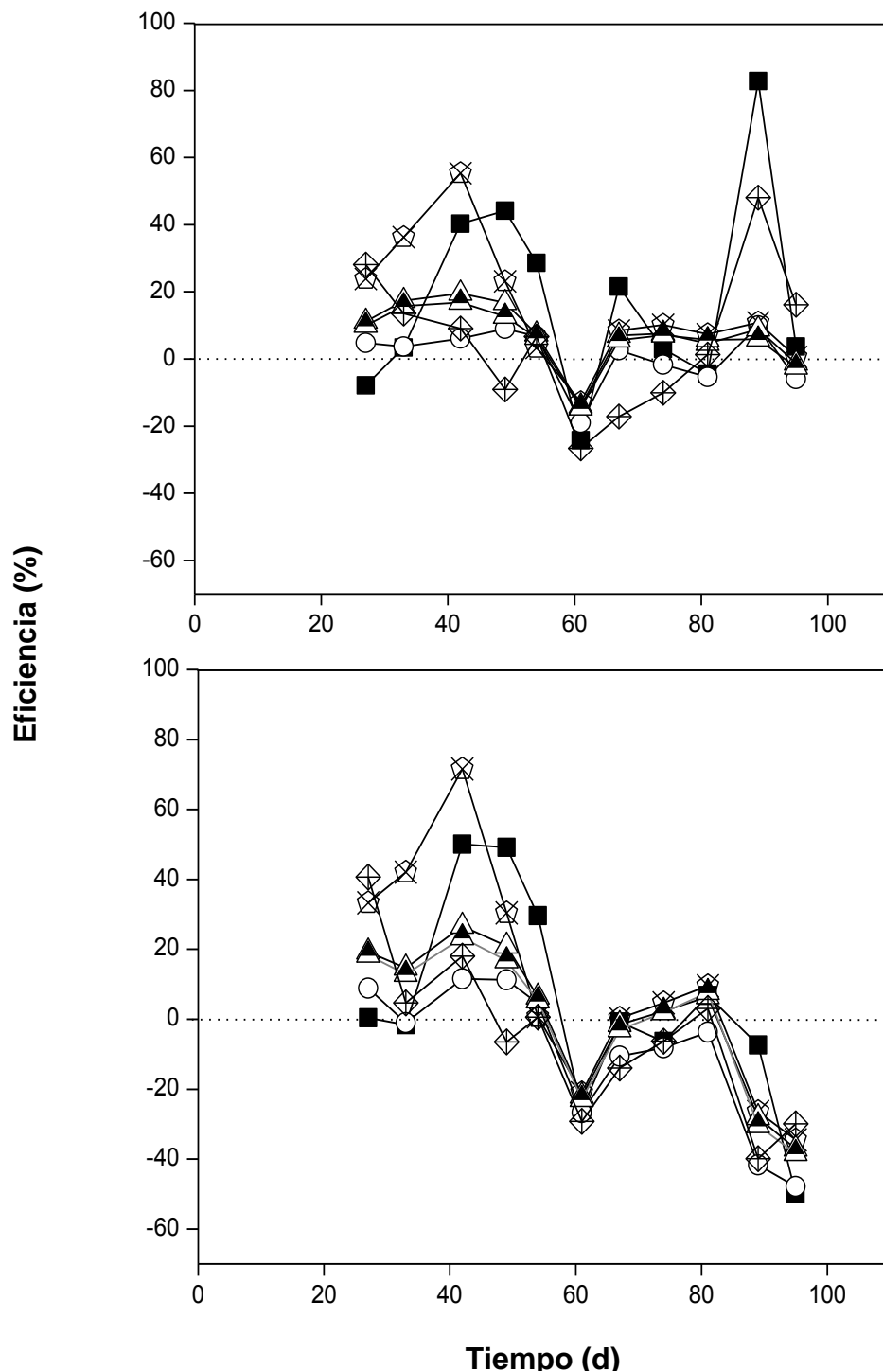


Figura 14. Eficiencia de la eliminación de compuestos, Color (■), Lignina _{280nm} (△), Lignina _{272 nm} (▲), Ácidos lignosulfónicos (○), Compuestos aromáticos (⊠), Fenoles totales _{215 nm} (◈). Arriba R1 (Control) y abajo R2.

Durante todo el proceso de operación, en ambos reactores, se observó una correlación en la eliminación de todos los compuestos y el color. Lo que concuerda con estudios que relacionan, por ejemplo, la eficiencia de eliminación de fenoles totales con la eliminación del color (Villamar, 2008).

Se observa hasta el día 61, un comportamiento de eliminación de compuestos y color, similar en ambos reactores. Hasta ese día, considerando de operación normal, para el color, la eliminación osciló entre -24 - 44 % y -26 - 50%, en R1 y R2, respectivamente. Por su parte, para fenoles totales los rangos fueron de -27 -28% y -29 - 41%, en R1 y R2. Comparando con el comportamiento de un sistema biológico con influente de *Eucalyptus globulus*, que mostró eliminación de color entre 27 - 42 % y eliminación en fenoles totales 29 - 39 %, puede decirse que son de orden similar en el rango superior (Villamar, 2008). Sin embargo, durante este estudio se obtuvo aumento de color, el día 61, cuando se alcanza la menor eficiencia de eliminación con operación normal, -27 y -29% en R1 y R2, respectivamente. Esta situación, ha sido documentada para sistema de tratamiento biológico aeróbico, en que el color aumentó entre 10 - 40% en algunos períodos. Respecto a los máximos alcanzados, se ha establecido que el color en los efluentes de celulosa kraft está estrechamente relacionado con el contenido de compuestos fenólicos, la lignina y sus derivados. Por esta razón, la pobre eliminación, podría relacionarse con la resistencia de estos compuestos para ser biodegradados (Xavier *et al.*, 2009). En este caso, las eficiencias de eliminación de lignina y sus derivados, compuestos aromáticos y ácidos lignosulfónicos, estuvieron entre, -21 – 26%, -21 - 71% y -26 - 11%, respectivamente.

A raíz de la aplicación de los shocks, se observa en R2 (Figura 14. abajo), una disminución progresiva en la eficiencia de eliminación de compuestos y color. Desde la aplicación de S2, el día 82, la eficiencia de eliminación de compuestos aromáticos, lignina y sus derivados, disminuye hasta llegar a un mínimo de -50%, 2 días después de S4. La persistencia de esta ineficiencia en la eliminación, fue producida por el alto contenido de lignina y compuestos del licor negro, que permanecen en el sistema por un largo tiempo (Sandberg and Holby, 2008).

5.5 Indicadores de estabilidad

No es posible evaluar un proceso biológico solo con medidas físicas o químicas. Es necesario considerar parámetros derivados de la propia biomasa y de la reacción del agua residual con el lodo activo. Así, adicionalmente a los parámetros de operación comúnmente establecidos para monitorear la eficiencia y estabilidad de un proceso de lodos activados, en este estudio se analizó, el IVL, la actividad de la biomasa y sus características microbiológicas, para determinar como fue afectado el sistema por los shocks tóxicos.

5.5.1 Evolución del índice volumétrico del lodo

La Figura 15, presenta la evolución del IVL durante todo el proceso de operación, para los reactores R1 y R2.

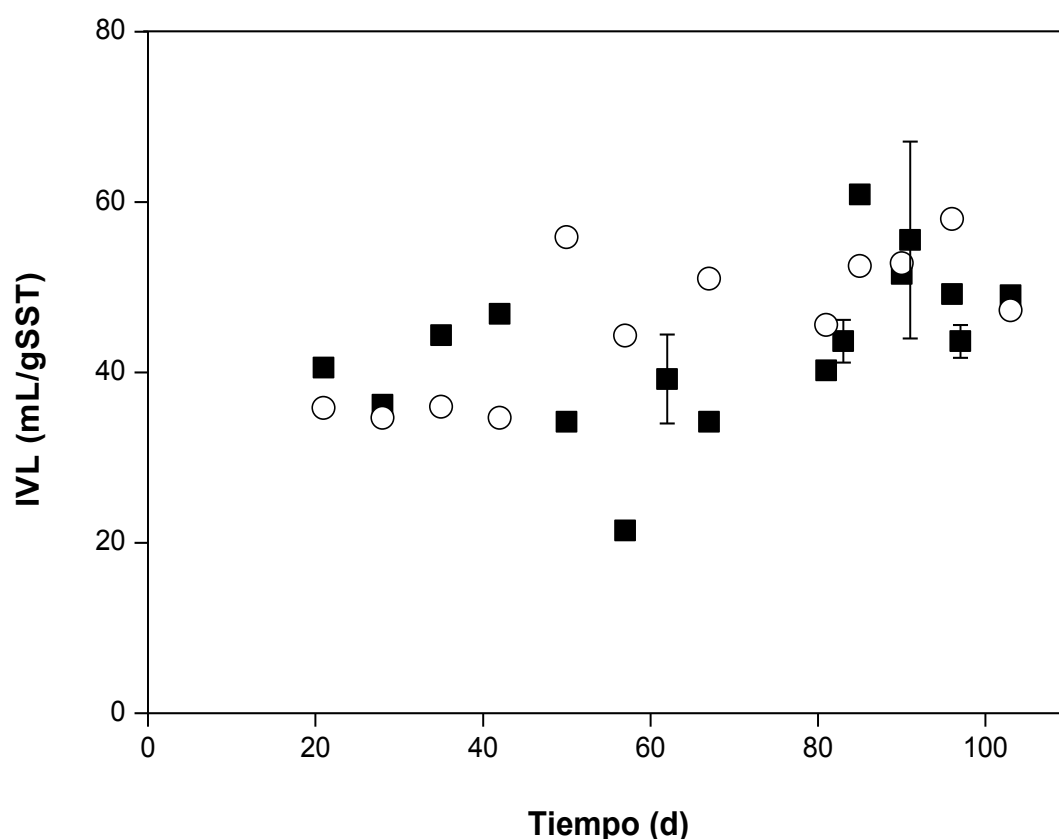


Figura 15. Índice Volumétrico del Lodo (IVL) observado en los reactores en R1 (Blanco) (○) y R2 (■).

Ciertos autores, afirman que un lodo posee buena decantación cuando presenta valores de IVL entre 35 -150 mL/gSST (Ramalho, 1996). En este caso, durante todo el proceso de operación, incluyendo durante los shocks tóxicos, el IVL tuvo valores inferiores a 65 mL/gSST, teniendo por tanto, una decantación óptima. Valores similares obtuvieron, Xavier *et al.* (2009), en un sistema de lodos activados, donde este parámetro se mantuvo alrededor de 50 mL/gSST y Sandberg and Holby (2008) con valores entre 70 - 100 mL/gSST. Sin embargo, para este estudio el valor mínimo de IVL fue de 31 mL/gSST, encontrándose levemente por debajo de los 35 mL/gSST recomendados. Esto puede estar relacionado con el tamaño del flóculo, ya que, un mayor tamaño de éste, aumenta el IVL. En este caso los flóculos fueron de tamaño medio (Sezgin *et al.*, 1982). También ese valor de IVL pudo estar influenciado por una baja concentración de sólidos en el reactor.

Para observar la evolución de la sedimentabilidad del lodo durante la desestabilización, se determinó el IVL cada dos horas durante los shocks tóxicos aplicados, lo cual es posible apreciar en la Figura 16.

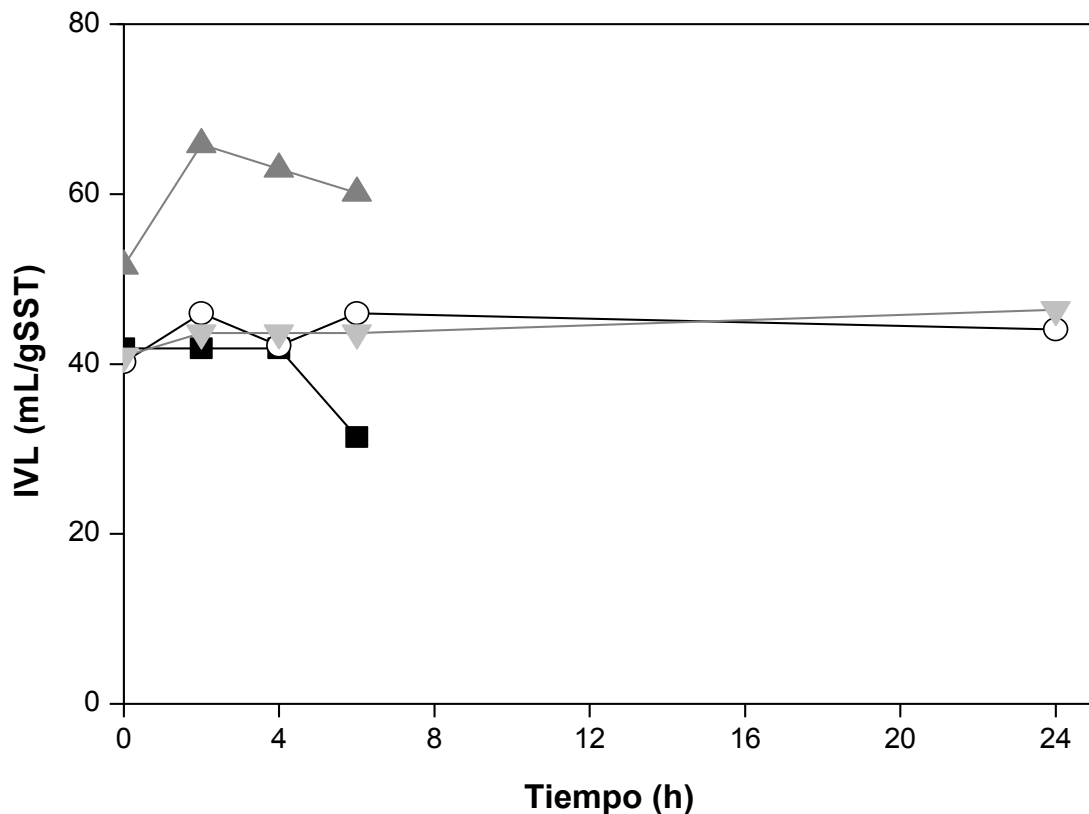


Figura16. Evolución del Índice volumétrico del lodo (IVL) durante shocks tóxicos, S1 (■), S2 (○), S3 (▲) y S4 (▼).

Se obtuvo un rango de variabilidad de 31 – 65 mL/gSST para todos los shocks, encontrándose siempre el IVL dentro del rango óptimo de sedimentabilidad. Estos valores, son similares al rango inferior obtenido en un sistema de lodos activados para VCO de hasta 6 kgDQO/m³·d, con IVL de 55 - 112 mL/gSST (Xavier *et al.*, 2009).

Se observa que los shocks tóxicos, no produjeron cambios significativos en el IVL. Ello puede deberse a que este parámetro es influenciado por diversos factores como, el tamaño de los flóculos, la concentración de sólidos y sobre todo la presencia de organismos filamentosos. Cuando la concentración de organismos filamentosos es baja y existe una concentración fija de SST en el reactor, el IVL se ve influenciado principalmente por el tamaño de los flóculos (Sezginet *al.*, 1982). Durante los shocks tóxicos no se produjeron cambios en ninguno de esos parámetros, lo que se demuestra en que el IVL presentó valores similares a los de la condición de operación normal. Igual comportamiento reportaron Sandberg and Holby (2008), que midieron concentraciones de sólidos e IVL similares al valor de referencia durante la aplicación de shocks de licor negro.

Es posible además, relacionar el IVL con la relación A/M. Lo anterior, con el objetivo de evaluar la calidad microbiológica del lodo y su capacidad de sedimentación en conjunto, lo cual es presentado en la Figura 17.

Según Ramalho (1996), para que un lodo tenga condiciones óptimas de sedimentación, debe presentar un IVL_r entre 35 - 150 mL/gSST, y un A/M entre 0,3 - 0,6 gDBO₅/gSSV·d. En la Figura 17, se observa que el lodo de ambos reactores, tuvo durante todo el período de operación normal y de shock tóxico para valores de IVL inferiores a 60 mL/gSST, un promedio de A/M de 0,12 ± 0,04 y 0,14 ± 0,05 gDQO/gSSV·d, con un valor máximo de 0,202 y 0,210 gDQO/gSSV·d para R1 y R2, respectivamente, siendo siempre inferior a 0,3 gDQO/gSSV·d. Con estas condiciones, la biomasa presentaría características de lodo disperso, siendo considerado de sedimentación deficiente. Sin embargo, según lo observado durante los ensayos, evidenciado en los valores de IVL, el lodo de ambos reactores presentó buena sedimentación.

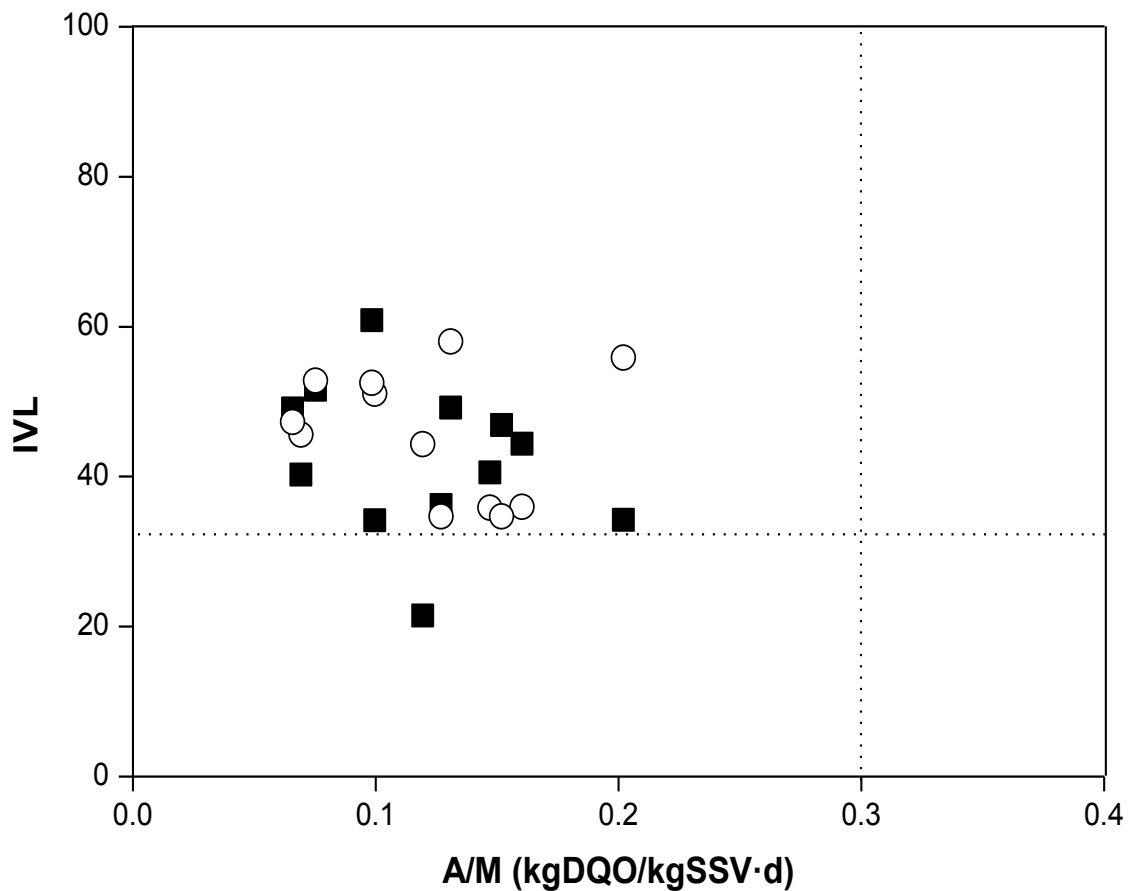


Figura 17. Relación entre IVL y relación Alimento/Microorganismos (A/M) observada en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).

Se ha determinado que además de la relación A/M, también influye en la sedimentabilidad del lodo, la relación entre la geometría del sistema y la forma en que ingresa el agua residual. De esta manera, si existe mezcla completa en el reactor, se obtiene un lodo denso, con buenas características de floculación, lo que sucede en el caso de los reactores R1 y R2 (Ramalho, 1996).

5.5.2 Evolución de la actividad de la biomasa

De acuerdo al metabolismo de las bacterias aeróbicas, la materia orgánica biodegradable, es usada en parte como energía para respiración y el resto en la síntesis de nuevas células (Rarmalho, 1996). El análisis respirométrico de la biomasa, permite establecer en forma preliminar la tasa de consumo de oxígeno y correlacionarla con la velocidad de materia orgánica consumida (Villamar, 2009). Específicamente, la Velocidad de Utilización de Oxígeno (VUO) puede ser expresada por unidad de biomasa, denominándose velocidad de utilización de oxígeno específica y en este caso, actividad heterótrofa, la que se aprecia en la Figura 18.

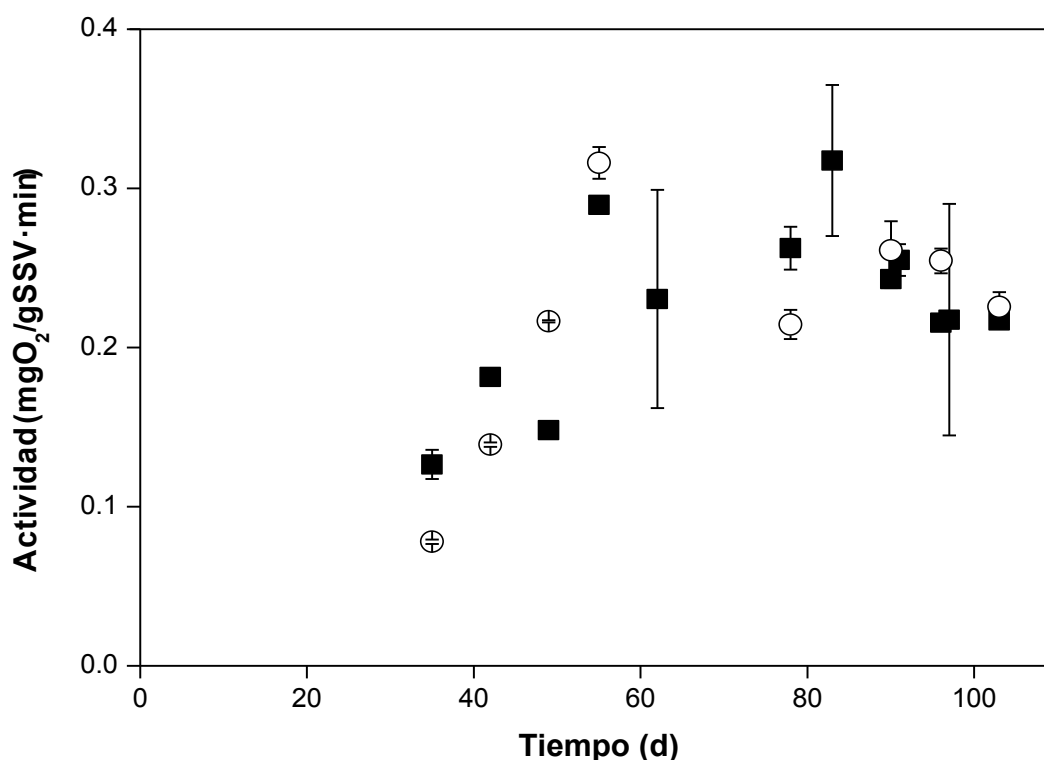


Figura 18. Evolución de la actividad heterótrofa en los reactores R1 (Blanco) (○) y R2 (■).

La actividad heterótrofa varió en un rango de 0,078 - 0,316 y 0,127 - 0,336 mgO₂/gSSV·min, en R1 y R2, respectivamente. Valores que son similares a los alcanzados por Pozo (2010) con un promedio de 0,083 mgO₂/gSSV·min, para un sistema de tratamiento aeróbico con influente de celulosa kraft, encontrándose ambos reactores dentro de los rangos de actividad normal, para toda condición de operación.

El valor mínimo obtenido en ambos reactores, fue alcanzado el día 35, para luego mostrar un aumento progresivo, lo cual coincide con el incremento de la temperatura debido a cambios en la estacionalidad. Se ha documentado la existencia de una relación entre la actividad de la biomasa y la temperatura, siendo los lodos más activos en virtud de una temperatura más alta (Chalasani and Sun, 2007).

Las mayores oscilaciones se observan los días de aplicación de shock y se dan a conocer en la Figura 19.

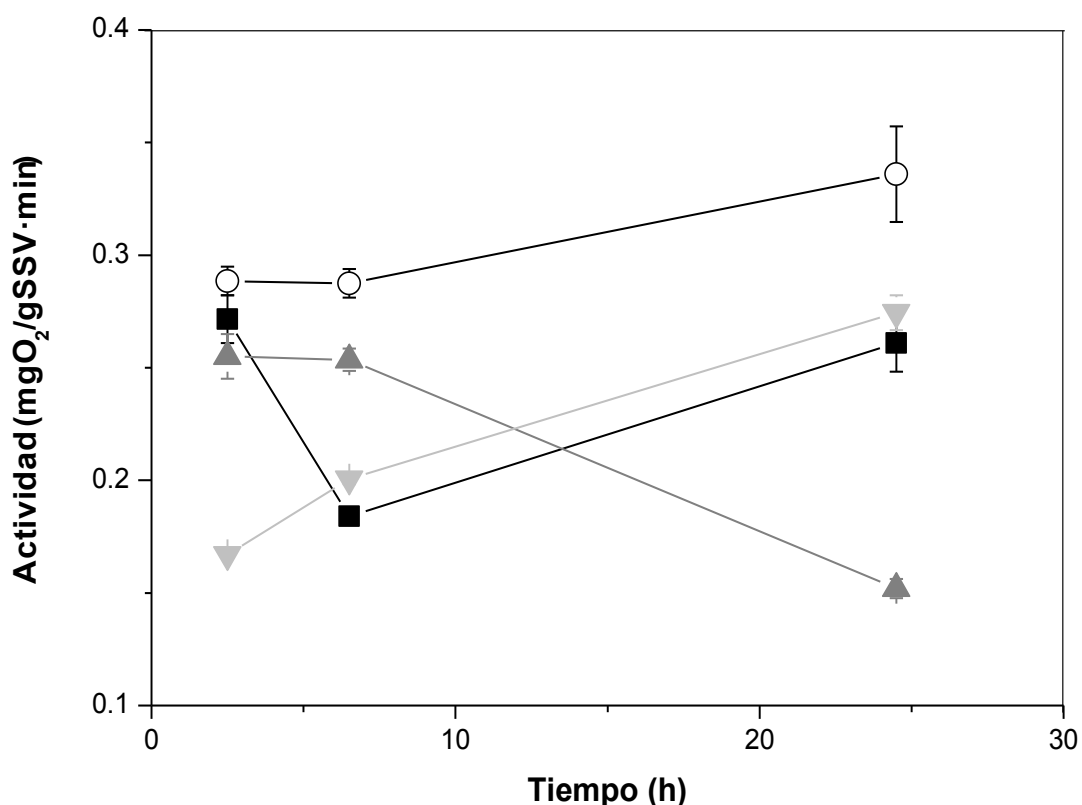


Figura 19. Evolución de la actividad heterótrofa en el reactor R1 durante shocks tóxicos, S1 (■), S2 (○), S3 (▲) y S4(▼).

Las mediciones de la actividad de la biomasa se realizaron en la hora, 2, 6 y 24 de cada shock. Se observó durante S1, una disminución en la actividad entre la hora 2 y 6 hasta 0,184 mgO₂/gSSV·min, para luego aumentar en la hora 24 a 0,261 mgO₂/gSSV·min, siendo este último valor similar al de la hora 2. Por su parte, durante S2, la actividad se mantiene constante en las horas 2 y 6, para luego aumentar en la hora 24 a 0,336 mgO₂/gSSV·min, valor más alto

registrado. En S3, la actividad se mantiene constante entre las horas 2 y 6, observándose una disminución en la hora 24, situación que solo ocurrió en este shock. Finalmente, en S4 la actividad heterótrofa aumenta de manera constante desde la hora 2 a la 24.

Se da cuenta, para todos los shocks, de una actividad heterótrofa dentro de los rangos de operación normal en un sistema de tratamiento aeróbico, la que según estudios puede oscilar entre 0,04- 0,3 mgO₂/gSSV·min (Vidal *et al.*, 2004). No obstante, es posible evidenciar cierta tendencia. En S1, S2 y S4, se observa un comportamiento similar, el que consiste en el aumento de la bioactividad en la hora 24. Dicho comportamiento coincide con la máxima concentración de DQO en el sistema. Es posible detectar la presencia de alzas en la carga orgánica, a través de un aumento en la actividad de la biomasa (Chalasan y Sun, 2007). Esta afirmación explica lo ocurrido durante esos shocks, observándose un potenciamiento de la actividad y no una inhibición. Resultados de ensayos realizados a escala industrial y de laboratorio, muestran que la VUO, fue inhibida en el sistema de tratamiento de aguas residuales a concentraciones de 3500 mgDQO/L, con un incremento en la DQO, producido por el ingreso de licor negro (Sandberg, 2009). En este caso, las concentraciones de licor negro del influente, llegaron hasta 3200 mgDQO/L, no observándose un efecto significativo de disminución de la actividad por efecto tóxico. Dicho efecto tóxico no fue observado a través de la VUO, debido posiblemente a que el pH del influente, cercano a la neutralidad, permitió la subsistencia de las bacterias y no potenció los compuestos tóxicos del licor negro (Sandberg and Holby (2008)

5.5.3 Microbiología del lodo y microorganismos indicadores

Mediante la microscopía óptica, se observó el tipo de microorganismos presentes en el lodo de ambos reactores, los cuales son presentados en la Figura 20. A partir de esta observación, fue posible conocer la diversidad de microfauna existente en el sistema, la cual corresponde a un indicador de estabilidad de operación, siendo una herramienta útil para establecer la situación de operación normal, la que luego fue comparada, con la condición de shock tóxico.

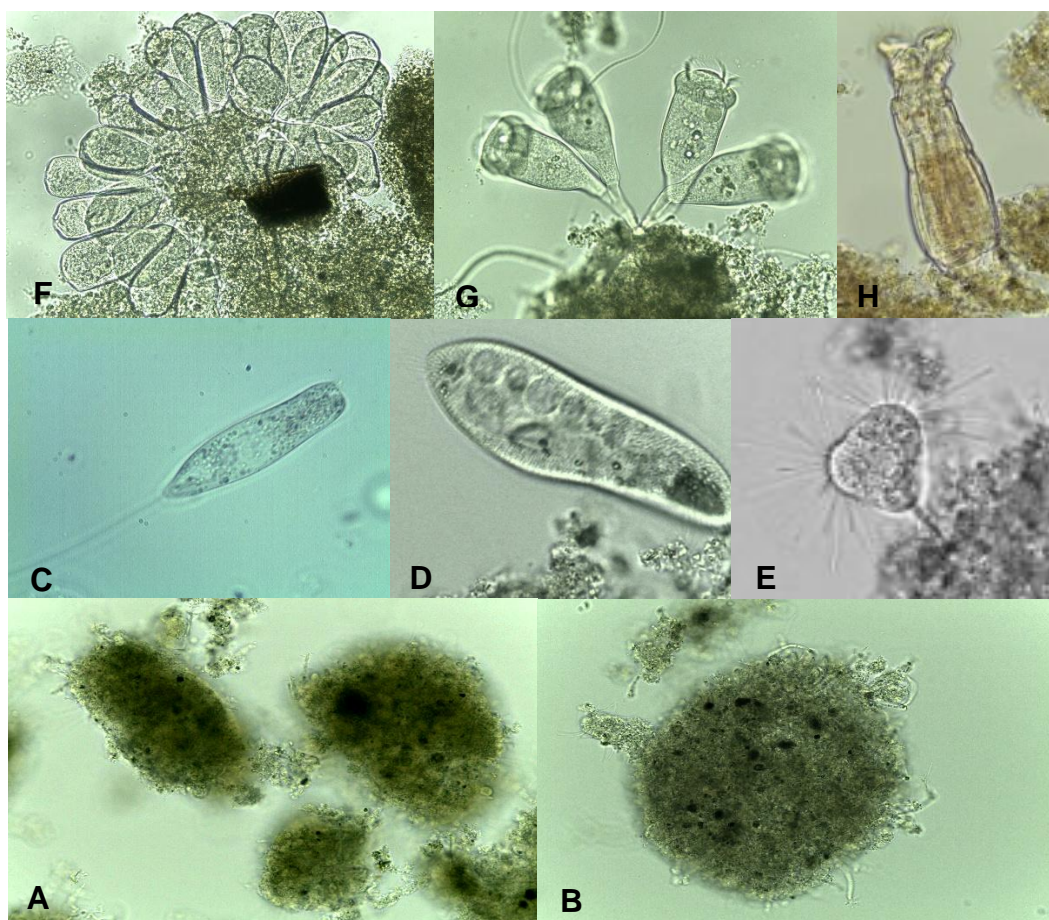


Figura 20. Microorganismos observados en los reactores R1 y R1 en condición de operación normal. A y B: Flóculos, C: Flagelado, D: Ciliado móvil, E: Ciliado suctor, F y G: Ciliados fijos, H: Rotíferos.

En la Figura 20, es posible observar el flóculo (A-B), unidad estructural del lodo activado, que presentó una estructura compacta y de tamaño medio, entre 150 - 500 μm , durante todo el proceso de operación en ambos reactores. Alrededor del flóculo, nadando libremente, se identificaron flagelados, como *Euglena sp.*

(C) y ciliados libres, como *Paramecium sp.* (D). Estos últimos están presentes en la iniciación del sistema e indican un buen proceso de depuración (Villaseca, 2001). Asociados al flóculo, se observaron, ciliados suctores, como *Acineta sp.* (E) relacionados con la eliminación de fenoles (Papadimitriou *et al.*, 2007). Asimismo, adheridos al floculo, se encontraron ciliados pedunculados, como *Vorticella sp.* y *Opercularia sp.* (F-G), los cuales son frecuentes cuando el tratamiento funciona correctamente, ya que, su capacidad de fijación supone una ventaja adaptativa en este sistema, siendo eliminados en el efluente los microorganismos que no la poseen. También fueron observados, rotíferos, que indican un lodo maduro, ya establecido (Mas *et al.*, 2008). A partir de esta base, se determinó un sistema estable, en concordancia con la condición de operación normal.

El análisis microscópico durante los shocks tóxicos, dio a conocer cambios en la microbiología del lodo. Durante S1, la microfauna del lodo tuvo similares características a la observada en la condición normal de operación. En cambio, durante S2, se observó una disminución del movimiento de los microorganismos. A partir del S3, se comienzan a evidenciar cambios en la microfauna. Específicamente, los ciliados fijos, presentaron estructuras de acumulación de alimento (vacuolas) visiblemente más grandes que las observadas durante operación normal. Lo anterior, debido a que al aumentar la carga orgánica, existió una mayor disponibilidad de alimento, el que fue almacenado. Se observaron además, una mayor cantidad de ciliados suctores y nadadores libres.

Finalmente, durante S4, se observaron claramente las vacuolas de alimentación y además, estructuras de resistencia (huevos) generadas por metazoos en condiciones desfavorables, ambas presentadas en la Figura 21. Se observó además, un número abundante de flagelados, lo que es indicativo de una depuración inadecuada, ya que, la elevada densidad de estos microorganismos ocurre en la puesta en marcha o bien asociada a un mal funcionamiento del proceso, debido por ejemplo a un exceso de carga orgánica, situación que implicó S4 y que concuerda con las más bajas eficiencias de eliminación de materia orgánica (Madoni, 1994). Igualmente, se

evidenció un aumento en la cantidad de ciliados nadadores, los que no son constituyente típicos de las comunidades estables, sino que aparecen durante la fase de colonización, cuando los flóculos están en vías de formación y no se han establecido aún los ciliados pedunculados y reptantes. En consecuencia, la presencia dominante de ciliados nadadores en un lodo bien formado es indicio de anomalías en el proceso, como una carga excesiva. En ocasiones, también puede estar relacionado con la entrada de vertidos tóxicos, ya que se eliminan las comunidades estables del proceso, presentando los reactores una situación semejante a la puesta en marcha (Villaseca, 2001). Como se observa, es a partir de S3 y S4 cuando se comienza a evidenciar, a través de los microorganismos, un aumento en la carga orgánica, indicativo de desestabilización y también signos de la toxicidad del licor negro.

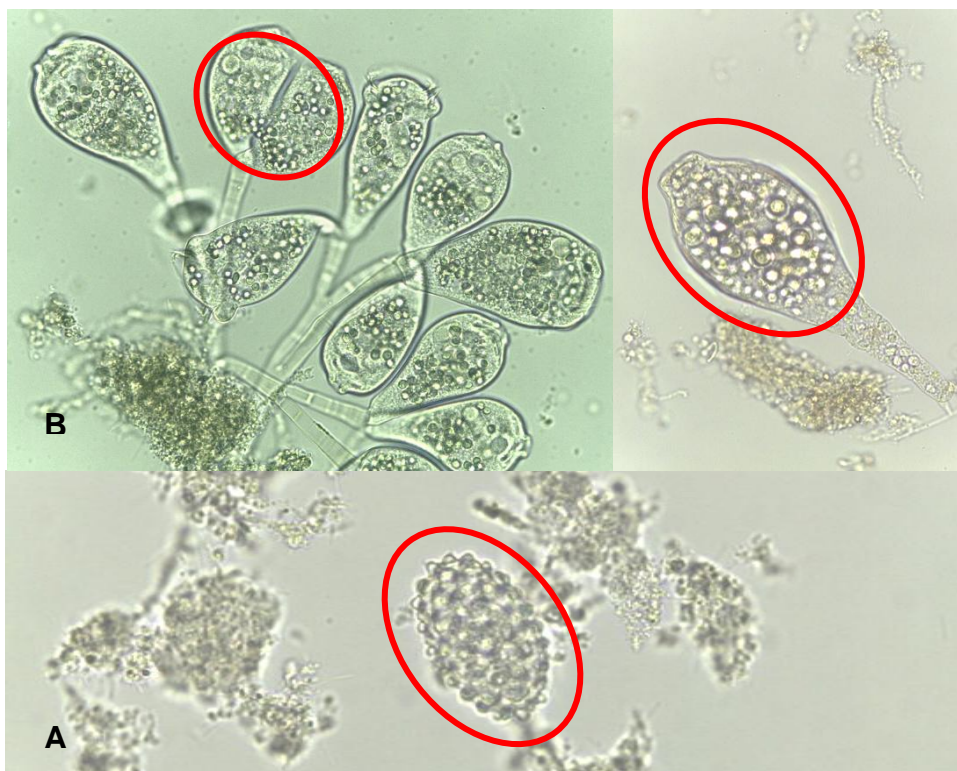


Figura 21. A: Estructuras de resistencia (huevos de metazoo), B: Acumulación de alimento en ciliados fijos durante Shock 4.

Durante todos los shocks fue posible observar la formación de espuma, siendo muy abundante durante S3 y S4, pudiendo ser explicada por la presencia de ácidos grasos en licor negro, que forman espuma en ambientes de pH alto (9 – 10) (Sandberg and Holby, 2008). Además, el efluente se volvió de un color negro muy oscuro, que aumentaba progresivamente su intensidad conforme el influente contenía mayores cantidades de licor negro. Situación similar reportó Sandberg (2009), que observó la formación de espuma y efluente de color turbio en un sistema de lodos activados, bajo shock de licor negro.

La presencia o ausencia de determinada especie microscópica, establece el estado del lodo presente en el reactor, afirmación que es corroborada por la eficiencia de eliminación, pero que a diferencia de ésta, también nos permite visualizar la dinámica de las distintas especies presentes en este tipo de sistemas de tratamiento (Villamar, 2008). Así, fueron analizados cuantitativamente dos tipos de microorganismos considerados como indicadores de un buen funcionamiento del sistema de lodos activados: los ciliados fijos y los rotíferos. La Figura 22, da cuenta de los resultados del conteo de microorganismos.

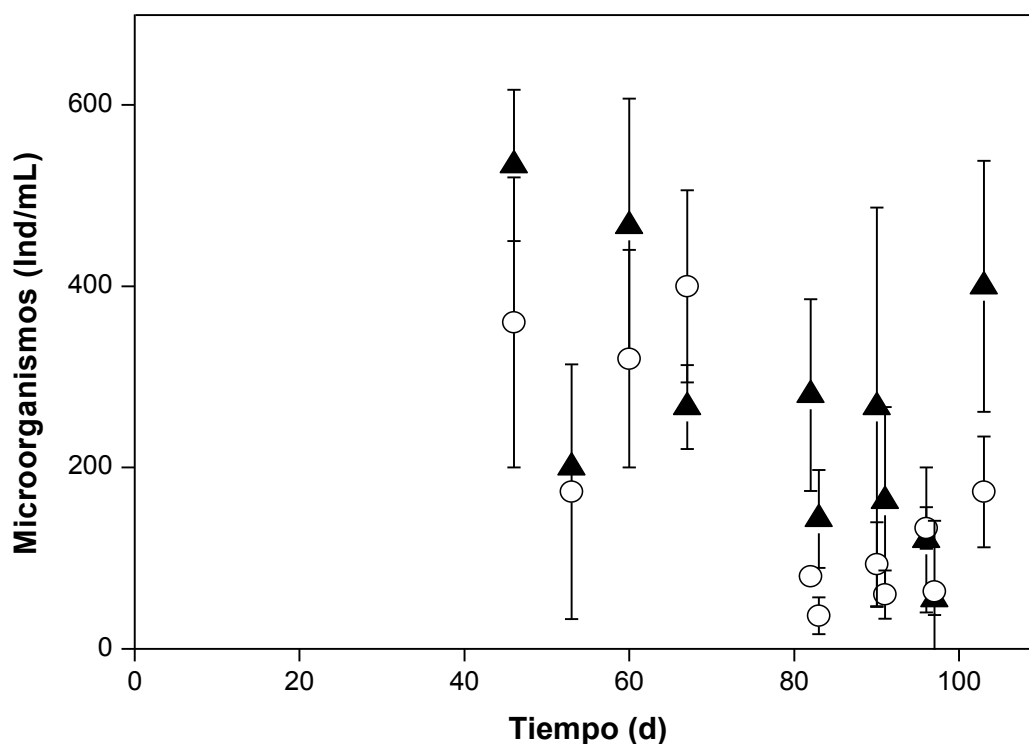


Figura 22. Evolución del número de individuos de microorganismos indicadores, ciliados fijos (▲) y rotíferos (○) en el reactor R1.

Pellizzaro *et al.*, (2005), plantean que un buen rendimiento del sistema está directamente relacionado con la especie dominante en el proceso. De esta manera, la predominancia de ciliados pedunculados y libres es indicativa de buenas condiciones de depuración. En este estudio, la cantidad promedio de individuos durante la condición normal en R1 fue 344 ± 105 organismos/mL, para ciliados fijos y de 229 ± 91 organismos/mL para rotíferos, siendo caracterizado el sistema como eficiente. Un estudio realizado en una planta de tratamiento de aguas servidas, detectó concentraciones promedio de, 460 organismos/mL para el ciliado fijo *Vorticella sp.*, la principal especie observada durante la operación normal en este estudio. En tanto que para el rotíferos fue de 410 organismos/mL (Pellizzaro *et al.*, 2005). Comparadas con las concentraciones antes mencionadas, el reactor R2, presentó un 33% menos de ciliados fijos y 70% menos de rotíferos. Sin embargo, al ser aguas residuales de diferente composición, la conformación de los microorganismos en el sistema puede ser distinta, además que la estructura de la comunidad de protistas y metazoos, así como su densidad, varían en función de una serie de factores; siendo los más importantes la carga másica, la edad del fango y la temperatura (Zorzona *et al.*, 2010).

Para realizar el seguimiento del número de ciliados fijos y rotíferos durante cada shock, se efectuó un conteo de individuos en la hora 2, 4 y 6, coincidentemente con la realización de los análisis respirométricos. Los resultados se dan a conocer en la Figura 23.

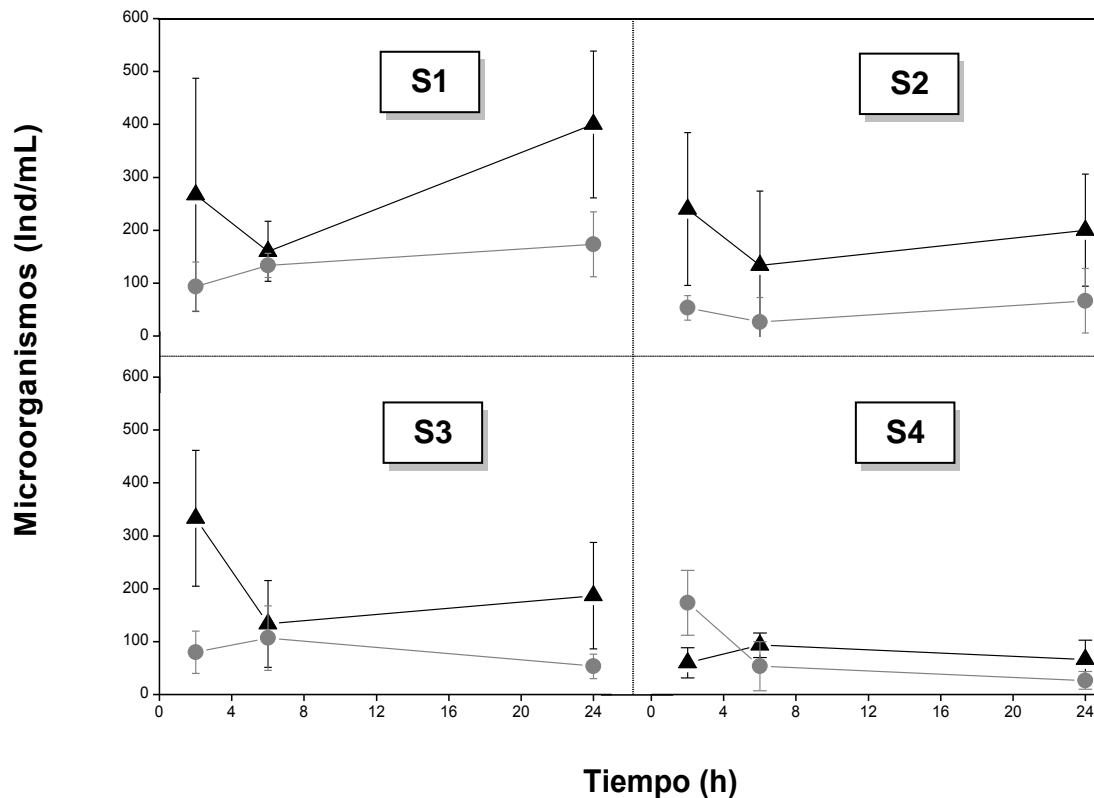


Figura 23. Evolución del número de individuos de microorganismos indicadores, ciliados fijos (▲) y rotíferos (●) durante shocks tóxicos. Donde S1: Shock 1, S2: Shock 2, S3: Shock 3, S4: Shock 4.

El conteo de microorganismos, entrega una tendencia general durante el ingreso de S1, S2 y S3. La concentración de microorganismos disminuye en la hora 6, para luego remontar en la hora 24, lo que concuerda con la tendencia que siguió la actividad de la biomasa, excepto para S3 en que la actividad disminuyó a la hora 24. Esto puede deberse al ingreso de una carga orgánica superior o al ingreso de tóxicos presentes en el licor negro, a lo cual la biomasa debe adaptarse. En un contexto similar, es observada la disminución significativa de microorganismos luego de 3 horas de ingreso de licor negro a un sistema y su reparación, después de otras 3 horas de aplicado un shock tóxico (Sandberg, 2009).

Como se observa, la cantidad de microorganismos comienza a disminuir, a medida que los shocks aplicados, tienen una mayor concentración de licor negro. En S1 la concentración de ciliados fijos y rotíferos fue en promedio

275 ± 12 y 130 ± 40 organismos/mL, respectivamente, esta concentración disminuye progresivamente, hasta llegar en S4, a 55 ± 17 y 63 ± 48 organismos/mL, para ciliados fijos y rotíferos, respectivamente. Esta disminución, puede ser signo de la toxicidad del licor negro, ya que, los microorganismos más grandes desaparecen por su sensibilidad a los compuestos tóxicos. No obstante la disminución de estos microorganismos, si un sistema de lodos activados se inhibe por un tiempo, las bacterias sobreviven y cuando la alimentación es normal de nuevo, la eliminación de materia orgánica se inicia nuevamente (Sandberg and Holby, 2008).

5.6 Relación entre indicadores de estabilidad

Durante este estudio, fue posible observar que una mayor concentración de DQO en el influente, producto de la adición del licor negro, conllevó una disminución progresiva de la eficiencia de eliminación. Sin embargo, esta ineficiencia fue previsible antes de realizar el cálculo de dicho parámetro, el que fue medido 2 días después de la aplicación del shock.

En un sistema de lodos activados, antes de notar que el proceso se vuelve cada vez más ineficiente, es posible tener indicios de algún derrame con componentes de material orgánico y tóxico, a través de las características y composición de la biomasa, representadas en el IVL, la actividad heterótrofa y los microorganismos indicadores. La Tabla 8, resume los valores obtenidos durante este estudio.

En este caso, la desestabilización del sistema, fue evidenciada por una alteración de la actividad heterótrofa, la que para tres shocks, se vio aumentada en la hora 24, debido a la mayor disponibilidad de alimento, siendo este el indicio de un ingreso repentino de carga orgánica extra. Lo anterior se confirma con las observaciones microbiológicas, ya que, las vacuolas de alimentación de los ciliados fijos (*Vorticella sp*) fueron notablemente más grandes luego de S3 y S4. Por otra parte, se vislumbra la presencia de compuestos tóxicos en el sistema, a través de la disminución del número de microorganismos indicadores y la aparición de huevos de resistencia de rotíferos. Conforme el shock tuvo mayor cantidad de licor negro, fue observada una menor cantidad de ciliados fijos y rotíferos, organismos muy sensibles a la contaminación tóxica. Sin embargo, en ningún momento el sistema se vio inhibido. Un factor clave para ello, fue la neutralización del pH del influente, ya que, por un lado, las bacterias son sensibles a los cambios de pH y por otra, la toxicidad de ciertos compuestos del licor negro se potencia con un pH más básico. Lo anterior se confirma con experiencias realizadas por Sandberg and Holby (2008), que mencionan que cuando el pH de la alimentación, se ha ajustado a aproximadamente 7, las bacterias pueden resistir concentraciones más altas de licor negro antes de ser inhibidas.

Tabla 8. Parámetros de operación e indicadores de estabilidad para las distintas condiciones de operación

Condición de operación	DQO influente (mg/L)	VCO (kgDQO/m ³ ·d)	Eliminación DQO* (%)	IVL (mL/gSST)	Actividad (mgO ₂ /gSSV·min)	Microorganismos (organismos/mL)	
						Ciliados fijos	Rotíferos
Normal	428,2 ± 125,9	0,38 ± 0,11	59,8 ± 11,7	42,4 ± 10,3	0,210 ± 0,056	344 ± 105	229 ± 91
Shock 1	882,9 ± 2,3	0,77 ± 0,01	75,6 ± 1,3	39,2 ± 5,2	0,231 ± 0,069	275 ± 120	130 ± 40
Shock 2	1014,5 ± 18,5	0,89 ± 0,01	35,4 ± 1,2	43,7 ± 2,5	0,318 ± 0,047	163 ± 103	60 ± 26
Shock 3	1773,5 ± 81,3	1,55 ± 0,07	3,4 ± 0,8	60,1 ± 6,1	0,255 ± 0,010	217 ± 103	80 ± 26
Shock 4	3225,0 ± 116,0	2,821 ± 0,10	-19,7 ± 11,6	43,7 ± 1,9	0,218 ± 0,070	73 ± 18	84 ± 78

DQO: Demanda Química de Oxígeno, VCO: Velocidad de Carga Orgánica, IVL: Índice Volumétrico del Lodo.

*medida 2 días después de la aplicación del shock tóxico.

Con respecto a la sedimentabilidad, para todos los casos, el IVL no se vio afectado. Lo anterior, debido a que los shocks no incidieron en el tamaño del flóculo, la concentración de sólidos, ni en el aumento en la cantidad de bacterias filamentosas. Se ha encontrado que existe una relación bien definida entre IVL y la cantidad de microorganismos filamentosos. Si un vertido tóxico no favorece el crecimiento de bacterias filamentosas, el IVL no se verá alterado, asumiendo claro, que las condiciones de operación están controladas (Sezgin *et al.*, 1982).

Puede precisarse que el sistema fue desestabilizado durante S3 y S4, pero, en general resistió, ya que, en ningún momento se vio inhibida la actividad de la biomasa y la eficiencia de eliminación fue recuperada en S1, S2 y S3.

Dado que los sistemas de tratamiento biológico, son sensibles a los derrames tóxicos, es importante saber hasta qué punto la planta puede resistir, antes de que disminuya el rendimiento o en el peor de los escenarios, que la biomasa muera (Sandberg and Holby, 2008). Si el derrame es demasiado grande para la planta, los vertidos serán significativos produciéndose efluentes que tal vez no cumplan las normas de descarga. En ese sentido, el IVL, la actividad heterótrofa y los microorganismos indicadores, fueron una herramienta útil en este caso para determinar la condición de estabilidad del sistema.

5. CONCLUSIONES

La eficiencia de eliminación de materia orgánica obtenida para la condición de operación normal fue de $56,0 \pm 7,7\%$ varió entre 76,5 y -19,7% desde la aplicación de S1 a S4, a un TRH de 1 d y relación $DBO_5:N:P$ de 100:5:1.

El IVL se mantuvo en un rango de 39,2 - 60,1 mL/gSST y no se vio fuera de los niveles óptimos durante ninguna condición de operación. Lo anterior, debido a que no se produjo el crecimiento de bacterias filamentosas, ni la desintegración de flóculos, lo que pudo confirmarse con la observación microbiológica.

La actividad heterótrofa de la biomasa presentó valores entre 0,210 - 0,318 $mgO_2/gSSV \cdot min$, para toda condición de operación, presentando los valores más altos durante la hora 24 de la aplicación de S1, S2 y S4.

El número de ciliados fijos y rotíferos en condición de operación normal fue de 344 ± 105 y 229 ± 91 organismos/mL, respectivamente, y fue disminuyendo a medida que aumentó la intensidad de los shocks, alcanzando un mínimo de 55 ± 17 y 63 ± 48 organismos/mL, durante S4, que concuerda con la más baja eficiencia de eliminación.

Fue posible determinar a través de los indicadores propuestos, el nivel de estabilidad de los sistemas de lodos activados implementados, por tanto, se acepta la hipótesis.

El sistema de lodos activados, con la biomasa adaptada al influente de celulosa kraft, pudo resistir un shock de licor negro con una concentración de DQO de 3200 mg/L, durante 24 h, con un TRH de 1 d y una relación $DBO_5:N:P$ de 100:5:1.

6. RECOMENDACIONES

Todos los sistemas de tratamiento biológico tienen una población de microorganismos específica, por tanto, la sensibilidad a los compuestos tóxicos dependerá de cada caso. Los resultados de este estudio se obtuvieron utilizando un sistema de lodos activados adaptado al ingreso de influentes de celulosa kraft. Por tanto, éstos pueden resultar útiles para las plantas de tratamiento con influentes similares. La concentración crítica, determinada en este trabajo puede ser útil para estimar la sensibilidad de un sistema de tratamiento equivalente.

No obstante lo anterior, es posible adquirir un gran conocimiento de una planta de tratamiento mediante la evaluación de la sedimentabilidad, la medición de la tasa de consumo de oxígeno y la observación de microorganismos indicadores, relacionadas en conjunto. Ello, es aplicable a todo tipo de industrias que utilicen sistemas de lodos activados, y extensible, a sistemas de tratamiento biológico similares.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Altesor, A., Eguren, G., Mazzeo, N., Panario, D., Rodríguez, C. 2008. La industria de la celulosa y sus efectos: certezas e incertidumbres. *Ecología Austral*, 18:291-303.
- American Public Health Association. APHA. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed. APHA, WCPF, AWWA, WashingtonDC. USA.
- Arauco. 2012. Reporte de sustentabilidad.
URL: http://www.arauco.cl/file/file_50_arauco_reporte_2012-espanol.pdf
- Arauco. 2013. Proceso productivo Celulosa Kraft.
<http://www.arauco.cl/flash/base.swf>
- Asociación Técnica de la Celulosa y el Papel. ATCP. 2012. Industria de la celulosa en Chile. 5th International Colloquium on Eucalyptus Pulp. Porto Seguro, Brazil. May 9-12.
- Bajpai, P. 2013. Bleach Plant Effluents from the Pulp and Paper Industry. Springer, Punjab, India, 88 pp.
- Belmonte, M., Calderón, M., Chamorro, S., Vidal, G. 2006. Gestión Ambiental de la Industria de Celulosa en Chile. 30° Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. AIDIS. Uruguay.
- Biermann, C. 1996. Handbook of Pulping and Papermaking, Second Edition, El Servier, 754 pp.

- Bitton, G. 2005. Wastewater Microbiology. 3rd Edition. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken: New Jersey, 756 pp.
- BRACELPA. Associação brasileira de celulose e papel. 2013. Dados do Setor. Julho 2013.
URL: <http://www.bracelpa.org.br/bra2/sites/default/files/estatisticas/booklet.pdf>
- Çeçen, F. 2003. The use of uv-vis measurements in the determination of biological treatability of pulp bleaching effluents. Seventh international water association symposium on forest industry wastewaters. Seattle (USA), 1-4 June.
- Chalasani, G. and Sun, W. 2007. Measurement of temperature effects on oxygen uptake rate in activated sludge treatment. Report Michigan State University College of Engineering, 28 pp.
- Chamorro, S., Xavier, C. and Vidal, G. 2005. Behavior of aromatic compounds contained in kraft mill effluents treated by an aerated lagoon. *Biotechnology Progress*, 21:1567-1571.
- Chamorro, S., Monsalvez, E., Hernández, V., Becerra, J., Mondaca, M., Piña, B. and Vidal, G. 2010. Detection of estrogenic activity from Kraft mill effluents by Yeast Estrogen Screen. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 84(2): 165-169.
- Chamorro, S., Hernández, V., Matamoros, V., Domínguez, C., Becerra, J., Vidal, G., Piña and B., Bayona, J. 2013. Chemical characterization of organic microcontaminant sources and biological effects in riverine sediments impacted by urban sewage and pulp mill discharges. *Chemosphere*, 90: 611-619.

- Chamorro, S. y Vidal, G. 2013. Guía práctica de observación macroscópica y microscópica de organismos indicadores del lodo. Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental. GIBA. 34 pp.
- Chiang, G., Munkittrick, K., Orrego, R. and Barra, R. 2010. Monitoring of the environmental effects of pulp mill discharges in Chilean Rivers: Lessons learned and challenges. *Water Quality Research Journal Canadian* 45(2):111-122.
- Compañía Manufacturera de Papeles y Cartones. CMPC. 2012. Informe sostenibilidad.
URL: <http://www.cmpccelulosa.cl/CMPCCELULOSA/archivos/file/cmpc-reporte-de-desarrollo-sostenible-2011.pdf>
- Corporación chilena de la Madera. CORMA. 2005. Relevancia de la industria de la celulosa en Chile. Artículo técnico 8, pp.
URL:<http://www.cormabiobio.cl/informes/documentos/Plan%20Comunicacional/Industria%20Celulosa%20en%20Chile.pdf>
- Diez, M. C., Villouta, F., Montoya, M. T., Bornhardt, C. 2002. Tratamiento combinado de lodos activados y lecho fijo sumergido para tratar efluente de celulosa kraft blanqueada. 27º Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. AIDIS. Cancún, México.
- Doble, M., Kumar, A.(2005). Biotreatment of Industrial Effluents.
- Environmental Protection Agency. EPA. 2014. Water: Monitoring & Assessment. 5.9 Conductivity.
URL: <http://water.epa.gov/type/rsl/monitoring/vms59.cfm>

- Fall, Ch., Cuenca, F., Bâ, K. and Solís, C. 2006. Respirometry-based evaluation of the fate and possible effects of antifreeze on activated sludge. *Journal of Environmental Management*, 80: 83–89.
- Henríquez, J. 2013. Generación de una Línea Base del Funcionamiento del Tratamiento Secundario de Efluentes De CMPC Celulosa S.A. Planta Santa Fe. Tesis Ingeniero Ambiental, Universidad de Concepción, 77 pp.
- López, D., Chamorro, S., Silva, J., Bay-Schmith, E. and Vidal, G. 2011. Chronic effects of *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* kraft mill effluents and phytosterols on *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87:633–637.
- Luraschi, M. 2007. Análisis de la cadena productiva de la celulosa y el papel a la luz de los objetivos de desarrollo sostenible: estudio del caso de Chile. Colección Documentos de proyectos Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), 96 pp.
- Madoni, P. 1994. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Research*, 28(1): 67-75.
- Martín-Cereceda, M., Serrano, S. and Guinea, A. 1996. A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. *PEMS Microbiology Ecology*, 21: 267-276.
- Mas, M., Gómez, N., Vasco, J. y Salvadó, H. 2008. Caracterización de los microorganismos de depuradoras biológicas urbanas de fangos activos con tratamiento convencional y de eliminación de nutrientes de las comarcas de Lérida. Hydrolab Microbiologica.

- Metcalf and Eddy. 2003. *Wastewater Engineering: Treatment, and Reuse*. McGraw-Hill, New York, USA, 1485 pp.
- Mosquera, A., González, F., Campos, J. and Méndez, R. 2005. Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds. *Process Biochemistry*, 40(9): 3109-3118.
- Nielsen, P.H. and Keiding, K. 1998. Disintegration of activated sludge flocs in presence of sulfide. *Water Resource*, 32(2): 313-320.
- Papadimitriou, Ch., Palaskab, G., Lazaridou, M., Samarasc, P. and Sakellaropoulou, G.P. 2007. The effects of toxic substances on the activated sludge microfauna. *Desalination*, 211: 177–191.
- Pellizaro, A., Sezerinoll, P., Philippilli, L., Reginatto, V. e Rubens, F. 2005. Microfauna characterization in activated sludge wastewater treatment plant: an instrument of assessment and control of process. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 10:329-338.
- Pokhrel, D. and Viraraghavan, T. 2004. Treatment of pulp and paper mill wastewater—a review. *Science of the Total Environment*, 333:37-58.
- Pozo, G. 2010. Optimización de la operación de un reactor aeróbico de biopelícula bacteriana inmovilizada: incidencia de los nutrientes en la biosíntesis de polihidroxialcanoato (PHA) como producto del tratamiento de efluentes de celulosa Kraft. Tesis Magister, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

- Pozo, G., Villamar, C., Martínez, M. and Vidal, G. 2011. Polyhydroxyalkanoates (PHA) biosynthesis from kraft mill wastewaters: biomass origin and C:N relationship influence. *Water Science & Technology*, 63(3):449-455.
- Ramalho (1996). Introduction to wastewater treatment process. Academic press.
- Rodrigues, C., Munteer, A., Stoppa, T. and Dalvi, L. 2010. Chemical components of bleached eucalypt kraft pulp effluent COD and treatment removal efficiency during normal mill operation and maintenance shutdowns. *Water Science and Technology*, 62(7):1567-1573.
- Sandberg, M. 2008. Studies to avoid decreased efficiency in multiple stage biological wastewater treatment plants. Licentiate thesis, Faculty of Technology and Science, Karlstad University Studies, Sweden, 51 pp.
- Sandberg, M. and Holby, O. 2008. Black liquor and alkaline shocks in a multiple stage biological treatment plant. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 7:335–344.
- Sandberg, M. 2009. Mill case, simulation, and laboratory plant study of black liquor spill effects on a multiple stage biological treatment plant. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 36: 839-849.
- Sarlin, T., Halttunen, S., Vuoriranta, P. and Puhakka, J. 1999. Effects of chemical spills on activated sludge treatment performance in pulp and paper mills. *Water Science and Technology*, 40(11-12):319-325.
- Sezgin, M. 1982. Variation of sludge volume index with activated sludge characteristics. *Water Research*, 16:83-88.

- Thompson, G., Swain, J., Kay, M. and Forster, C.F. 2001. The treatment of pulp and paper mill effluent: a review. *Bioresource Technology*, 77:275-286.
- Villamar, C. A. 2008. Propuesta para la operación y optimización de un sistema biológico aerobio de biomasa adherida para tratar efluentes provenientes de la industria de celulosa Kraft en la region del Bio bio, Chile. Tesis Magister en Ingeniería Ambiental, Escuela De Posgrado En Ingeniería Y Ciencias, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
- Villamar, C. A., Jarpa, M., Decap, J. and Vidal, G. 2009. Aerobic moving bed bioreactor performance: comparative study of removal efficiencies of kraft mill effluents from *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* as raw material. *Water Science and Technology*, 59(3): 507-514.
- Villaseca, M. 2001. Observación microscópica de fangos activados en los tratamientos de depuración biológica. *Boletín INTEXTTER (U.P.C.)*, 119:67-72.
- Water Environment Federation. WEF. 2008. Operation of Municipal Wastewater Treatment Plants Task Force. Manual of Practice No. 11. Sixth Edition. Volume I Management and Support Systems.
- Winkler, M. 1995. Tratamiento Biológico de Aguas de Desecho. Limusa, México, 338 pp.
- Xavier, C., Chamorro, S. and Vidal, G. 2005. Chronic effects of kraft mill effluents and endocrine active chemicals on *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75:670–676.

- Xavier, C., Mosquera-Corral, A., Becerra, J., Hernández, V. and Vidal, G. 2009. Activated sludge versus aerated lagoon treatment of kraft mill effluents containing β -sitosterol and stigmasterol. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 44:327-335.
- Xavier, C., Oñate, E., Mondaca, MA., Campos, J. and Vidal, G. 2011. Genotoxic effects of kraft pulp mill effluents treated by biological aerobic systems. *Interciencia*, 36(6):412-416.
- Zaror, C. 2002. Introducción a la Ingeniería Ambiental para la Industria de Procesos. Editorial Universidad de Concepción, Concepción, Chile, 613 pp.
- Zornoza, A., Alonso, J., Serrano, S., Fajardo, V., Zorrilla, F., Bernácer, I. y Morenilla, J. 2010. Estudio integrado del proceso de fangos activos I. Análisis descriptivo de factores físico-químicos y biológicos implicados en su dinámica. VII Jornadas de Transferencia de Tecnología sobre Microbiología del Fango Activo. Sevilla, España, 25 pp.