



UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EVALUACION DE LA DISTRIBUCION DE PESOS
MOLECULARES DE LA MATERIA ORGANICA
CONTENIDA EN EFLUENTES DE CELULOSA KRAFT Y
SU EFECTO EN LA BIODEGRADABILIDAD
ANAEROBICA**

Presentada a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, para
optar al título de Bioingeniero.

GLORIA ESTEFANÍA GÓMEZ OSORIO

Tutora: Dra. Gladys Vidal

Co-tutor: Miguel Salinas

Concepción, 2016

INDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
1 INTRODUCCION.....	3
1.1 La industria de celulosa en Chile	3
1.1.1 Proceso de producción de celulosa kraft	4
1.1.2 Residuos industriales líquidos de la industria de celulosa kraft.....	6
1.1.3 Tratamiento de efluentes de la industria de celulosa kraft	7
1.2 Digestión anaeróbica	8
1.2.1 Microbiología de la digestión anaeróbica	8
1.2.1.1 Hidrólisis	10
1.2.1.2 Acidificación.....	10
1.2.1.3 Acetogénesis.....	11
1.2.1.4 Metanogénesis.....	12
1.2.2 Inhibición de la digestión anaeróbica	12
1.2.2.1 Sulfuro	13
1.2.2.2 Amonio	14
1.2.2.3 Metales pesados	15
1.2.2.4 Ácidos grasos volátiles.....	16
1.2.3 Beneficios de la digestión anaeróbica.....	16
1.3 Reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos	17
1.3.1 Aspectos operacionales y ambientales en reactor UASB.....	18
1.3.1.1 Temperatura	18
1.3.1.2 pH.....	19
1.3.1.3 Alcalinidad	20
1.3.1.4 Nutrientes.....	20
1.3.1.5 Tiempo de residencia hidráulico.....	20
1.3.1.6 Velocidad de carga orgánica	20

1.4	Hipótesis y Objetivos	21
1.4.1	Hipótesis.....	21
1.4.2	Objetivos	21
2	MATERIALES Y METODOS.....	22
2.1	Montaje reactor UASB.....	22
2.2	Determinación de actividad metanogénica específica.....	23
2.3	Puesta en marcha reactor UASB	24
2.3.1	Inóculo.....	24
2.3.2	Influyente	24
2.4	Operación reactor UASB	24
2.5	Monitoreo reactor UASB.....	25
2.6	Métodos analíticos	26
2.7	Ultrafiltración	26
2.8	Balance de materia orgánica.....	27
3	RESULTADOS	27
3.1	Caracterización del influente	27
3.2	Actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico.....	29
3.3	Operación reactor UASB	31
3.3.1	Parámetros operacionales.....	31
3.3.2	Parámetros físicos.....	32
3.4	Eficiencias de eliminación	35
3.4.1	Eficiencia eliminación de materia orgánica.....	35
3.4.2	Eficiencia eliminación de sulfato	36
3.4.3	Eficiencia eliminación compuestos específicos	38
3.5	Caracterización del efluente	41
3.5.1	Ultrafiltración del efluente.....	41
3.5.2	Caracterización fisicoquímica del efluente.....	44
3.6	Balance de materia orgánica.....	46
4	DISCUSION.....	47

4.1	Caracterización del influente	47
4.2	Actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico.....	50
4.3	Operación reactor UASB	51
4.4	Eficiencias de eliminación	53
4.5	Caracterización del efluente	58
4.6	Balance de materia orgánica.....	59
4.7	Proyecciones	59
5	CONCLUSIONES.....	60
6	AGRADECIMIENTOS.....	61
7	REFERENCIAS	62

INDICE FIGURAS

Figura 1. Proceso de producción de celulosa kraft	4
Figura 2. Esquema etapas de la digestión anaeróbica de compuestos anaeróbicos complejos.....	9
Figura 3. Esquema de configuración reactor UASB.....	18
Figura 4. Configuración reactor UASB	22
Figura 5. Determinación de la Actividad Metanogénica Específica.....	23
Figura 6. Distribución de peso molecular del influente por ultrafiltración.	29
Figura 7. Producción de metano en el tiempo	30
Figura 8. Etapas de operación y sus respectivos parámetros operacionales.....	32
Figura 9. Relación entre Alcalinidad total e intermedia y pH	33
Figura 10. Potencial de óxido reducción en reactor UASB	34
Figura 11. Relación entre demanda química de oxígeno y sulfato	34
Figura 12. Eficiencia eliminación materia orgánica	36
Figura 13. Eficiencia de eliminación de sulfato	37
Figura 14. Eficiencia de eliminación de compuestos específicos.....	39
Figura 15. Distribución de peso molecular del influente y efluente por ultrafiltración...	42
Figura 16. Distribución de peso molecular del influente y efluente por ultrafiltración según compuestos específicos	43
Figura 17. Balance de materia orgánica durante la operación del reactor UASB	46
Figura 18. Precipitación de sulfato en el reactor UASB.....	50
Figura 19. Eficiencia de eliminación y velocidad de carga en diferentes etapas de operación del reactor UASB	¡Error! Marcador no definido.

INDICE TABLAS

Tabla 1. Resumen estrategia operacional reactor UASB.....	25
Tabla 2. Caracterización fisicoquímica influente	28
Tabla 3. Actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico.....	31
Tabla 4. Resumen eficiencias eliminación de los diferentes parámetros estudiados durante la operación del reactor UASB	40
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica del efluente a la salida del reactor UASB	45
Tabla 6. Funcionamiento de diferentes tratamientos anaeróbico aplicado a la industria de celulosa y papel.....	49
Tabla 7. Eficiencia de eliminación de diferentes tratamientos anaeróbicos aplicado a la industria de celulosa y papel	56

ABREVIATURAS

AF	Filtro anaeróbico
AGV	Ácidos grasos volátiles
AI	Alcalinidad intermedia
AME	Actividad metanogénica específica
AOX	Halogenados orgánicos adsorbibles
AP	Alcalinidad parcial
AT	Alcalinidad total
BEKP	Celulosa blanca de fibra corta de eucalipto
BSKP	Celulosa blanca de fibra larga de pino
BSR	Bacterias sulfatorreductoras
COT	Carbono orgánico total
DBO ₅	Demanda biológica de oxígeno
DQO	Demanda química de oxígeno
ECF	Libre de cloro elemental
HBBR	Reactor de lecho móvil
HPBR	Reactor anaeróbico de lecho fijo horizontal
NDIR	Analizador de gases infrarrojo
NT	Nitrógeno total
NTK	Nitrógeno total kjeldahl
OHPA	Acetógenos productores obligados de hidrógeno
PIB	Producto interno bruto
POR	Potencial de óxido reducción
PT	Fósforo total
RILES	Residuos industriales líquidos
SSV	Sólidos suspendidos totales
TRH	Tiempo de residencia hidráulica

UAF	Filtro anaeróbico de flujo ascendente
UASB	Reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos
UF	Ultrafiltración
UV 215	Compuestos fenólicos totales
UV 254	Compuestos aromáticos
UV 272	Derivados de lignina
UV 280	Lignina
UV 346	Ácido lignosulfónico
UV-VIS	Espectro ultravioleta-visible
VCO	Velocidad de carga orgánica
VCS	Velocidad de carga de sulfato

RESUMEN

En Chile, las tecnologías implementadas para eliminar la materia orgánica contenida en efluentes generados durante el proceso de producción de celulosa kraft son del tipo biológico aeróbico. Sin embargo, estos presentan varias desventajas, entre ellas una elevada producción de lodos, elevando los costos del tratamiento. Por su parte la digestión anaeróbica presenta varias ventajas como baja producción de lodos, no requiere oxígeno para operar y genera biogás como subproducto de elevada energía.

El objetivo del trabajo es evaluar la distribución de pesos moleculares de la materia orgánica en efluentes de celulosa Kraft y su efecto en la biodegradabilidad anaeróbica en un reactor anaeróbico de flujo ascendente y lecho de lodos (UASB).

Para evaluar la biodegradabilidad anaeróbica se inoculó un reactor UASB con lodo anaeróbico y operado en continuo a tres velocidades de cargar orgánica (VCO) distintas (0,31, 0,44 y 1,89 gDQO/L·d). Se determinó la actividad metanogénica específica (AME) del lodo, estabilidad del sistema, eficiencia de eliminación de materia orgánica, sulfato y compuestos específicos, distribución de peso molecular mediante ultrafiltración y balance global de materia orgánica al término de operación. Las eficiencias de biodegradación de materia orgánica promedio durante todo el período de operación fueron 28,5% y 52,1% de DQO (demanda química de oxígeno) y DBO₅ (demanda biológica de oxígeno), respectivamente. Se comprobó además que la eliminación de SO₄ fue de 6,9%, mientras que de AOX (adsorbable organic halogens) fue 20,4%. Por otra parte, la eliminación de lignina y derivados de lignina fue 7,6% y 12,3%, respectivamente y el color incremento un 20,9% después del tratamiento anaeróbico. El fraccionamiento de la materia orgánica varió con la etapa de operación observándose incremento de 12, 17 y 25% de la DQO, COT (carbono orgánico total) y color respectivamente luego de la primera etapa en la fracción >10000 Da, y sólo en la segunda etapa fueron degradados AOX de alto peso molecular (>1000 Da). Se concluyó que la biodegradabilidad de la materia orgánica de efluentes de celulosa Kraft bajo condiciones anaeróbicas, no presenta mejores eficiencias de eliminación en fracciones de peso molecular menores a 1000 Da.

ABSTRACT

In Chile, the technologies implemented to remove the organic matter contained in effluent generated during kraft pulp production are aerobic biological type. However, they have several disadvantages, including high sludge production, raising treatment costs. Meanwhile anaerobic digestion has several advantages as low sludge production, does not require oxygen to operate and generates biogas as a byproduct of high energy.

The objective of this study is to evaluate the molecular weight distribution of organic matter in Kraft pulp effluent and its effect on anaerobic biodegradability in an upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB).

To evaluate anaerobic biodegradability a UASB reactor was inoculated with anaerobic sludge and operated in continuous at three different organic loading rates (OLR) (0,33, 0,41 and 1,89 gCOD/L·d). The specific methanogenic activity (SMA) of sludge, system stability, organic matter, sulfate and specific compounds removal efficiency, molecular weight distribution by ultrafiltration and global balance of organic matter at the end of its operation is determinate. Biodegradation efficiencies average organic matter throughout the period of operation were 28,5% and 52,1% of COD (chemical oxygen demand) and BOD₅ (biological oxygen demand), respectively. In addition, found that the removal of SO₄ was 6,9%, while AOX (adsorbable organic halogens) was 20,4%. On the other hand, removing lignin and lignin derivatives was 7,6% and 12,3% respectively and the color increased 20,9% after anaerobic treatment. Fractionation of organic matter varied with the operation stage observed increase in 12, 17 and 25% of COD, TOC (total organic carbon) and color respectively after the first stage in the fraction >10000 Da, and only the second stage were degraded high molecular weight (>1000 Da) AOX. It was concluded that the biodegradability of organic matter Kraft pulp effluent under anaerobic conditions, not present better removal efficiencies in fractions of molecular weight less than 1000 Da.

1 INTRODUCCION

1.1 La industria de celulosa en Chile

Junto con el inicio de la actividad forestal en Chile, comienza paralelamente la industrialización del sector. En un principio con la instalación de aserraderos menores hasta llegar a grandes instalaciones industriales como las dedicadas a la producción de celulosa (Luraschi, 2007). Actualmente, el sector forestal es fundamental para el desarrollo de la economía en Chile, representando un 2,6% del PIB (Producto Interno Bruto). Dentro de este rubro el subsector más importante corresponde a la industria de celulosa y papel que equivale a un 56% (INFOR, 2015). De esta manera, el país se posiciona en el décimo lugar de productores de celulosa a nivel mundial, con una participación del 3,0%. Asimismo, la celulosa es el principal producto exportado, comercializándose en el exterior un 90% de su producción (CORMA, 2014).

El desarrollo de esta industria, se ha concentrado en la zona centro sur del país, debido a que las principales especies utilizadas como materia prima, han logrado una buena adaptación a las condiciones de clima y suelo (Luraschi, 2007). De este modo, la región del Biobío concentra la mayor cantidad de hectáreas plantadas, seguida por la del Maule y la Araucanía, siendo las especies más cultivadas el *Pinus radiata* (61,8%), *Eucaliptus globulus* (21,9%) y *Eucaliptus nitens* (9,1%) (CORMA, 2014).

La industria de celulosa en Chile está representada por dos grandes empresas, Compañía Manufacturera de Papeles y Cartones (CMPC S.A.) y Celulosa Arauco y Constitución S.A., las cuales poseen una capacidad de producción aproximada de 2,4 y 2,9 millones de toneladas de celulosa al año en Chile, respectivamente (Arauco, 2013; CMPC, 2014).

En cuanto al proceso productivo el más utilizado a nivel nacional es el de tipo químico, también denominado kraft, en el cual se blanquea el producto mediante la adición de sustancias químicas para disolver la lignina contenida en la madera, produciéndose tanto celulosa blanca de fibra larga de Pino (BSKP) como celulosa blanca de fibra corta de Eucalipto (BEKP).

1.1.1 Proceso de producción de celulosa kraft

En Chile en promedio el 88% de celulosa se produce por medios químicos y principalmente a través del proceso kraft (CMPC, 2014; ODEPA, 2012). En la Figura 1 se ilustra el proceso de producción de celulosa kraft, el cual consiste en la separación de las fibras de celulosa del resto de los componentes de la madera principalmente la lignina y hemicelulosa (Zaror, 2002).

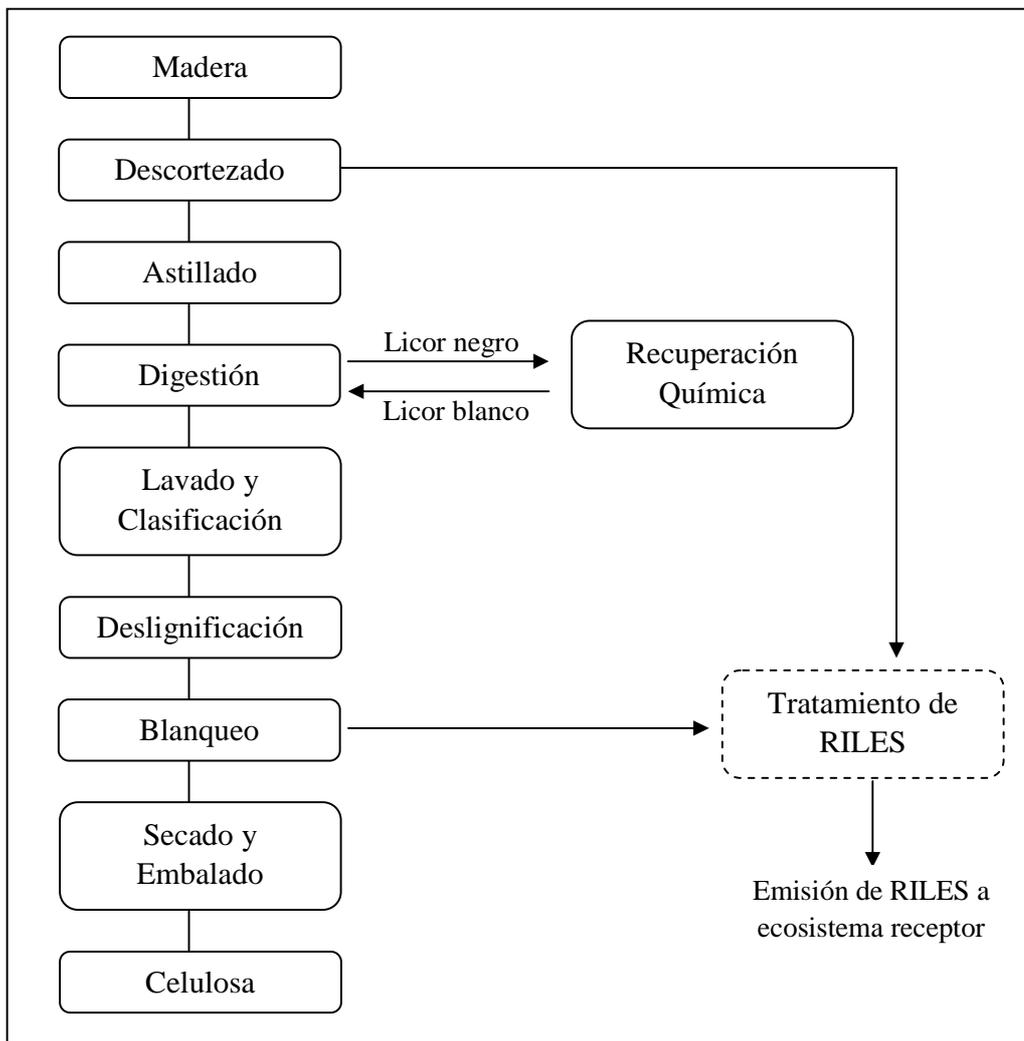


Figura 1. Proceso de producción de celulosa kraft

RILES: Residuos Industriales Líquidos. Fuente: Adaptado de Luraschi, 2007.

El proceso comienza con la etapa de preparación de la madera la cual es sometida a descortezado y astillado, luego las astillas obtenidas son clasificadas y las que tienen el tamaño óptimo son llevadas a la etapa de digestión con el objetivo de liberar las fibras de celulosa contenidas en las astillas, mediante la disolución de la lignina que las mantiene unidas, para lograrlo las astillas son vertidas en un digestor continuo para ser cocidas con licor blanco, una solución alcalina compuesta de hidróxido de sodio (NaOH) y sulfuro de sodio (Na₂S), a temperaturas elevadas de hasta 170 °C y entre 6-7 kg/cm² de presión, a medida que las astillas descienden por el digestor se van transformando en una pulpa de celulosa, generándose además un residuo denominado licor negro que es la mezcla entre licor blanco y lignina disuelta. El licor negro es sometido a recuperación química siendo primero evaporado para concentrar los sólidos que luego son quemados en la caldera recuperadora generándose licor verde compuesto por carbonato de sodio (Na₂CO₃) y sulfuro de sodio (Na₂S). El licor verde es llevado al área de caustificación donde las sales se disuelven y se hacen reaccionar con cal (CaO) para generar licor blanco y ser devuelto a la fase de digestión. La pulpa de celulosa es sometida a varias etapas de lavado, para eliminar los restos de licor negro, y luego clasificación donde las astillas que no alcanzan una cocción completa son reenviadas a la fase de digestión obteniéndose como resultado de esta etapa una pulpa cruda de tonalidad café debido a la presencia de lignina residual. La pulpa cruda es, por tanto, sometida a deslignificación con oxígeno para eliminar dicha lignina mediante oxidación química, lográndose además reducir el uso de químicos en la etapa de blanqueo. Sin embargo, para obtener un producto de valor comercial se realiza una etapa de blanqueo libre de cloro elemental (ECF, elemental chlorine free), basada en dióxido de cloro (ClO₂) que permite extraer fracciones de lignina residual en la pulpa y decolorar el remanente, cabe destacar que en esta etapa se genera la mayor cantidad de residuos líquidos del proceso, puesto que dichos residuos no pueden ser recuperados pues poseen material orgánico disuelto y compuestos organoclorados y por tanto son enviados a un proceso adicional de tratamiento de residuos líquidos. Finalmente, la pulpa blanqueada es sometida a drenado del agua por gravedad y vacío formando una lámina que es secada

con aire caliente para luego ser cortada y apilada para su comercialización (Zaror, 2002; Arauco, 2014; CMPC, 2014).

1.1.2 Residuos industriales líquidos de la industria de celulosa kraft

El proceso de producción de celulosa genera aproximadamente 200 m³ de residuos industriales líquidos (RILES) por tonelada de celulosa producida (Thompson y col., 2001). La composición de los efluentes generados depende del tipo de madera utilizada como materia prima, la tecnología de proceso aplicada, la recirculación interna del efluente para la recuperación, la cantidad de agua dulce suministrada y la secuencia de blanqueo utilizada en el proceso de producción (Pokhrel y Viraraghavan, 2004; Ekstrand y col., 2013). De las diferentes corrientes de aguas residuales generadas las provenientes de la etapa de blanqueo son las más contaminante, debido a la coloración café oscura del efluente a causa de la presencia de cromóforos poliméricos derivados de la lignina, dicho color no solo reduce el atractivo visual y valor recreativo del agua, sino que también afecta la productividad de los ecosistemas acuáticos cuando los efluentes se vierten en los cuerpos de agua receptores. Por otro lado, el efluente proveniente de la etapa de blanqueo posee toxicidad debido a los compuestos orgánicos clorados y los derivados de la lignina que son recalcitrantes a los sistemas de tratamiento biológico y una vez descargados a los ecosistemas tienden a bioacumularse en la cadena alimentaria acuática. Se han identificado más de 1000 de estos compuestos generados por el proceso de blanqueo de la pulpa tales como: cloroformo, clorato, ácidos resínicos, compuestos fenólicos, taninos, catecoles, dioxinas, entre otros, los cuales conjuntamente se definen como halogenado orgánicos adsorbibles (AOX). Estos compuestos pueden ser divididos en compuestos de alto peso molecular y compuesto de bajo peso molecular. Aproximadamente el 80% de los compuestos orgánicos clorados corresponden a derivados clorados de lignina de alto peso molecular (PM > 1000), estos generalmente son biológicamente inactivos y tienen una pequeña contribución a la toxicidad y mutagenicidad. Alrededor del 20% de AOX corresponden a compuestos de bajo peso (PM < 1000) los que son potencialmente tóxicos para los organismos acuáticos, debido a su capacidad para penetrar las membranas celulares o su tendencia a bioacumularse en la

cadena alimentaria acuática, especialmente en la grasa corporal de los animales que ocupan los niveles tróficos superiores (Vidal y col., 2001; Savant y col., 2006; Bajpai, 2013).

1.1.3 Tratamiento de efluentes de la industria de celulosa kraft

Actualmente en la industria de celulosa los efluentes son tratados previa descarga al ecosistema acuático receptor. Lo anterior con el objetivo de disminuir los niveles de contaminantes que pueden causar un impacto negativo al medio ambiente y así dar cumplimiento a la normativa chilena (Brunaud, 2008).

El sistema de tratamiento utilizado incluye un tratamiento primario, seguido de uno secundario y en algunos casos una tecnología terciaria. El tratamiento primario tiene como objetivo la eliminación sólidos a través de sedimentadores, teniendo eficiencias de eliminación promedio de 80% (Thompson y col., 2001). Por otra parte, el tratamiento secundario se lleva a cabo para la eliminación de materia orgánica, la que se logra a través de la degradación biológica de tipo aeróbico o anaeróbica (IPCC, 2001). Las tecnologías convencionalmente utilizadas para la biodegradación son de tipo aeróbico, destacándose los sistemas de lodos activados y reactores de lecho móvil o por sus siglas en inglés MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) (Bajpai, 2011; Jahren y col., 2002). Las tecnologías aeróbicas tienen eficiencia de eliminación de materia orgánica de 58% de DQO y 90% de DBO₅ en el caso de lodos activados y 24-60% de DQO y 85-90% de DBO₅ para sistemas MBBR (Diez y col., 2002; Jarpa y col., 2012; Villamar y col., 2009).

Sin embargo, las tecnologías aeróbicas presentan desventajas asociadas al exceso de lodos producidos, que puede representar hasta el 60% de los costes totales del tratamiento, por tanto, se ha investigado la utilización de tecnologías anaeróbicas cuyo costo de eliminación de lodos es solamente al 10% de lo utilizado por biodegradación aeróbica (Buzzini y col., 2005). Se han obtenido valores de eficiencia de eliminación para biodegradabilidad anaeróbica de aguas residuales de la industria de celulosa y papel entre 80-85% de DQO con un factor de producción de biogás de 520 L/kg para una tasa de carga orgánica de 5,75 kg DQO/m³·d y un TRH de 20 h en un reactor UASB

(Chinnaraj y Venkoba, 2006). Por lo anterior las tecnologías anaeróbicas son una alternativa eficiente y sustentable para el tratamiento de efluentes de la industria de celulosa.

Finalmente, la biodegradación de la materia orgánica contenida en efluentes de celulosa kraft depende de la distribución de peso molecular pues es sabido que la materia orgánica de alto peso molecular (>1000 Da) es más bien recalcitrante al tratamiento biológico, mientras que los de bajo peso molecular ya sean procedentes de degradación de lignina residual o extractivos de la madera estos son reducidos en gran medida luego del tratamiento biológico (Borton y col., 2004; Bijan y Mohseni, 2005).

1.2 Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica es un proceso de degradación biológica de compuestos orgánicos en ausencia de oxígeno (Anderson y col., 2003). A partir de la degradación, se obtiene una mezcla de gases denominada biogás compuesta principalmente por metano (50-70%), dióxido de carbono (30-50%), y pequeñas trazas de nitrógeno, oxígeno, hidrógeno y sulfuro de hidrogeno (su composición depende de la materia prima y biodegradabilidad), además de una suspensión acuosa que contiene los microorganismos responsables de la degradación de la materia orgánica (Acosta y Obaya, 2005). La degradación inicia con la acción de bacterias hidrolíticas que descomponen los biopolímeros a monómeros solubles que se convierten además a ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, hidrógeno, y dióxido de carbono por bacterias acidogénicas. Luego actúan las bacterias acetogénicas transformando los intermediarios fermentativos (ácidos grasos volátiles) a sustratos metanogénicos y las homoacetogénicas que utilizan el hidrogeno y dióxido de carbono producido para generar acetato. Finalmente, los productos finales son transformados en metano y dióxido de carbono por arqueas metanogénicas (Angelidaki y col., 2011; Wellinger y col., 2013).

1.2.1 Microbiología de la digestión anaeróbica

En el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica intervienen diversos grupos de bacterias anaerobias facultativas y anaerobias estrictas las cuales utilizan en forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo, según

se esquematiza en la Figura 2. El proceso de degradación anaerobia es un proceso complejo de múltiples etapas realizadas por la acción combinada de cuatro grandes grupos tróficos:

- Grupo I: Bacterias hidrolíticas
- Grupo II: Bacterias acidogénicas
- Grupo III: Bacterias acetogénicas
- Grupo IV: Arqueas metanogénicas

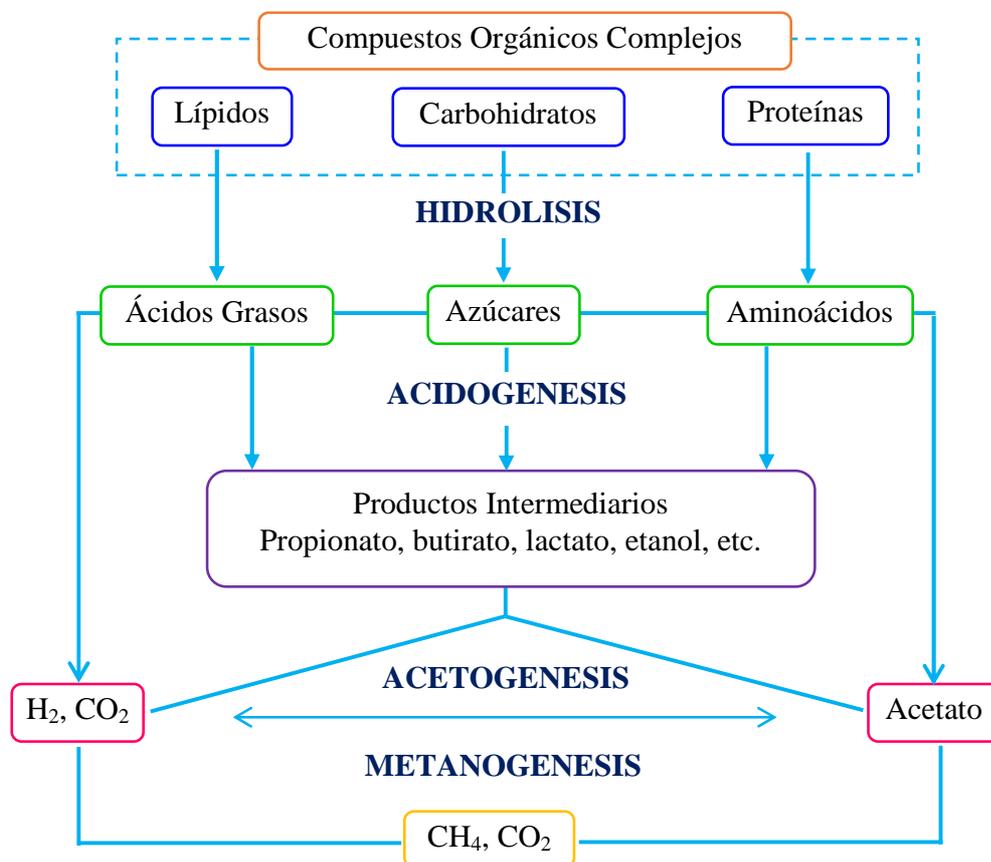


Figura 2. Esquema etapas de la digestión anaeróbica de compuestos anaeróbicos complejos.

1.2.1.1 Hidrólisis

Corresponde al primer paso en la degradación anaeróbica y se define como un proceso en que compuestos orgánicos poliméricos complejos se degradan por la acción de enzimas extracelulares para producir monómeros y dímeros solubles capaces de atravesar la barrera celular convirtiéndose así en accesibles para las bacterias acidogénicas (siguiente grupo en digestión anaeróbica) (Angelidaki y col., 2011). Los principales sustratos son hidratos de carbono que hidrolizan a azúcares simples, proteínas a aminoácidos y lípidos a ácidos grasos de cadena larga. En la mayoría de los casos la hidrólisis es considerada como la etapa limitante de la velocidad para el proceso global de la digestión anaeróbica, por tanto, en ciertos casos es necesario un pretratamiento para hacer posible la hidrólisis (Van Lier y col., 2008). Las bacterias que producen la hidrólisis pueden ser anaerobias estrictas o facultativas e incluyen; *Clostridium spp*, *Peptococcus anaerobus*, *Bifidobacterium spp*, *Desulphovibrio spp*, *Corynebacterium spp*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus*, y *Escherichia coli*.

1.2.1.2 Acidificación

Durante esta etapa los productos de hidrólisis, compuestos orgánicos de bajo peso molecular, difunden dentro de las células bacterianas a través de la membrana celular y son posteriormente fermentados en ácidos grasos volátiles (AGV) tales como ácido acético, propiónico, butírico y valérico, así como compuestos reducidos como etanol, además de hidrógeno y dióxido de carbono (Díaz-Báez y col., 2002; Angelidaki y col., 2011). La acidogénesis es el paso más rápido de conversión en la cadena alimentaria anaeróbica, con tasa de conversión y rendimientos bacterianos cinco veces más altos que los metanógenos. Por tal causa, ante sobrecargas o perturbación por compuestos tóxicos, los reactores anaeróbicos sufren una acidificación, y una vez que la alcalinidad es consumido por los ácidos producidos el pH comienza a caer, lo que resulta en una mayor concentración de AGV no disociados, que conduce a una inhibición de la metanogénesis (Van Lier y col., 2008). Los fermentadores incluyen diferentes géneros y especies; entre ellos se encuentran: *Clostridium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyribacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*,

Pseudomonas, *Desulfobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus* y *Escherichia* (Anderson y col., 2003).

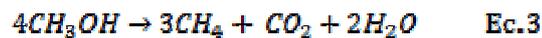
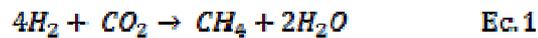
1.2.1.3 Acetogénesis

Durante esta etapa los productos de acidogénesis son oxidados a acetato, dióxido de carbono e hidrógeno, ya que estos son los únicos sustratos que pueden ser metabolizados de manera eficiente por los metanógenos en la etapa final de la digestión anaerobia. Dos grupos distintos de bacterias acetogénicas se pueden distinguir. El primer grupo, acetógenos productores obligados de hidrógeno (OHPA, Obligate Hydrogen Producing Acetogens), producen acetato, dióxido de carbono e hidrógeno a partir de los principales productos intermedios de ácidos grasos (propionato y butirato) y alcoholes (tales como etanol) (Anderson y col., 2003). Aunque la mayoría de este tipo de reacciones consume energía, el acoplamiento entre OHPA y bacterias consumidoras de H₂ (metanógenos hidrogenotróficos), permite un balance energético favorable. Tales asociaciones microbianas en el que un organismo productor de H₂ puede crecer solamente en presencia de un organismo consumidor H₂ se denominan asociaciones sintróficas o de transferencia interespecífica de hidrógeno (Díaz-Báez y col., 2002; Van Lier y col., 2008; Angelidaki y col., 2011). Estas relaciones son sensibles a pequeñas perturbaciones (en un reactor anaeróbico) que dan lugar a efectos inhibitorios donde por un lado los metanógenos son inhibidas por ácidos grasos (sustratos de la OHPA) y los OHPA son inhibidas por hidrógeno (sustrato de los metanógenos); cualquier aumento significativo en el nivel de cualquiera de estos sustratos conducirá finalmente a la inhibición de los dos grupos de bacterias (Anderson y col., 2003). El segundo grupo de bacterias acetogénicas son los homoacetogénicas, las que catalizan la formación de acetato a partir de hidrógeno y dióxido de carbono, participando también en el proceso de transferencia interespecífica de hidrogeno ayudando a mantener las concentraciones de hidrógeno bajas requeridas por el OHPA (Anderson y col., 2003; Van Lier y col., 2008).

1.2.1.4 Metanogénesis

En esta etapa arqueas metanogénicas cumplen la etapa final en la conversión anaerobia de la materia orgánica en CH₄ y CO₂ (biogás). Las arqueas metanogénicas se clasifican en dos grupos principales: metanógenos acetoclásticos (consumidoras de acetato) y metanógenos hidrogenotróficos (consumidores de hidrógeno). En general, alrededor del 70% del metano producido se origina a partir de acetato como el precursor principal, mientras que el 30% restante se origina principalmente de H₂ y CO₂ (Van Lier y col., 2008).

Con base en el tipo de sustrato utilizado, las arqueas metanogénicas utilizan tres vías principales para la formación de metano en ambientes anaeróbicos: La primera es la metanogénesis hidrogenotrófica en esta el dióxido de carbono es el aceptor final de electrones el cual es reducido a metano (Ec.1). La reducción de CO₂ es importante para mantener una baja concentración de H₂, condición indispensable para los procesos de transferencia interespecífica de H₂. La segunda es metanogénesis acetoclástica donde el carbono metilado del acetato es reducido directamente a metano y el grupo carboxilo es oxidado a CO₂ (Ec. 2). Finalmente, metanogénesis metilotrónica, cuando los compuestos monocarbonados metilados (metanol (Ec. 3), metilaminas, sulfuro de dimetilo, etc.) se convierten en metano (Díaz-Báez y col., 2002; Angelidaki y col., 2011).



1.2.2 Inhibición de la digestión anaeróbica

la digestión anaerobia es sensible a una amplia gama de compuestos puede inhibir el proceso por tanto una mejor comprensión de los mecanismos fundamentales detrás de la inhibición mejorará la aplicación de estos procesos y además problemas tales como bajo rendimiento de metano y la inestabilidad del proceso pueden ser prevenidos. Los inhibidores comúnmente presentes en los digestores anaerobios incluyen amonio, sulfuro, metales pesados y ácidos grasos volátiles.

1.2.2.1 Sulfuro

Sulfato es un componente común de muchas aguas residuales industriales. En los reactores anaeróbicos, sulfato se reduce a sulfuro por las bacterias sulfato reductoras (BSR). Dos etapas de la inhibición metanogénicas, debido a la reducción del sulfato, a saber. la inhibición primaria debido a la competencia por el sustrato a partir de las BSR y la inhibición secundaria resultante de la disminución de la población metanogénicas debido a la inhibición de la función celular por sulfuros solubles. Debido a que las bacterias productoras de metano y BSR operan en las mismas condiciones ambientales competirán por los mismos sustratos con diferentes microorganismos implicados en la digestión anaeróbica, según se detalla a continuación (Chen y col., 2007; Chen y col., 2014).

Competencia entre BSR y bacterias hidrolítica y acidogénicas: BSR no degradan los biopolímeros naturales como almidón, glucógeno, proteínas o lípidos y por lo tanto depende de la actividad de otros organismos para proporcionarles productos de degradación, por consiguiente, la competencia no se produce en la etapa de hidrólisis. Y en sustratos acidogénicos no es común el crecimiento de BSR, aunque se ha mostrado que utilizan azúcares y aminoácidos como sustrato.

Competencia entre BSR y bacterias acetogénicas: Un sustrato para las BSR e intermediario clave en la digestión anaeróbica es el propionato. Las BSR muestran mayor afinidad ($K_s = 0,15 \text{ d}^{-1}$) y tasas de crecimiento ($\mu_{\text{máx}} = 23 \text{ mg/L}$) más rápidas que especies sintróficas utilizadoras de propionato ($K_s = 0,05 \text{ d}^{-1}$ y $\mu_{\text{máx}} = 34 \text{ mg/L}$), por tanto, la oxidación sulfidogénicos de propionato es la vía de degradación principal de este sustrato. Butirato, otro intermediario clave, es utilizado exclusivamente por BSR para relaciones $\text{DQO}/\text{SO}_4 = 0,5$, pero al aumentar dicha relación a 3 hay competencia por dicho sustrato.

Competencia entre BSR y arqueas metanogénicas hidrogenotróficas: Según consideraciones termodinámicas y afinidad de sustrato, la oxidación de H_2 es catalizada casi exclusivamente por BSR debido a parámetros cinéticos más favorables, umbral de concentración de hidrógeno inferiores en comparación con los metanógenos, los que no

pueden competir por H_2 con el BSR. Sin embargo, la temperatura afecta dicha competencia, las BSR predominan en condiciones mesófilas, mientras que metanógenos pueden competir con BSR en condiciones termófilas.

Competencia entre BSR y arqueas metanogénicas acetoclásticas: Los resultados de competencia por acetato son contradictorios algunos autores informan éxito de la competencia de BSR, mientras que otros informaron predominio de las arqueas metanogénicas. Dichas discrepancias pueden ser atribuidas a la relación DQO/SO₄ puesto que a relaciones sobre 2,7 predominan los metanógenos mientras que relaciones menores que 1,7 se ven favorecidas las BSR. Otra explicación del predominio de metanógenos es que las BSR tienen una menor afinidad por acetato que para otros sustratos.

Finalmente, y como ya se ha podido dilucidar, el resultado de esta competencia depende de la cinética de conversión, específicamente estudiado mediante la relación DQO/SO₄, la cual deriva de la siguiente explicación; si la materia orgánica se oxida a través de la reducción de sulfato, 8 electrones pueden ser aceptados por molécula de sulfato. Dado que una molécula de oxígeno sólo puede aceptar 4 electrones, la capacidad de aceptar electrones de 2 moles de O₂ equivale a 1 mol de SO₄, equivalente a 0,67 g de O₂ por g SO₄. Esto significa que para los flujos de residuos con una relación DQO/SO₄ de 0,67, es teóricamente suficiente sulfato disponibles para eliminar por completo la materia orgánica (DQO) a través de la reducción de sulfato. Para proporciones DQO/SO₄ inferiores a 0,67, la cantidad de materia orgánica es insuficiente para una reducción completa del sulfato presente entonces debe añadirse sustrato extra si la eliminación de sulfato es el objetivo del tratamiento. Por el contrario, para las aguas residuales con una relación DQO/SO₄ superior a 0,67, una eliminación completa de la materia orgánica sólo puede lograrse si, además de la reducción de sulfato, también se produce la metanogénesis (Van Lier y col., 2008).

1.2.2.2 Amonio

El amonio se produce por la degradación biológica de la materia nitrogenada, en su mayoría en la forma de proteínas y urea. Aunque el amonio es un tampón importante

en los procesos anaeróbicos, alta cargas de amoníaco causa generalmente rápida producción de AGV de modo que la capacidad de amortiguación del sistema puede no ser capaz de compensar la disminución en el pH resultando en una falla reactor. Las dos formas principales de nitrógeno amoniacal inorgánico son el ion amonio (NH_4^+) y amonio libre (NH_3), siendo esta última la forma no ionizada tóxica, por tanto, causa principal de la inhibición ya que es libremente permeable a la membrana (Chen y col., 2007). Entre los cuatro tipos de microorganismos anaerobios, los metanógenos son los menos tolerantes y los más propensos a dejar de crecer debido a la inhibición por amonio, por ejemplo, a medida que las concentraciones de amonio se incrementan en el intervalo de 4,05 a 5,73 g/L de N- NH_3 , las poblaciones acidogénicas en el lodo granular apenas se ven afectados mientras que la población metanogénica pierde 56,5% de su actividad. Respecto de la configuración del reactor se ha encontrado que concentraciones de 2,48 g/L de N- NH_3 pueden inhibir 50% de la actividad metanogénica específica y concentraciones que van desde 1,7 a 14 g/L de N- NH_3 reducen en un 50% la producción de metano en reactores tipo UASB. Finalmente, aguas residuales ricas en amonio, son más difíciles de tratar en condiciones termófilas, a pesar de que la cinética es más favorable en comparación con condiciones mesófilas, pues el amonio libre (NH_3) será mucho mayor a temperaturas más elevadas (Chen y col., 2014).

1.2.2.3 Metales pesados

Los metales pesados están a menudo presentes en las aguas residuales industriales en concentraciones significativas, y los más frecuentemente encontrados son el cobre, zinc, plomo, mercurio, cromo, cadmio, hierro, níquel, cobalto y molibdeno. El efecto tóxico de los metales pesados se atribuye a la interrupción de la función y estructura de la enzima por la unión de los metales con tiol y otros grupos en moléculas de proteínas o mediante la sustitución de los metales presentes en la naturaleza en grupos prostéticos de enzimas. Una característica distintiva de metales pesados es que, a diferencia de muchas otras sustancias tóxicas, no son biodegradables y pueden acumularse en concentraciones potencialmente tóxicas. Se han descrito mecanismos de eliminación o reducción de las concentraciones de iones de metales pesados tales como

la precipitación, adsorción y la quelación por ligandos orgánicos e inorgánicos. Siendo la precipitación por adición de sulfuro el método principal para eliminar metales pesados en digestión anaeróbica (Díaz-Báez y col., 2002).

1.2.2.4 Ácidos grasos volátiles

La naturaleza no disociada de los AGV les permite penetrar en la membrana de la célula bacteriana de manera más eficiente que sus contrapartes ionizadas, y una vez asimilados, inducen una disminución intracelular de pH y por lo tanto una disminución en la tasa metabólica microbiana desestabilizando el reactor. Acetato ha sido descrito como el menos tóxico de los AGV, mientras que el propionato a menudo se ha implicado como un importante efector de fallo de digestores. La concentración AGV en el reactor debe mantenerse por debajo de 500 mg/L en cualquier punto del tiempo y preferiblemente por debajo de 200 mg/L para un rendimiento óptimo (Chen y col., 2014).

1.2.3 Beneficios de la digestión anaeróbica

El renovado interés en los aspectos energéticos de la biodegradabilidad anaeróbica de aguas residuales surge como consecuencia directa de las necesidades de nuevas fuentes de energía renovable y la preocupación sobre el calentamiento global, ya que la valorización del biogás generado como subproducto de la degradación biológica es energéticamente eficiente y respetuosa del medio ambiente debido a la baja emisión de contaminantes peligrosos (Appels y col., 2011). Produciéndose aproximadamente 13,5 MJ de energía derivada de metano por kg DQO removida, equivalente a 1,5 kWh de electricidad (suponiendo un 40% de eficiencia de conversión eléctrica). Comparado con la degradación aeróbica de lodos activado el beneficio total de energía de la digestión anaeróbica sobre el proceso de lodos activados es 2,2 MW (Van Lier y col., 2008; Ghangrekar, 2012).

Microorganismos anaeróbicos obtienen poca energía de las conversiones que catalizan y, en consecuencia, se obtienen rendimientos celulares bajos en el intervalo de 0,02-0,2 g de células/g de sustrato, en contra de los microorganismos aerobios que tienen rendimientos mucho más altos entre 0,4-0,7 g de células/g sustrato. Como

consecuencias existe una reducción de 90% en producción de lodos anaeróbicos en comparación con los sistemas aeróbicos. Dichos lodos anaeróbicos además tienen un alto grado de estabilización permitiendo por ejemplo su almacenamiento sin alimentar reactores para procesos que operan por temporadas o utilización como fertilizante para la aplicación al suelo como disposición final ya que el lodo digerido contiene suficientes nutrientes necesarios para las plantas (Van Lier y col., 2008; Meyer y Edwards, 2014).

Otros beneficios de la utilización de procesos anaeróbicos para el tratamiento de aguas residuales son factibilidad de aplicación tanto en instalaciones industriales a gran escala como a pequeña escala, baja necesidades de nutrientes, bajos requisitos potencia, ya que no hay necesidad de aireación, se requieren volúmenes de reactor pequeños y menor espacios de terreno para aplicación de cargas de hasta 20-35 kg DQO por m³ de reactor al día, permite el procesamiento de fuentes de biomasa con alto contenido de agua (incluso de materia seca inferior al 40%).

1.3 Reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos

El reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos, denominado UASB por sus siglas en inglés (Upflow anaerobic sludge blanket), es ampliamente utilizado para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, ya que su diseño les permite tratar efluentes que presentan materia orgánica medias y elevadas entre 15-40 kgDQO/m³d, para reactores escala piloto de 6 m³ (Lettinga y col., 1980).

La Figura 3 muestra la configuración del reactor UASB este es un tanque al cual el agua residual entra por su parte inferior y fluye de manera ascendente, pasando por una zona de digestión compuesta por un lecho de bacterias anaeróbicas que degradan la materia orgánica y los transforman en biogás. En la parte superior existe un sistema de separación de tres fases (líquido, sólido, gas), por donde se realiza la recogida de biogás (Anderson y col., 2003; Bedoya y Sanches, 2009).

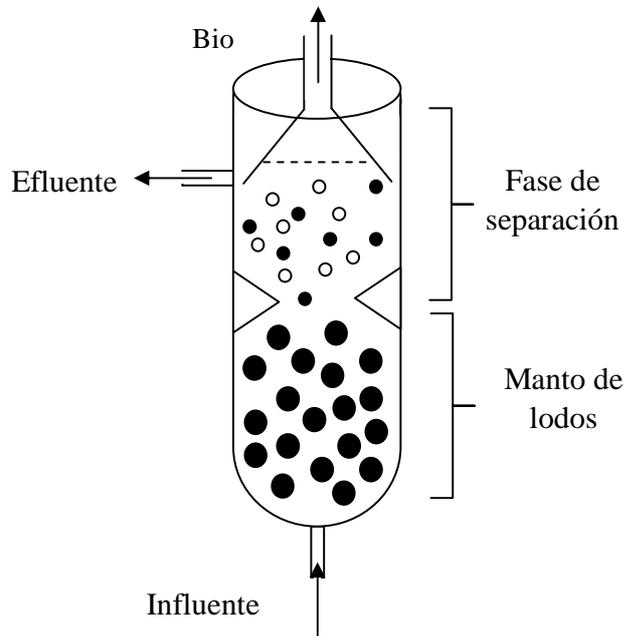


Figura 3. Esquema de configuración reactor UASB.

1.3.1 Aspectos operacionales y ambientales en reactor UASB

Existen ciertos parámetros que influyen en el rendimiento del reactor, los cuales deben ser periódicamente controlados para mantener la operación óptima del reactor y evitar un colapso del sistema. Los parámetros más importantes se detallan en los siguientes párrafos.

1.3.1.1 Temperatura

La temperatura es uno de los factores ambientales más influyentes, ya que controla la actividad de todos los microorganismos a través de dos efectos de contraste. Generalmente, un aumento de la temperatura conduce a un aumento en la actividad microbiana, causando el aumento de tasas de crecimiento, hasta alcanzar una temperatura óptima. Sin embargo, por encima de esta temperatura, que es característica de cada especie, da lugar a un fenómeno de inhibición del proceso. Se sabe que la formación biológica de metano es posible a dos rangos de temperatura el mesófilo (25-45°C) con un óptimo de 30-37°C y el termófilo (45-65°C) con un óptimo de 55-60°C (Ghangrekar, 2012; AgroWaste, 2016). La mayoría de los digestores industriales operan en rangos mesófilos, sin embargo, ciertas ventajas hacen atractiva la aplicación de

rangos termófilos como el doble de producción de metano que en reactores mesófilos, tolerar mayores velocidades de carga orgánica, producir una menor cantidad de lodos, aumento de las velocidades de reacción y aumentar la eliminación de organismos patógenos. Sin embargo, hay varias características microbiológicas asociado a la digestión termófila que pueden afectar negativamente el rendimiento de un digestor como que a menudo son menos estables que los reactores mesófilos, requieren más energía para calentar el reactor, producen altas concentraciones de AGV en sus efluentes, bajo crecimiento bacteriano o rendimiento (0,08 g SSV/ g DQO), mayor sensibilidad a los cambios bruscos de temperatura, dichas desventajas por tanto hacen que la digestión mesófila prevalezca por sobre la termófila (Anderson y col., 2003; Amani y col., 2010).

1.3.1.2 pH

El control de pH es fundamental para el mantenimiento del crecimiento bacteriano óptimo y procesos de conversión en los sistemas microbianos anaeróbicas. Los microorganismos anaeróbicos, especialmente los metanógenos, exhiben una sensibilidad característica a condiciones extremas de pH. Por lo tanto, el mantenimiento de un pH adecuado y estable dentro del digestor debe ser una prioridad importante para asegurar la digestión metanogénica eficiente. El mejor rango de pH parece ser alrededor de la neutralidad, (óptimo esta entre 6,3 – 7,8) pues a pH neutro los AGV están mayoritariamente (>99%) en la forma ionizada (no tóxica). No obstante, cuando el pH disminuye, los AGV están menos disociados (tóxicos), incluso a pH 5.0, los AGV están disociados en un 50% aproximadamente (Díaz-Báez y col., 2002). La reducción del pH puede ser contrarrestado por procesos naturales, tales como la alcalinidad de bicarbonato y el consumo de ácidos grasos volátiles por metanógenos. Si esto no ocurre, hay dos opciones para corregir la situación. El primer enfoque es detener la alimentación del reactor, dando a los metanógenos tiempo suficiente para consumir el exceso de ácidos grasos volátiles y elevar el valor pH a un nivel aceptable. La segunda opción es dosificar el reactor con álcali, es decir, NaOH o Na₂CO₃, con el fin de elevar el pH o proporcionar capacidad de tamponamiento adicional (Anderson, 2003; Leitao y col., 2006).

1.3.1.3 Alcalinidad

La alcalinidad es una medida de la capacidad tampón del reactor que permite evitar la acidificación del reactor debido a una acumulación de AGV que inhibe los metanógenos. Como parámetro operacional en reactores anaeróbicos se controla la relación entre la alcalinidad debida a los AGV y la alcalinidad total la cual a un valor de 0,2 indica una excelente capacidad buffer del sistema, con un máximo valor de 0,4; sin embargo, en los reactores UASB, un valor de 0,35 indica acidificación (Díaz-Báez y col., 2002; AgroWaste, 2016).

1.3.1.4 Nutrientes

Aunque los requerimientos nutricionales de las bacterias durante el proceso de degradación anaeróbica son bajos, pero de suma importancia, ya que los nutrientes aseguran que la célula es capaz de sintetizar las enzimas y cofactores que impulsan las reacciones bioquímicas y metabólicas, y además la adición de nitrógeno y fósforo incrementa la eficiencia del proceso (Díaz-Báez y col., 2002). Para tener éxito en la biodegradación anaeróbica se proponen relaciones DQO: N: P de 350:7:1 para aguas residuales de baja carga y de 1000:7:1 para aguas residuales altamente cargadas (Anderson y col., 2003; Amani y col., 2010).

1.3.1.5 Tiempo de residencia hidráulico

El tiempo de residencia hidráulico (TRH) se define como el tiempo en que permanece en el sistema el influente que se desea tratar, y se determina dividiendo el volumen del reactor (L) por el caudal con que ingresa el influente al sistema (L/d). El tiempo de retención que optimiza el proceso depende del tipo de residuo y reactor que se utilice, por ejemplo, se han reportado tiempos de retención usuales para aguas residuales derivados de la industria de celulosa que varían entre 24-40 horas en digestores UASB (Buzzinni y col., 2006; Yasar y Tabinda, 2010).

1.3.1.6 Velocidad de carga orgánica

La velocidad de carga orgánica (VCO), corresponde a la concentración de materia orgánica (DQO) que ingresa al sistema por unidad de volumen útil y tiempo. Se

ha encontrado VCO entre 0,53 – 1,4 kgDQO/m³·d usando como sustrato aguas residuales derivados de la industria de celulosa y siendo tratado en reactor UASB (Buzzinni y col., 2006; Yasar y Tabinda, 2010). El arranque de reactores anaerobios se fundamenta en una estrategia de aumento lento de la carga orgánica, las cuales se incrementan cuando el reactor presenta estabilidad en remociones de materia orgánica (Díaz-Báez y col., 2002).

1.4 Hipótesis y Objetivos

1.4.1 Hipótesis

En base a lo previamente descrito, se postula que la biodegradación anaeróbica de materia orgánica contenida en efluentes de celulosa kraft mediante un reactor UASB es mayor en las fracciones de peso molecular menor a 1000 Da que en las de mayor a 1000 Da.

1.4.2 Objetivos

Objetivo General

Evaluar la distribución de pesos moleculares de la materia orgánica en efluentes de celulosa Kraft y su efecto en la biodegradabilidad anaeróbica en un reactor UASB.

Objetivos Específicos

- 1.** Evaluar la eficiencia de biodegradación de materia orgánica en un reactor anaeróbico UASB alimentado con influente de celulosa kraft.
- 2.** Determinar el balance de materia en el reactor anaeróbico UASB alimentado con influente de celulosa kraft.
- 3.** Evaluar la distribución de pesos moleculares de un efluente de celulosa kraft previo y posterior al tratamiento en un reactor anaeróbico UASB.

2 MATERIALES Y METODOS

2.1 Montaje reactor UASB

Se instaló un reactor UASB de volumen útil de 2,5 L a escala de laboratorio para estudiar la biodegradabilidad anaeróbica de aguas residuales provenientes de la industria de celulosa kraft, 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. En la Figura 4 se observa un esquema del reactor y se alimentó de manera ascendente por medio de una bomba peristáltica Masterflex manteniendo la temperatura por medio de una manguera alrededor del reactor en forma de serpentín por la que se recirculó agua proveniente de un baño termostático a 40°C a través de otra bomba peristáltica Masterflex, en la parte superior se localizó un separador de tres fases (sólido-líquido-gas) a la forma de embudo invertido y se selló el reactor en su parte superior con tapón de goma a través del cual se hizo pasar una manguera que conecta con el embudo para que difundiera el biogás el cual se midió por medio de un medidor de biogás basado en el registro automático de una señal determinada por el volumen de gas producido en el digestor, según el diseño desarrollado por Veiga y col. (1990).

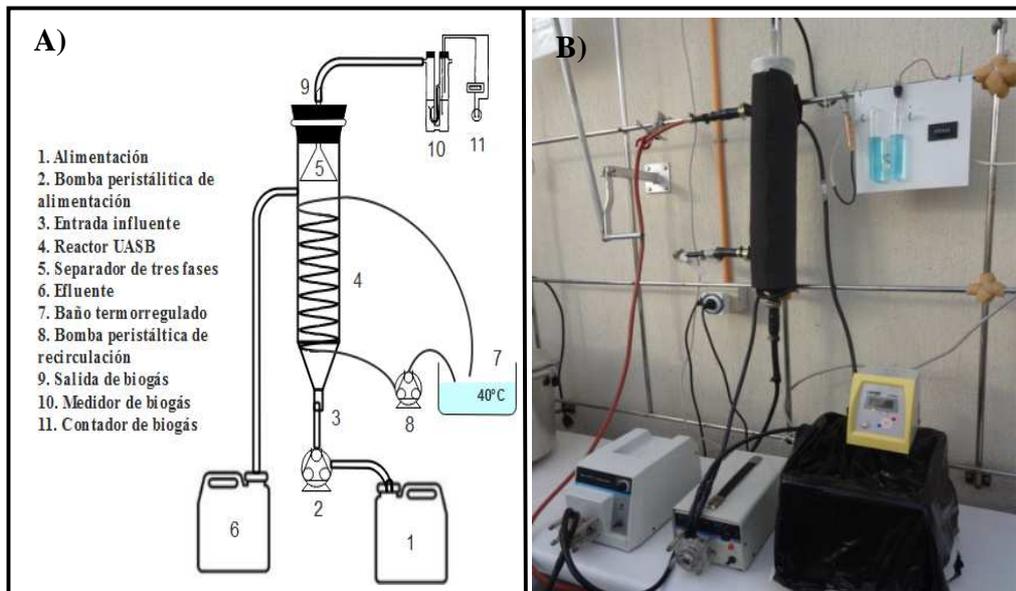


Figura 4. Configuración reactor UASB

Donde A) Esquema del sistema, B) Montaje del reactor.

2.2 Determinación de actividad metanogénica específica

El ensayo de actividad metanogénica específica (AME) se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Soto y col. (1993). Se utilizaron botellas ámbar a las cuales se adicionó 7,6 mL de lodo granular (equivalente a 2,5 gSSV/L) proveniente de un reactor anaeróbico de industria cervecera, 10 mL de solución de nutrientes [NH_4Cl (2,8 g/L); KH_2PO_4 (2,5 g/L); $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1g/L); $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/L) y NaHCO_3 (4 g/L), 1 mL de Na_2S (1 g/L) y 2 mL de solución de ácidos grasos volátiles (AGV) (ácido acético 2 mg/L; ácido propiónico 0,5 mg/L; ácido butírico 0,5 mg/L) ajustada a pH 7,0 con NaOH y 79,4 mL de agua destilada completando un volumen de 100 mL. El ensayo fue realizado por duplicado y adicionalmente se realizó un blanco sin AGV (se adicionaron 81,4 ml de agua destilada para completar el volumen). Como se muestra en la Figura 5, las botellas ámbar fueron conectadas a una cámara de seguridad y un frasco mariotte con una solución de NaOH, luego se inyectó nitrógeno gas al sistema para eliminar la cabeza de aire y finalmente las botellas fueron depositadas en un baño termostático a 37°C. La duración del ensayo fue de 20 días en los cuales se midió diariamente el desplazamiento de volumen de la solución de NaOH que corresponde al volumen desplazado de CH_4 (el CO_2 contenido en el gas es absorbido) el cual es utilizado para el cálculo de la AME.

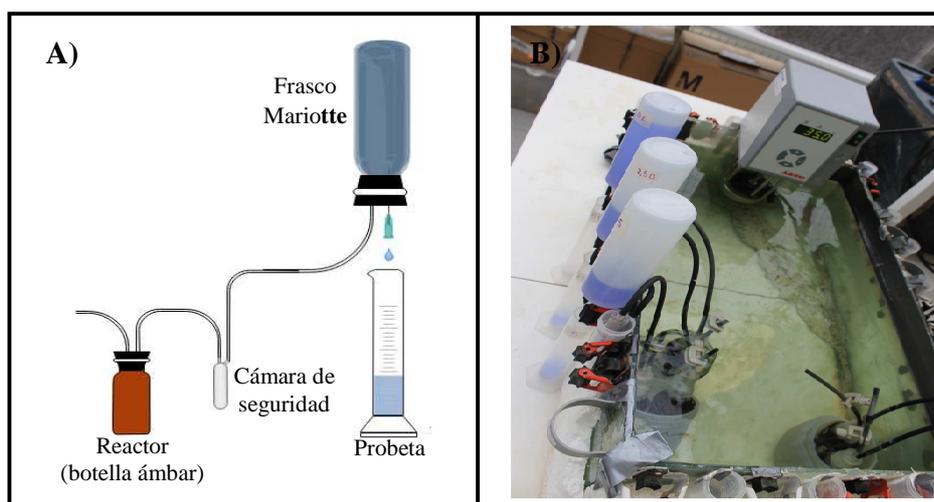


Figura 5. Determinación de la Actividad Metanogénica Específica. Donde A) Esquema del sistema, B) Montaje del sistema.

La AME se expresa como $\text{gDQOCH}_4/\text{gSSV}\cdot\text{d}$ y se calculó a partir de la velocidad máxima de producción de metano en mLCH_4/d . Este cálculo se realizó según la Ecuación 4 descrita por Díaz-Báez y col. (2002).

$$\text{AME} = R / (\text{FC} \times V \times \text{SSV}) \quad \text{Ec. 4}$$

Dónde: R = velocidad de producción de CH_4 en $\text{mL CH}_4/\text{d}$, FC = factor de conversión en $\text{ml CH}_4/\text{g DQO}$, V = volumen efectivo de líquido en el digestor en L y SSV = concentración de lodo en g SSV/L

2.3 Puesta en marcha reactor UASB

Una vez montado el reactor y determinada la AME, el reactor fue inoculado con $6,54 \text{ gSSV/L}$ (500 mL) de lodo granular y fue puesto en marcha con una VCO y TRH inicial de $0,31 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$ y 2 días, respectivamente.

2.3.1 Inóculo

Se utilizó un lodo anaeróbico granular proveniente del tratamiento de aguas residuales de una industria cervecera localizada en la región de La Araucanía. Se determinó al lodo la cantidad de sólidos suspendidos volátiles (SSV) de acuerdo con Standard Methods (APHA, 2005) y de acuerdo con la AME del lodo se estimó la VCO máxima que puede tolerar el consorcio bacteriano.

2.3.2 Influyente

Se utilizó efluente proveniente de una industria de celulosa kraft de la región del Biobío, que utiliza como materia prima las especies *Eucalyptus globulus* y *Pinus radiata*, y que cuenta con sistema ECF de blanqueo. La toma de muestra, se realizó después del tratamiento primario de la planta, que consiste en la eliminación de sólidos suspendidos. El influente fue almacenado en bidones de 50 L y refrigerado a 4°C .

2.4 Operación reactor UASB

Se operó el reactor en continuo por un período de 133 días a diferentes VCO las cuales se aumentaron de manera progresiva durante 3 etapas en condiciones mesófilas a una temperatura de 35°C . Para poner en marcha el reactor (etapa I) se determinó la VCO

máxima tolerable por el consorcio de acuerdo a la actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico previamente determinada, para el final de operación se buscó desestabilizar el sistema aumentando la VCO de manera considerable. En la Tabla 1 se resume las condiciones de operación del sistema durante las etapas de operación.

Tabla 1. Resumen estrategia operacional reactor UASB.

	Etapa I	Etapa II	Etapa III
Duración (d)	66	45	22
VCO (gDQO/L·d)	0,31	0,44	1,89
VCS (gSO ₄ /L·d)	0,21	0,26	0,94
TRH (d)	2,0	1,5	0,5

2.5 Monitoreo reactor UASB

Se monitoreo diariamente durante las etapas I y II, y dos veces por semana durante la etapa III ciertos parámetros físicos a la entrada y salida del reactor para controlar la estabilidad del reactor mediante el pH, conductividad, potencial de óxido reducción y temperatura por medio de un medidor multiparámetro portátil marca OAKTON PC650.

Además, se controló la alcalinidad total, parcial e intermedia durante la etapa I diariamente, la etapa II día por medio y etapa III dos veces por semana. El método utilizado para determinar la alcalinidad fue la valoración con H₂SO₄ de un volumen dado de muestra hasta pH 4,3. La alcalinidad total y parcial (AT y AP), se determinó según lo establecido por Rozzi (1986), siendo la alcalinidad intermedia (AI) la diferencia entre la AT y AP, con la finalidad de determinar la relación de la alcalinidad con los AGV ($AI/AT < 0,3-0,4$) para controlar el reactor. La concentración conocida hasta el pH de 5,75 corresponde a la AP, mientras que la valoración de la muestra hasta pH 4,3, equivale a la AT. La AI, por tanto, es la diferencia entre la AT con la AP (Ripley y col., 1986; Rozzi, 1986).

2.6 Métodos analíticos

Se evaluó al influente y efluente el contenido de materia orgánica determinando el COT mediante la técnica de oxidación catalítica por combustión a 680°C seguido de detección de CO₂ generado por la oxidación utilizando un analizador de gases infrarrojo (NDIR) para lo cual se empleó el equipo TOC 28 L-CPH Shimadzu (APHA, 2005), la materia orgánica degradable medida como DQO (soluble y total) mediante el método colorimétrico de reflujo cerrado 5220-D según Standard Methods (APHA, 2005) a 600 nm en un espectrofotómetro UV-VIS UV-1800 Shimadzu (NCh2313/24, 1997; APHA, 2005) y la materia orgánica biodegradable medida como DBO₅ incubando las muestras en oscuridad a 20 °C por 5 días, determinando así el oxígeno disuelto con el método Winkler azida modificada (APHA, 2005; NCh 2313/5, 2005). Se determinó también el color a las muestras de influente y efluente ajustando el pH a 9, con ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido de sodio (NaOH), según fue necesario, y se midió en espectrofotómetro una longitud de onda de 440 nm, en cubeta de vidrio 1×1 cm, y compuestos específicos tales como, 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 en el equipo UV-1800 Shimadzu. Finalmente, se midió fotométricamente los nutrientes en la forma de nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT), el sulfato y los AOX usando test en cubetas para determinaciones en fotómetro Spectroquant NOVA-60 de Merck.

2.7 Ultrafiltración

La distribución de peso molecular se realizó mediante la técnica de ultrafiltración (UF) en una celda agitada de 450 mL para ultrafiltración (Modelo Advantec UHP 76) a 20°C utilizando tres membranas de celulosa de peso molecular nominal de corte de 10000, 5000 y 1000 Da aplicando nitrógeno sobre el líquido (influyente y efluente, según fuera el caso) en la celda agitada de acuerdo a lo establecido por Vidal y col. (2001). Como resultado de la ultrafiltración se obtuvieron cuatro fracciones distinta; una muestra de retentado que no traspasa la membrana de 10000 Da denominada “>10000 Da”, una

muestra que traspasa la membrana de 10000 Da y fue retenida por la de 5000 Da denominada “10000 – 5000 Da”, una muestra entre las membranas de 5000 y 1000 Da denominada “5000 – 1000 Da” y una muestra de permeado de la membrana de 1000 Da denominada “1000 Da”.

2.8 Balance de materia orgánica

Se realizó el balance de materia orgánica en base a la DQO de entrada y salida del reactor durante todo el período de operación de acuerdo con Van Lier y col. (2008) el balance se estima según la Ecuación 5.

$$DQO_{\text{influyente}} = DQO_{\text{efluente}} + DQO_{\text{gas}} + DQO_{\text{lodo}} \quad \text{Ec. 5}$$

Se determinó la materia orgánica (gDQO) del influente y efluente calculando en base al caudal y DQO a la entrada y salida del reactor. La DQO debida al metano (DQO_{gas}) se determinó en base a los pasos contados de metano, sin embargo, al no contar paso esta se asumió equivalente a cero. La DQO acumulada en el lodo se calculó en base a la AME y SSV del lodo a la salida del reactor

3 RESULTADOS

3.1 Caracterización del influente

El influente corresponde a efluente de la industria de celulosa kraft proveniente del procesamiento de *Pinus radiata* y *Eucaliptus globulus* como materia prima y obtenido luego de haber realizado tratamiento primario.

En la Tabla 2 se muestra la caracterización fisicoquímica del influente donde el pH tiene un rango máximo de 8, pese a esto su valor promedio se mantiene cercano a la neutralidad. La materia orgánica posee desviaciones de 25, 54 y 41% con respecto a los promedios para DQO, DBO_5 y COT, respectivamente. Los compuestos específicos presentan desviaciones < 26%, siendo el color quien presenta la mayor desviación. Finalmente, los nutrientes presentan desviaciones de 25 y 50% para el PT y NT, respectivamente.

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica influente

Parámetro	Unidad	Rango	Promedio
pH	-	6,85 – 8,00	7,49 ± 0,3
Conductividad eléctrica	mS/cm	2,920 – 3,477	3,120 ± 0,13
Sólidos suspendidos totales	g/L	0,021 – 0,027	0,024 ± 0,002
Sólidos suspendidos volátiles	g/L	0,016 – 0,020	0,018 ± 0,01
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/L	427 – 985	652 ± 160
Demanda biológica de oxígeno (DBO ₅)	mg O ₂ /L	111 – 621	321 ± 160
Carbono orgánico total (COT)	mg/L	123 – 416	248 ± 110
Compuestos fenólicos totales (UV 215 nm)	mg/L	167 – 284	199 ± 26
Lignina (UV 280 nm)	abs	3,069 – 4,000	3,712 ± 0,22
Derivados de lignina (UV 272 nm)	abs	3,387 – 4,000	3,919 ± 0,13
Ácido lignosulfónico (UV 346 nm)	abs	0,052 – 0,125	0,085 ± 0,02
Compuestos aromáticos (UV 254 nm)	abs	0,422 – 0,793	0,518 ± 0,08
Color (VIS 440 nm)	abs	0,177 – 0,576	0,253 ± 0,07
Sulfato	mg/L	265 -740	437 ± 77
Orgánicos halogenados (AOX)	mg/L	52,5 – 58,25	55,1 ± 2,9
Nitrógeno total	mg/L	0,4 – 1,8	0,9 ± 0,5
Fosforo total	mg/L	1,6 – 4,6	3,1 ± 0,8

En la Figura 6 se analizó la distribución de peso molecular del influente por medio de la técnica de ultrafiltración. La materia orgánica se encuentra distribuida mayoritariamente en la fracción >10000 Da con un 32±11,6 % y un 33,1±9,9% de DQO Y COT, respectivamente, mientras que la menor proporción está en la fracción 5000-1000 Da con un 10,4±4,6% de DQO y un 10,7±2,9 de COT. Todos los compuestos específicos están mayormente distribuidos en la fracción >10000 Da, por ejemplo, con 42,3±10,7% de color, 50,3±12,7% de ácido lignosulfónico y 35,9±7,9% de compuestos aromáticos, por el contrario, las menores proporciones están en la fracción <1000 Da, por ejemplo, con un 7,4±1,0% de derivados de lignina y 8,1±1,5% de lignina. Respecto de las variaciones de la de las desviaciones con respecto del promedio la mayoría de ellas se encuentra <45%, a excepción del color con por ejemplo 98% en la fracción <1000 Da y los compuestos fenólicos totales con 76,3% en la fracción 5000-1000 Da.

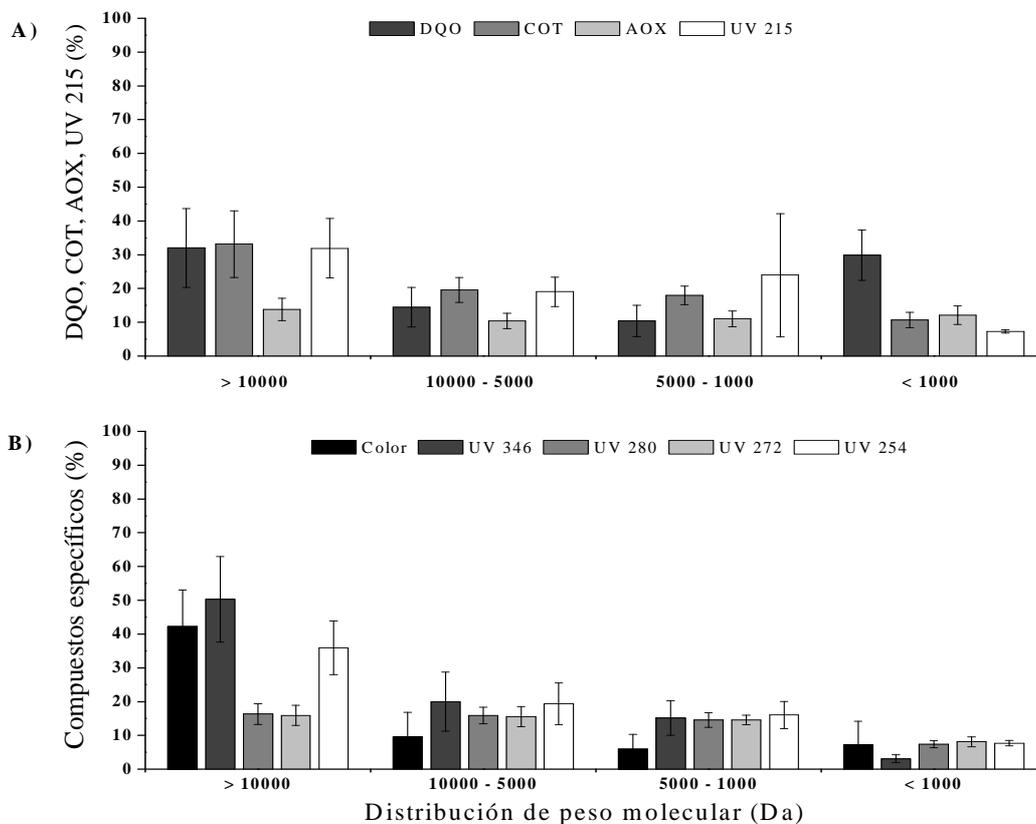


Figura 6. Distribución de peso molecular del influente por ultrafiltración.

Donde A) Separación del influente en cuatro fracciones y su distribución respecto de la materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO), carbono orgánico total (COT), los compuestos orgánicos halogenado (AOX) y los compuestos fenólico totales (UV 215). Y B) Separación del influente en cuatro fracciones y su distribución respecto de cada compuesto específico; siendo □ UV 346 Ácido lignosulfónico, UV 280 Lignina, UV 272 Derivados de lignina y UV 254 Compuestos aromáticos.

3.2 Actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico

En la Figura 7A se muestra el ensayo de actividad metanogénica específica donde en un período de 20 días el lodo anaeróbico L1 y L2 producen 124 y 118 ml de CH₄, respectivamente, mientras que el blanco produjo 5 ml de CH₄. Previo a este ensayo se determinó que la concentración de solidos suspendidos volátiles en el lodo es de 32,7 g/L. En la Figura 7B se midió la actividad metanogénica, al finalizar la operación del

reactor, por un período de 20 días el lodo anaeróbico L1 y L2 produce 59 y 33 ml de CH_4 , respectivamente, mientras que el blanco produce 32 ml de CH_4 . Se determinó previamente que la concentración de SSV en el lodo disminuyó a 24 g/L.

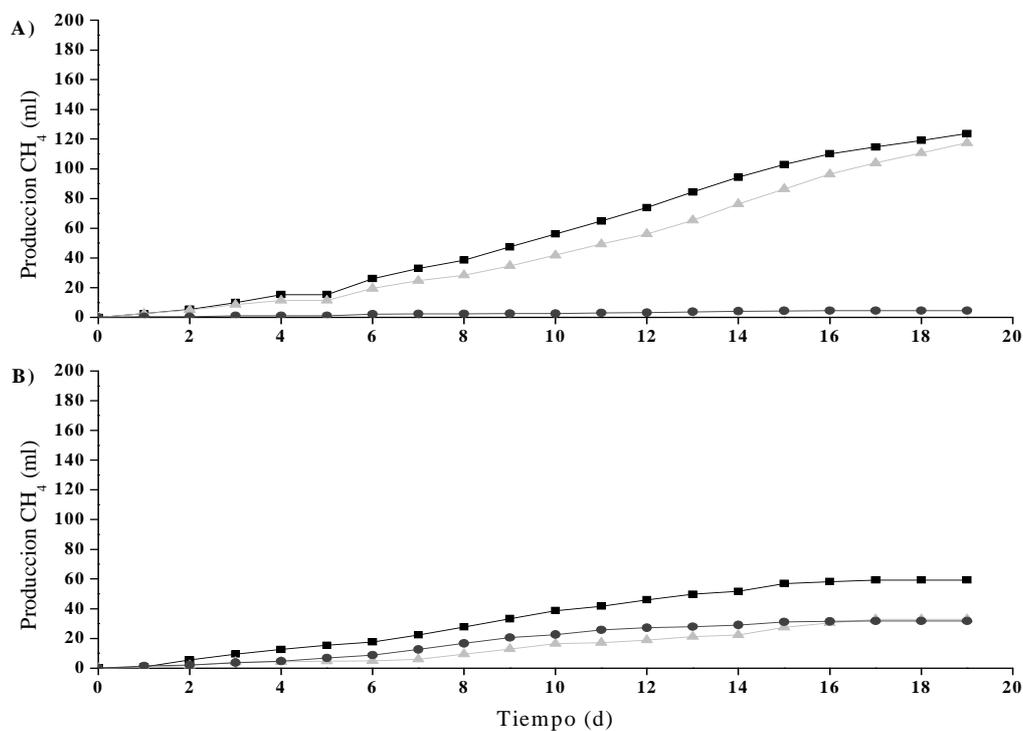


Figura 7. Producción de metano en el tiempo

Donde, A) Producción de metano al inicio de operación y B) al término de operación. ■ L1: Lodo anaeróbico, ▲ L2: Lodo anaeróbico y ● Blanco.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico al inicio y final del período de operación del reactor la cual disminuyó en $0,03 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4}/\text{g SSV}\cdot\text{d}$. Se determinó que la actividad metanogénica máxima que presentan las bacterias es de $0,1 \text{ g DQO}_{\text{CH}_4}/\text{g SSV}\cdot\text{d}$, y que al inocular el reactor con 500 ml de lodo anaeróbico estas pueden tolerar una velocidad de carga orgánica (VCO) máxima de $0,654 \text{ g DQO}/\text{L}\cdot\text{d}$. Por tanto, la primera etapa de operación del reactor fue a una VCO de $0,31 \text{ g DQO}/\text{L}\cdot\text{d}$ para que las bacterias se pudieran aclimatar al influente con que se alimentó el reactor. Al terminar la operación del reactor la actividad metanogénica del lodo disminuyó a $0,068 \text{ g DQO}_{\text{CH}_4}/\text{g SSV}\cdot\text{d}$.

Tabla 3. Actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico

Muestra	Etapa	Concentración biomasa (g SSV/L)	Actividad metanogénica (gDQO _{CH4} /g SSV·d)
L1	Inicio	2,5	0,108
L2	Inicio	2,5	0,111
L1	Final	2	0,070
L2	Final	2	0,066

3.3 Operación reactor UASB

3.3.1 Parámetros operacionales

En la Figura 8 se muestra la operación del reactor por un período de 133 días dividido en tres etapas las cuales se disminuye el TRH y la VCO aumenta progresivamente. En la etapa I el TRH promedio es $2,06 \pm 0,07$ d y la VCO $0,31 \pm 0,06$ gDQO/L·d, en la etapa II se disminuye el TRH a $1,52 \pm 0,02$ d y la VCO aumenta a $0,44 \pm 0,07$ gDQO/L·d en promedio, finalmente en la etapa III se hace una variación significativa aumentando en un 329,5% la VCO respecto de la etapa II, disminuyendo en promedio el TRH a $0,52 \pm 0,02$ d y la VCO aumenta a $1,89 \pm 0,07$ gDQO/L·d.

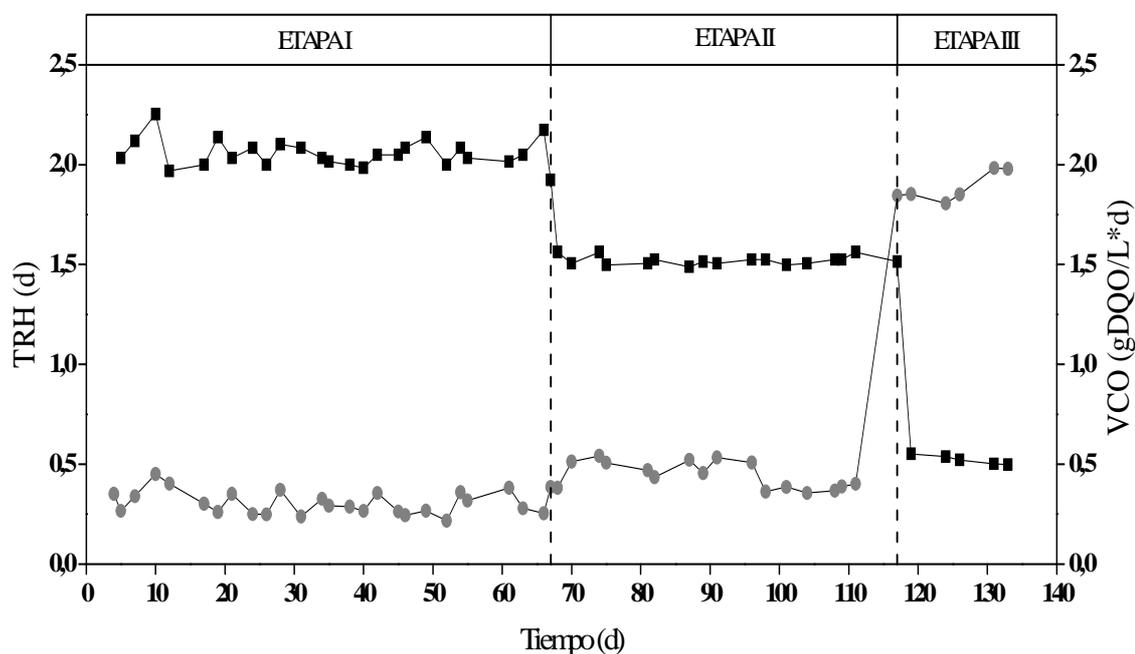


Figura 8. Etapas de operación y sus respectivos parámetros operacionales

Donde ■ TRH: Tiempo de residencia hidráulico y ● VCO: Velocidad de carga orgánica.

3.3.2 Parámetros físicos

En la Figura 9 se siguió la alcalinidad del efluente como una aproximación de la del reactor, utilizándose como parámetro de control la relación entre la alcalinidad intermedia y total (AI/AT) y además el seguimiento de reactor por medio del pH. La relación AI/T estuvo entre 0,07 – 0,29 con promedios de $0,18 \pm 0,05$; $0,21 \pm 0,04$ y $0,21 \pm 0,02$ para las etapas I, II y II, respectivamente. Con respecto al pH se mantuvo entre intervalos de 7,02 – 8,28, con promedios de $7,83 \pm 0,24$; $7,49 \pm 0,15$ y $7,25 \pm 0,23$ para las etapas I, II y III, respectivamente.

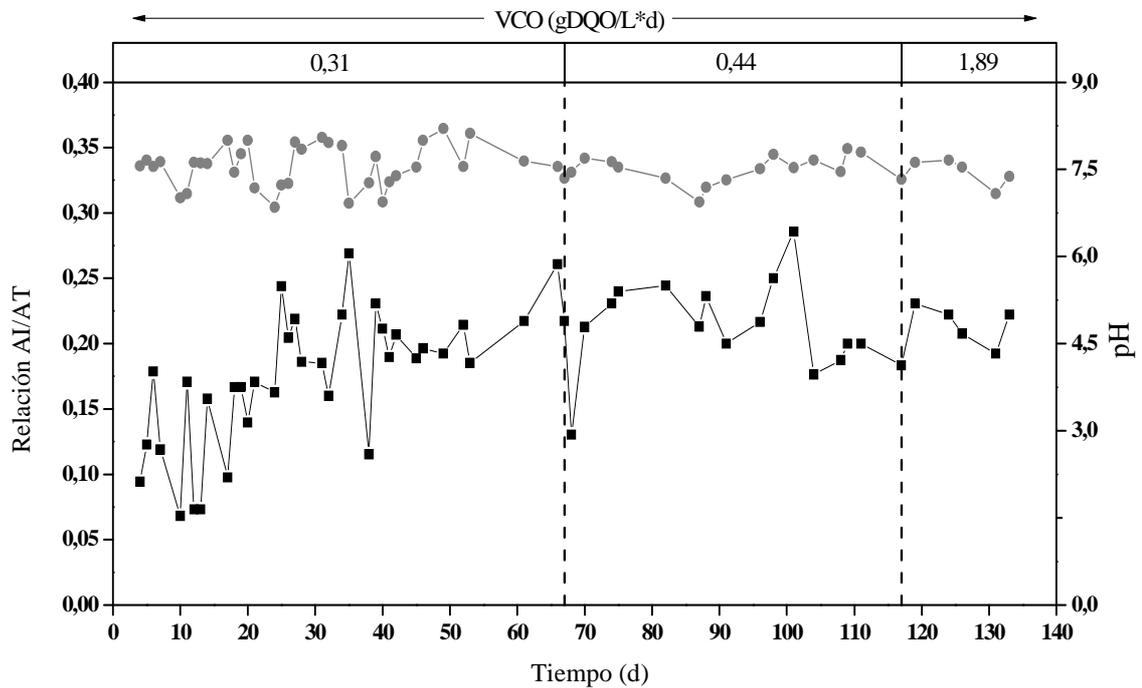


Figura 9. Relación entre Alcalinidad total e intermedia y pH

Donde ■ AI/AT: Alcalinidad intermedia dividido alcalinidad total y ● pH.

En la Figura 10 se siguió la estabilidad del reactor midiendo el potencial de óxido reducción (POR), se observa que el reactor opera en las tres etapas a potenciales negativos, sin embargo, estos son más bien cercanos a cero y solo desde el día 38 (etapa I) hasta el día 74 (etapa II) los valores de potencial son los óptimos para microorganismos anaeróbicos encontrándose en intervalos entre -255,3 y -94,6 mV.

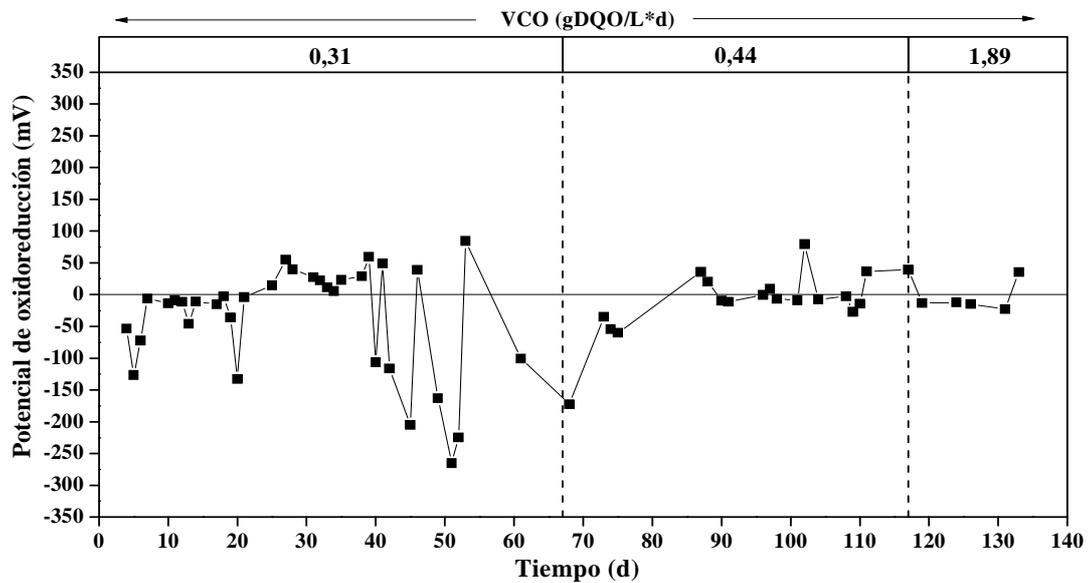


Figura 10. Potencial de óxido reducción en reactor UASB

En la Figura 11 se ilustra la relación DQO/SO₄ durante la operación del reactor la cual se mantuvo siempre superior a 0,67 (indica competencia entre BSR y metanógenos), en promedio las relaciones fueron $1,12 \pm 0,2$; $1,1 \pm 0,25$ y $1,35 \pm 0,21$ en las etapas I, II y III respectivamente, con rangos entre 0,68 – 1,80 durante toda la operación.

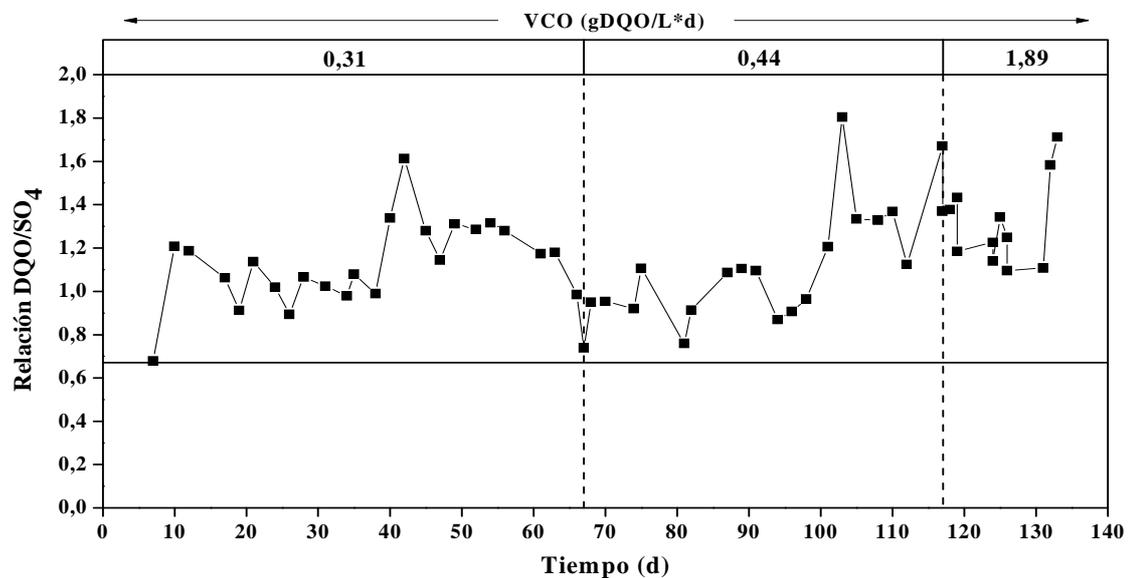


Figura 11. Relación entre demanda química de oxígeno y sulfato

3.4 Eficiencias de eliminación

3.4.1 Eficiencia eliminación de materia orgánica

En la Figura 12 se siguió el rendimiento del reactor en base a la capacidad de los microorganismos de consumir la carga orgánica suministrada para determinar la eficiencia de la biodegradación anaeróbica. En la Figura 12A se utilizó como medida directa la cantidad de carbono orgánico total estimando la eficiencia de eliminación de COT durante las tres etapas de operación y en la Figura 12B se midieron también el contenido de compuestos degradables medidos como DQO y los compuestos biodegradables medido como DBO₅. En la etapa I los rangos de eliminación de COT se encuentran entre 14,7-58,0%, la materia orgánica degradable entre 8,3-43,7% de eliminación de DQO y la biodegradable entre 37,4-73,9% de eliminación de DBO₅ y En la etapa II los rangos de eliminación de COT se encuentran entre 20,3-33,7%, la materia orgánica biodegradable entre 32,1-56,1% de eliminación de DBO₅ y la degradable entre 12,3-42,4% de eliminación de DQO. En la etapa III los rangos de eliminación de COT se encuentran entre 34,9-53,9%, la materia orgánica biodegradable entre 49,1-62,8% de eliminación de DBO₅ y la degradable entre 15,4-59,0% de eliminación de DQO.

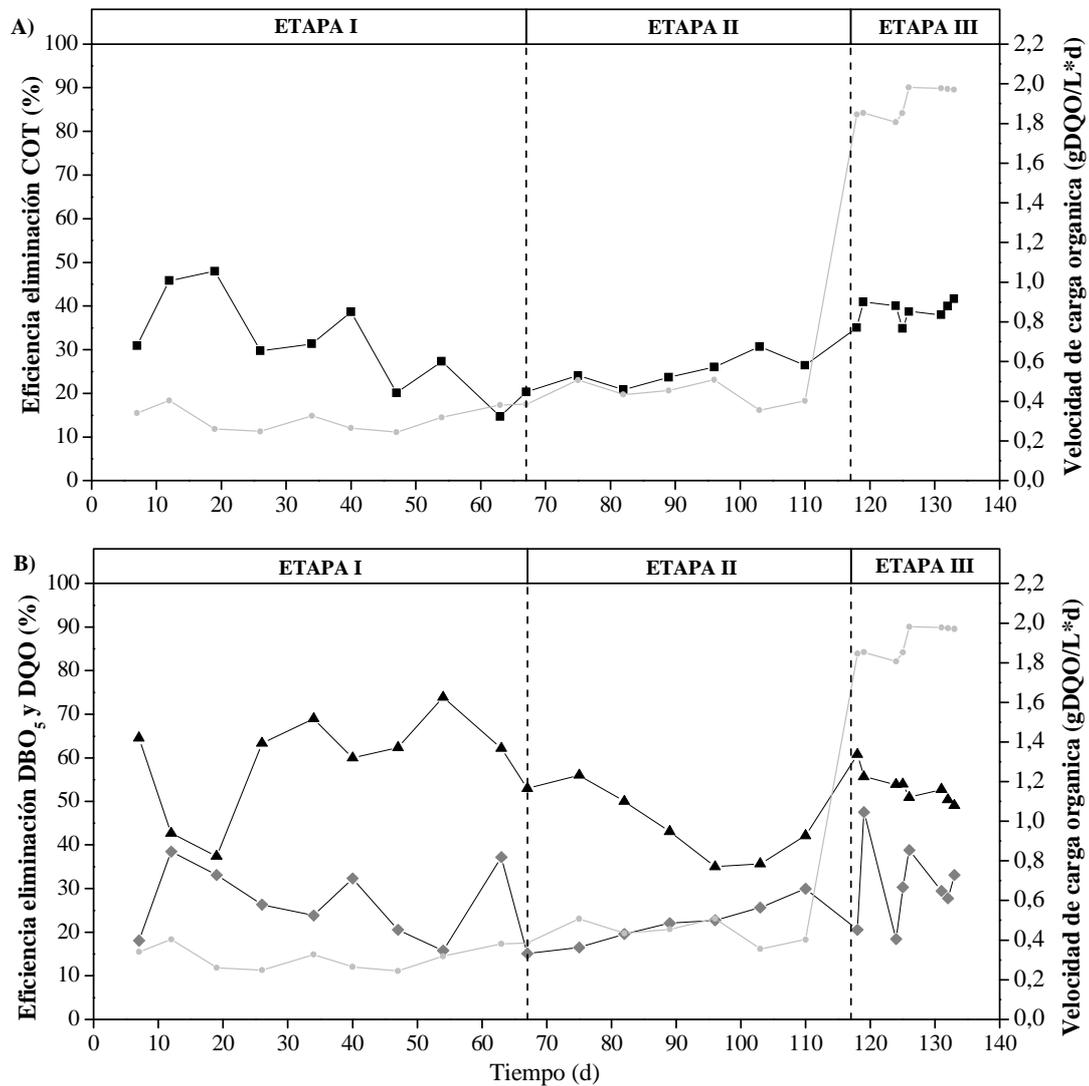


Figura 12. Eficiencia eliminación materia orgánica

Donde A) Eficiencia de eliminación de COT (■) y B) Eficiencia de eliminación de DBO₅ (▲) y DQO (◆), para ambos VCO (●).

3.4.2 Eficiencia eliminación de sulfato

En la Figura 13 se observa la eficiencia de eliminación de SO₄ y como esta varia con el aumento en la disponibilidad de materia orgánica y SO₄ en base a la velocidad de carga (g/L*d) suministrada al reactor. Al inicio de la etapa I el sulfato es inestable respecto de la eliminación, y desde el día 25 de operación se mantiene estable en la

eliminación con eficiencias promedio de $12,44 \pm 6,93\%$ de eliminación de SO_4 , las velocidades de carga suministradas se mantienen constantes en $0,31 \pm 0,06$ gDQO/L·d y $0,21 \pm 0,03$ g SO_4 /L·d. En la etapa II se aumenta la VCO en un 45,1% a $0,44 \pm 0,07$ gDQO/L·d y la VCS en un 21,2% a $0,26 \pm 0,05$ g SO_4 /L·d, esto da como resultado eficiencia de eliminación negativas (aumento de SO_4 a la salida del reactor) en promedio de $-12,36 \pm 6,56\%$ al inicio de la etapa y luego desde el día 100 las eliminaciones promedio son de $25,87 \pm 12,22\%$. En la etapa III se aumenta considerablemente la VCO en 329,5% y la VCS en 261,3% con promedios de $1,89 \pm 0,07$ gDQO/L·d y $0,94 \pm 0,05$, respectivamente, la eficiencia promedio disminuye 52,0% respecto del final de la etapa II a $12,43 \pm 14,11\%$ de eliminación de SO_4 .

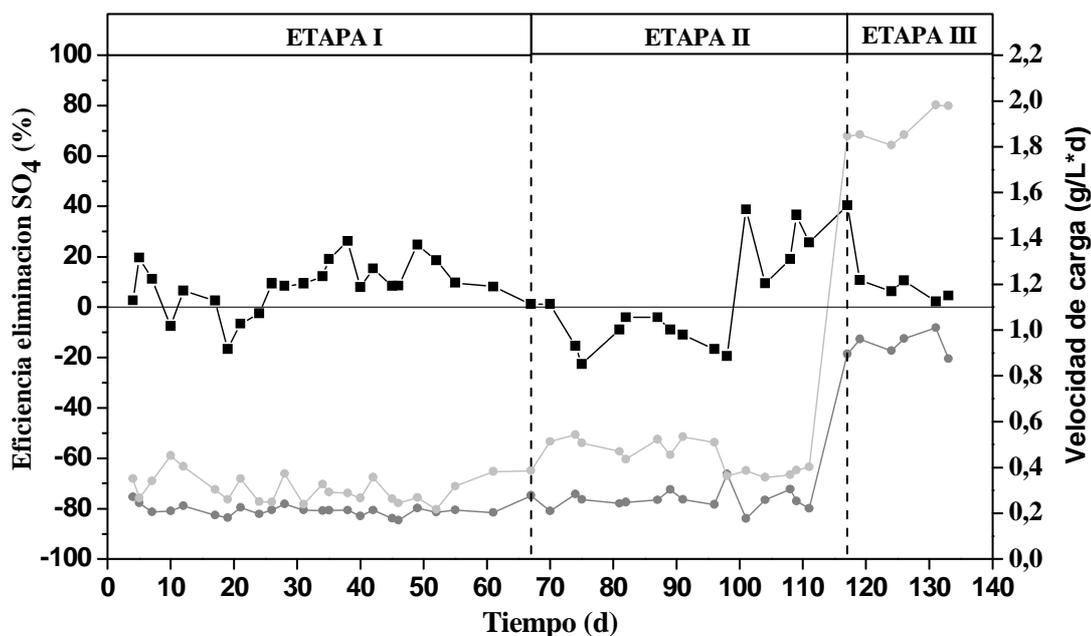


Figura 13. Eficiencia de eliminación de sulfato

Donde ■ SO_4 : sulfato, ● VCS: velocidad de carga de sulfato y ● VCO: velocidad de carga orgánica.

3.4.3 Eficiencia eliminación compuestos específicos

En la Figura 14 se observa la eficiencia de eliminación de compuestos específicos provenientes de la industria de celulosa kraft tales como, el color, compuestos fenólicos totales, compuestos aromáticos, ácido lignosulfónico, lignina y derivados, los cuales también requieren ser biodegradados a modo de evitar que estos afecten el ecosistema del cuerpo de agua receptor del efluente. En la figura 14A se observa la eliminación de compuestos fenólicos totales los cuales presentan eficiencia de eliminación promedio de $13,0 \pm 5,3\%$; $15,1 \pm 4,9\%$ y $13,3 \pm 3,3\%$ en las etapas I, II y III respectivamente. También se observa la eliminación de color el cual es más variable, en la etapa I se observan eliminaciones promedio de $15,2 \pm 11,7\%$, pero también existen eficiencias de eliminación negativas (aumento de color a la salida del reactor) en promedio de $-20,3 \pm 12,3\%$. En la etapa II se da igual tendencia con eficiencias de eliminación $18,3 \pm 13,2\%$ y eliminaciones negativas de $-21,5 \pm 118,6\%$ respecto del color. Mientras que en la etapa III el color se mantiene prácticamente constante a la entrada y salida del reactor, solo alcanzando eficiencias de eliminación de un $3,4 \pm 1,5\%$ del color. En la figura 14B la eliminación de compuestos específicos es uniforme entre los compuestos y durante todo el período de operación con eficiencias de eliminación promedio de $10,8 \pm 4,1\%$ de derivados de lignina, $12,9 \pm 3,9\%$ de lignina, $12,8 \pm 6,5\%$ de compuestos aromáticos y $14,2 \pm 8,1\%$ de ácido lignosulfónico. Sin embargo, en la etapa III los compuestos derivados de lignina y lignina son los mismos a la entrada y salida del reactor.

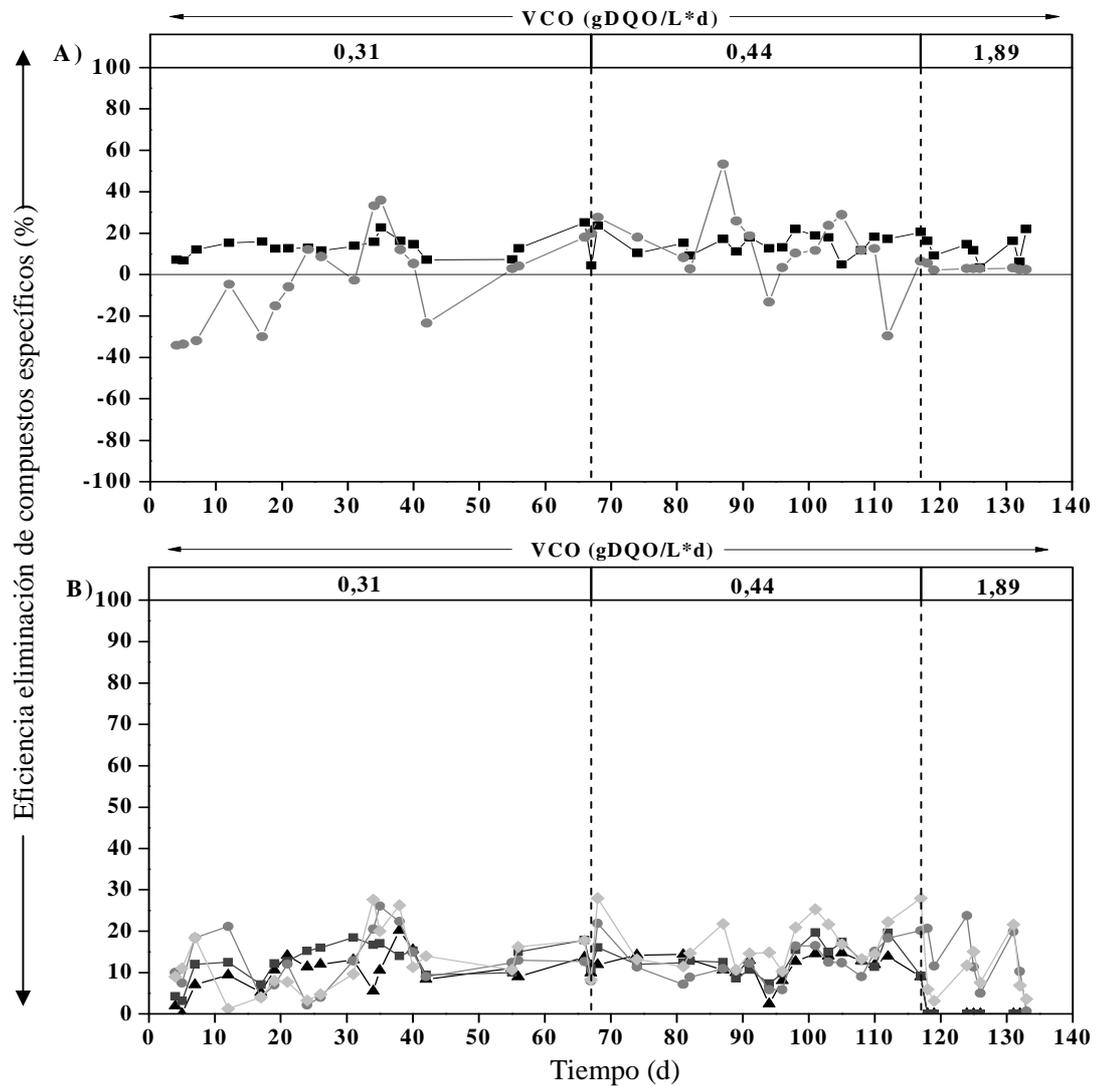


Figura 14. Eficiencia de eliminación de compuestos específicos

Donde A) Eficiencia eliminación de Color (●) y Compuestos fenólicos totales (■). Y B) Eficiencia de eliminación de Derivados de lignina (▲), Lignina (■), Compuestos aromáticos (●) y Ácido lignosulfónico (◆).

En la Tabla 4 se muestra un resumen de todas las eficiencias de eliminación correspondiente a las tres etapas de operación del reactor UASB.

Tabla 4. Resumen eficiencias eliminación de los diferentes parámetros estudiados durante la operación del reactor UASB

Parámetro	Unidad	ETAPA I		ETAPA II		ETAPA III	
		Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio
Demanda química de oxígeno (DQO)	%	8,3 – 43,7	25,9 ± 10,2	12,3 – 42,4	25,1 ± 8,7	15,4 – 59,0	34,6 ± 12,8
Demanda biológica de oxígeno (DBO ₅)	%	37,4 – 73,9	59,5 ± 12,8	32,1 – 56,1	42,0 ± 9,5	49,1 – 62,8	54,7 ± 4,9
Carbono orgánico total (COT)	%	14,7 – 58,0	33,0 ± 13,0	20,3 – 33,7	27,0 ± 4,6	34,9 – 53,9	41,4 ± 6,3
Compuestos fenólicos totales (UV 215 nm)	%	4,5 – 25,2	13,0 ± 5,3	4,9 – 23,5	15,1 ± 4,9	3,3 – 21,9	13,3 ± 6,3
Lignina (UV 280 nm)	%	3,1 – 18,5	12,6 ± 4,4	7,3 – 19,6	13,4 ± 3,6	0,0 – 9,2	1,0 ± 3,1
Derivados de lignina (UV 272 nm)	%	0,0 – 20,1	9,9 ± 4,7	2,4 – 14,7	12,0 ± 3,2	0,0 - 8,9	1,0 ± 3,0
Ácido lignosulfónico (UV 346 nm)	%	1,2 – 27,6	12,1 ± 7,4	10,3 – 35,3	18,3 ± 7,4	3,2 – 27,9	11,5 ± 8,5
Compuestos aromáticos (UV 254 nm)	%	2,1 – 26,1	12,5 ± 6,7	5,8 – 21,9	12,2 ± 4,5	0,7 – 29,7	14,4 ± 9,0
Color (VIS 440 nm)	%	-34,2- 35,9	-1,6 ± 21,8	-29,7- 53,3	13,3 ± 18,6	2,1 – 6,4	3.4 ± 1,5
Sulfato	%	-16,7– 26,2	7,7 ± 10,1	-22,6- 38,7	1,6 ± 18,3	-6,3 – 40,4	11,3 ± 14,4
Halogenados orgánicos adsorbibles (AOX)	%	17,8 – 21,0	19,8 ± 1,7	3,0 – 23,5	13,6 ± 10,6	1,2– 9,8	7,4 ± 6,4

3.5 Caracterización del efluente

3.5.1 Ultrafiltración del efluente

En las Figura 15 y 16 se muestra un seguimiento de la degradación del efluente por fraccionamiento de este mismo por medio de la técnica de ultrafiltración. Los resultados de ultrafiltración del influente y efluente están divididos en cuatro fracciones (>10000 Da, $10000 - 5000$ Da, $5000 - 1000$ Da y < 1000 Da), determinándose para cada una de ellas la materia orgánica medida como DQO y COT, los compuestos orgánicos halogenados y compuestos fenólicos totales (Figura 15) y además los compuestos específicos provenientes de la industria de celulosa kraft (Figura 16).

De los resultados de las ultrafiltraciones en la primera etapa de operación la fracción > 10000 Da incrementa en el contenido de todas las mediciones realizadas aumentando por ejemplo la DQO en un 12% y el color en un 24,6%, mientras que en las etapas II y III esta fracción fue reducida en todas las mediciones principalmente en el color disminuyendo en un 13,8% y 10,1% en las etapas II y III respectivamente. En lo que respecta a las fracciones entre $10000 - 5000$ Da y $5000 - 1000$ Da no se observan cambios considerables entre el influente y efluente teniendo por ejemplo el máximo de incremento en ácido lignosulfónico con un 13,8% en la etapa II y un 10,1% en AOX, los demás valores se mantienen prácticamente constantes. La fracción < 1000 Da en la etapa I se observa el máximo incremento en la DQO y color ambas en un 8,1% y la máxima disminución en compuestos derivados de la lignina con un 11,4%, En las etapas II y II todas las mediciones sufren un incremento siendo el mayor de estos un 60,4 % en AOX de la etapa III.

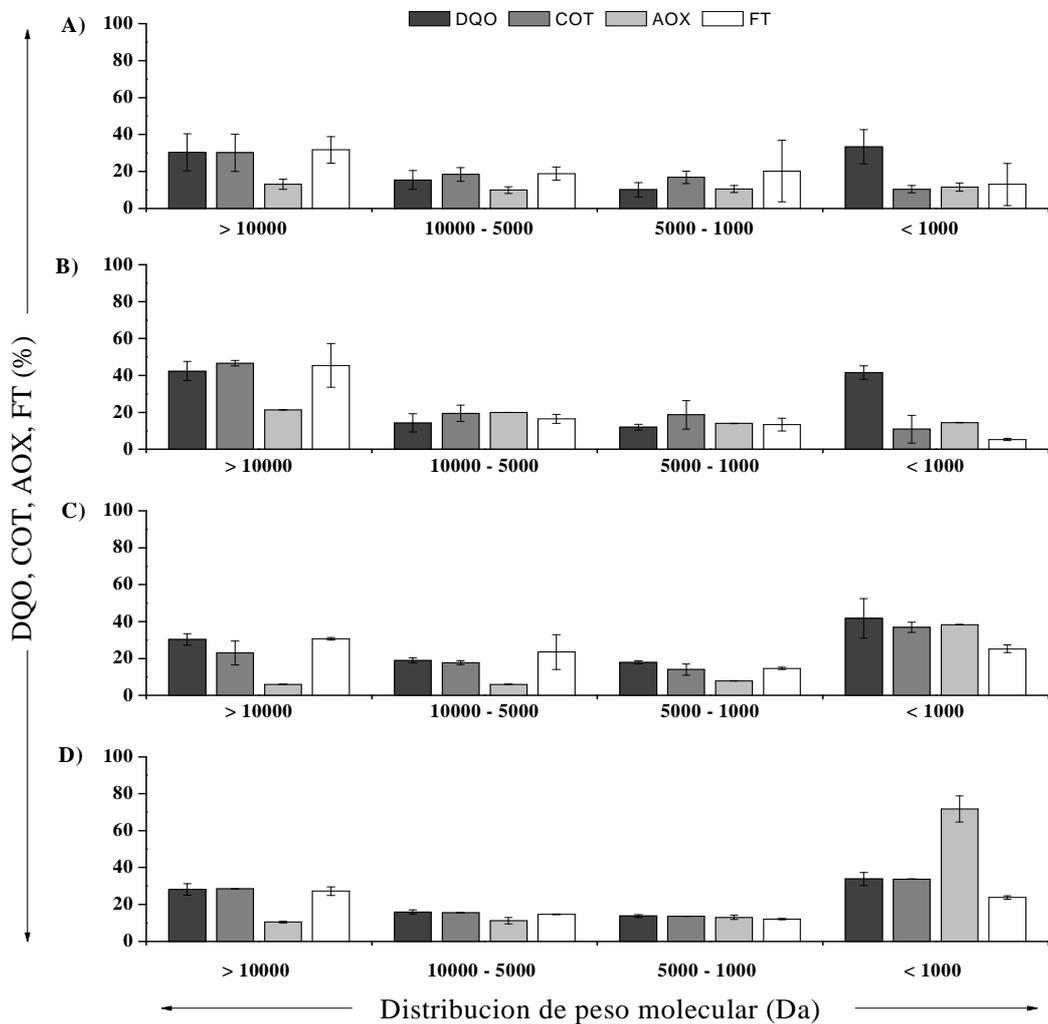


Figura 15. Distribución de peso molecular del influente y efluente por ultrafiltración. Donde A) representa el influente y B, C y D representan el efluente en las etapas I, II y III respectivamente, en cada uno se observa la separación en cuatro fracciones y su distribución respecto de la materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO), carbono orgánico total (COT), los compuestos orgánicos halogenado (AOX) y los compuestos fenólicos totales (FT).

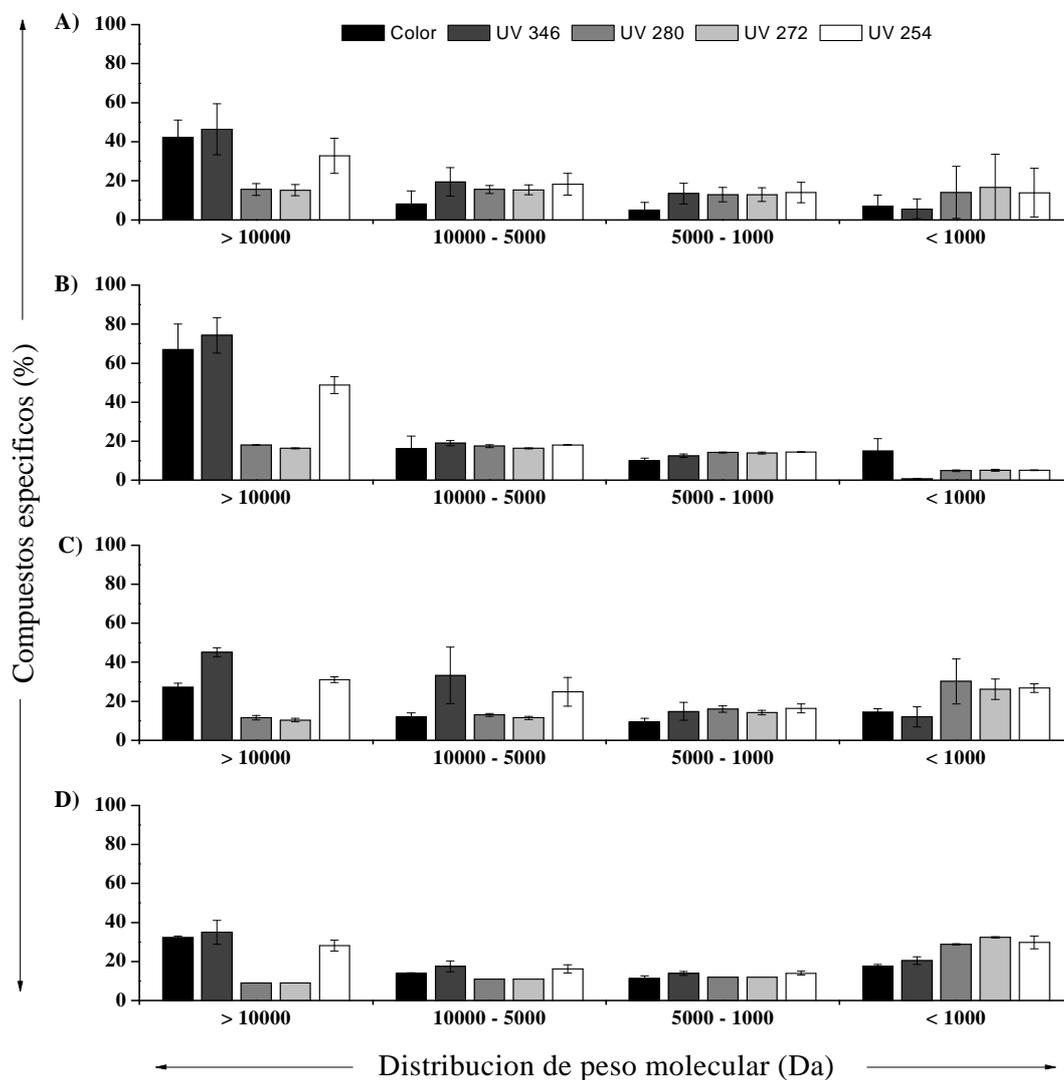


Figura 16. Distribución de peso molecular del influente y efluente por ultrafiltración según compuestos específicos

Donde A) representa el influente y B, C y D) representan el efluente en las etapas I, II y III respectivamente, en cada uno se observa la separación en cuatro fracciones su distribución respecto de cada compuesto específico; siendo UV346: Ácido lignosulfónico, UV280: Lignina, UV272: Derivados de lignina y UV254: Compuestos aromáticos.

3.5.2 Caracterización fisicoquímica del efluente

En la Tabla 5 se resumen las características fisicoquímicas del efluente a la salida del reactor UASB en las distintas etapas de operación de este. La materia orgánica medida como DBO_5 aumenta en un 96% al pasar a la etapa II y un 25% al pasar desde la II a la etapa III, mientras que la DQO y COT disminuyen con el primer cambio de VCO en un 9% y 17% respectivamente, luego al pasar a la tercera etapa aumentan en un 39 y 102% respectivamente. El sulfato disminuye un 3% en la segunda etapa y aumenta respecto de esta un 10%. Los compuestos específicos lignina, derivados de lignina, ácido lignosulfónico, compuestos aromáticos y compuestos fenólicos totales en la etapa II disminuye entre un 3-6% y en la etapa III aumentan entre un 12-24%. El color aumenta 8 y 47% en las etapas II y III respectivamente. Finalmente, los AOX aumentan 8 y 47% respectivamente.

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica del efluente a la salida del reactor UASB

Parámetro	Unidad	ETAPA I		ETAPA II		ETAPA III	
		Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio
pH	-	7,3 – 8,0	7,8 ± 0,24	7,3-7,8	7,5 ± 0,15	7,0 – 7,7	7,3 ± 0,23
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/L	356 - 596	443 ± 41	313 – 443	403 ± 30	404 – 665	562 ± 60
Demanda biológica de oxígeno (DBO ₅)	mg O ₂ /L	39 – 174	85 ± 36	89 – 285	167 ± 89	131 – 308	209 ± 67
Carbono orgánico total (COT)	mg/L	93 – 182	132 ± 28	91 – 123	110 ± 12	183 – 270	222 ± 31
Compuestos fenólicos totales (UV 215 nm)	mg/L	154,7 – 177,1	164,3 ± 7,2	143,6 – 179,3	158,5 ± 8,5	142,3 – 236,9	207,7 ± 27,1
Lignina (UV 280 nm)	abs	3,067 – 3,880	3,356 ± 0,250	2,978 – 3,625	3,173 ± 0,152	3,187 – 4,000	3,910 ± 0,271
Derivados de lignina (UV 272 nm)	abs	3,159 – 4,000	3,611 ± 0,236	3,279 – 3,881	3,468 ± 0,138	3,487 – 4,000	3,943 ± 0,171
Ácido lignosulfónico (UV 346 nm)	abs	0,042 – 0,105	0,070 ± 0,016	0,061 – 0,089	0,071 ± 0,009	0,062 – 0,109	0,093 ± 0,014
Compuestos aromáticos (UV 254 nm)	abs	0,368 – 0,501	0,434 ± 0,031	0,378 – 0,454	0,421 ± 0,018	0,368- 0,659	0,544 ± 0,085
Color (VIS 440 nm)	abs	0,176 - 0,264	0,217 ± 0,030	0,172 – 0,275	0,235 ± 0,028	0,235 – 0,306	0,265 ± 0,029
Sulfato	mg/L	310 – 720	399 ± 79	240 - 515	386 ± 75	295 – 510	425 ± 70
Orgánicos halogenados (AOX)	mg/L	42,8 – 44,5	43,4 ± 0,9	41,4 – 52,5	46,8 ± 5,6	64,8 – 71,6	68,9 ± 3,6
Nitrógeno total (NT)	mg/L	10,5 – 23,1	14,9 ± 5,6	12,2 – 17,5	14,9 ± 3,7	7,4 – 9,2	8,1 ± 0,8
Fósforo total (PT)	mg/L	3,1 – 4,9	3,8 ± 0,7	2,8 – 3,2	3,0 ± 0,2	2,6 – 3,1	2,9 ± 0,2

3.6 Balance de materia orgánica

En la Figura 17 se realizó un balance de materia orgánica para verificar que la materia orgánica que entra al sistema debe salir o acumularse dentro del mismo, siendo el balance realizados para todo el período de operación, en base a la DQO, y considerando que al no existir producción de biogás cuantificable por los métodos implementados en el reactor este equivale a cero.

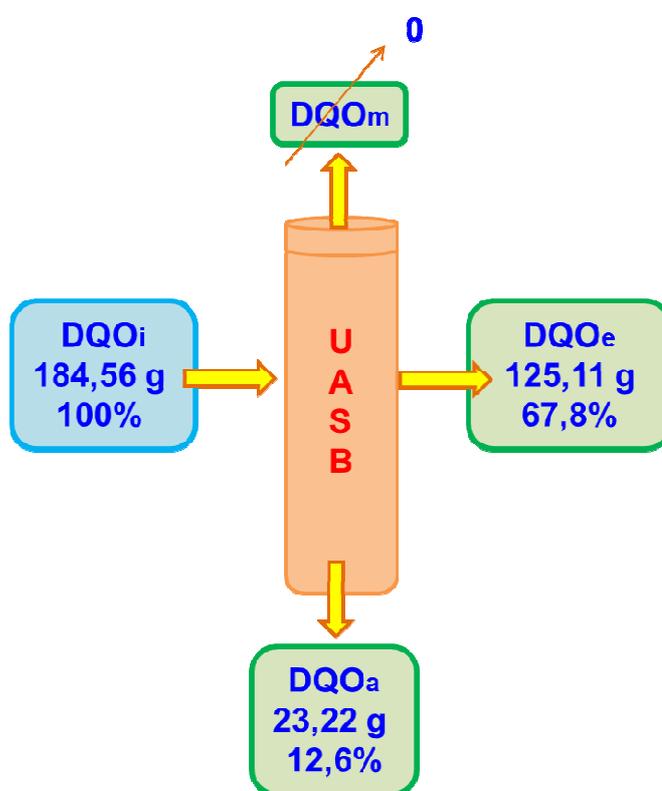


Figura 17. Balance de materia orgánica durante la operación del reactor UASB

Donde DQO_i: DQO del influente, DQO_e: DQO del efluente, DQO_m: DQO metano y DQO_a: DQO acumulada de biomasa

4 DISCUSION

4.1 Caracterización del influente

Respecto de la caracterización en la Tabla 2 cabe destacar que el pH se encuentra en torno a la neutralidad con mediciones promedio de $7,49 \pm 0,3$ valor que se encuentra entre los rangos óptimos (6,3 – 7,8) reportados previamente que permiten el crecimiento del consorcio metanogénico dentro del reactor UASB (Díaz-Báez y col., 2002). Otro aspecto importante son los nutrientes tales como el nitrógeno y fósforo que se encuentran en bajas concentraciones $0,9 \pm 0,5$ y $3,1 \pm 0,8$ mg/L, respectivamente. Sin embargo, a pesar de lo bajos requerimientos para la digestión anaeróbica se necesitó de la adición de urea para alcanzar una relación DQO: N: P equivalente a 350: 7: 1, relación recomendada para llevar a cabo la digestión anaeróbica (Anderson y col., 2003; Amani y col., 2010). Respecto de la materia orgánica alimentada al reactor esta se caracteriza principalmente en base a la DQO la cual resultó en promedio ser 652 ± 160 mg/L lo cual se encuentra muy por debajo del promedio de 1224 ± 593 mg/L reportado previamente según se ilustra en la Tabla 6, destacándose que los rangos varían entre 315-2565 mg/L, y que por tanto la DQO del influente se encuentra dentro de este rango. Los compuestos específicos provenientes del proceso de producción de celulosa kraft fueron determinados por espectroscopia UV-VIS, dentro de estos se estudió la concentración de compuestos fenólicos totales (199 ± 26 mg/L), compuestos aromáticos (abs = $0,518 \pm 0,08$), ácido lignosulfónico (abs = $0,085 \pm 0,02$) y color (abs = $0,253 \pm 0,07$), los cuales son similares a valores previamente reportados (Diez y col., 2002; Vidal y col., 2007; Villamar y col., 2009; Chamorro y col., 2010), por otra parte, la lignina y derivados de lignina presentan valores de absorbancia 82,5% mayores a los reportados por estos mismos autores.

Se caracterizó además el influente separándolo, mediante la técnica de ultrafiltración, de acuerdo al peso molecular, pues es sabido que dependiendo del peso molecular de los compuestos organoclorados y derivados de lignina de los efluentes de blanqueo de celulosa, estos van a afectar de manera distinta al ecosistema receptor (Bajpai, 2013). Por un lado, se encontró que la mayor proporción tanto de materia orgánica medida como DQO y COT, como los compuestos específicos se encontraba en los compuestos de

alto peso molecular, más aún en la fracción >10000 Da, lo cual concuerda con lo reportado por otros autores (Vidal y col., 2001; Villamar y col., 2009) en que los compuestos > 10000 Da representan más de la mitad de DQO, compuestos fenólicos totales y color del influente. Por otro lado, la menor proporción tanto de materia orgánica medida como DQO y COT, como los compuestos específicos se encontraba en los compuestos de bajo peso molecular <1000 Da igualmente a lo descrito por los autores anteriores con porcentajes menores al 40%. Cabe mencionar, además, que los AOX se distribuyen uniformemente en las distintas fracciones y no se encontraron estudios previos para poder comparar dichos resultados. Finalmente, es sabido que los compuestos de alto peso molecular (>1000 Da) biológicamente inactivo y tener una pequeña contribución a la toxicidad, mutagenicidad, mientras que los de bajo peso molecular (<1000 Da) son los principales contribuyentes a la mutagenicidad y bioacumulación debido a su hidrofobicidad y capacidad de penetrar las membranas celulares, lo que podría decirse es favorable pues los compuestos tóxicos se encuentran en menor proporción en el influente. Sin embargo, una mejor evaluación de esto se discutirá posteriormente al saber cómo varían estos luego de la digestión anaeróbica.

Tabla 6. Funcionamiento de diferentes tratamientos anaeróbico aplicado a la industria de celulosa y papel

DQO _i (mg/L)	TRH (h)	VCO (gDQO/L·d)	Sustrato	Inoculo	Reactor	Referencias
1400- 1583	10-4	2-10	Celulosa y papel	Lodo granular	UASB	Chen y Horan, 1998
800 -1400	48-24	0,4-1,4	Licor negro diluido	Mezcla lodo granular y marino	UASB	Buzzini y Pires, 2002
800 -1400	40	0,48-0,84	Celulosa kraft sintético	Mezcla lodo granular y marino	UASB	Buzzini y col., 2005
800 -1400	36-30	0,53-1,12	Celulosa kraft sintético	Lodo granular	UASB	Buzzini y col., 2006
1400	30-24	1,12-1,4	Celulosa kraft sintético	Lodo granular	UASB + recirculación	Buzzini y col., 2006
358 - 1130	20	3,22	Celulosa y papel	Lodo laguna anaeróbica	UASB	Chinnaraj y Rao, 2006
882 ± 24	46-26	0,49-0,82	Celulosa kraft	Lodo anaeróbico floculento	AF	Vidal y col., 2007
1150 - 2200	25	1,1-2,1	Celulosa kraft eucalipto	Lodo granular	HPBR	Chaparro y Pires, 2011
315 - 2565	72-19	0,1-3,25	Celulosa y papel	Lodo anaeróbico floculento	UASB	Setiawan y col., 2011

4.2 Actividad metanogénica específica del lodo anaeróbico

Se determinó que la AME del lodo anaeróbico es $0,1 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4}/\text{gSSV}$ y que por tanto el consorcio metanogénico puede tolerar como máximo una carga orgánica de $0,654 \text{ gDQO}/\text{L}\cdot\text{d}$, si bien las publicaciones no contienen información acerca de AME, esto se puede comparar con la VCO aplicada como se observa en la Tabla 6 la VCO varía entre $0,1 - 10 \text{ gDQO}/\text{L}\cdot\text{d}$, por lo cual se decidió comenzar con una VCO la mitad de la tolerable, es decir, una $\text{VCO}_{\text{teórica}}$ de $0,327 \text{ gDQO}/\text{L}\cdot\text{d}$, el cual además se encuentra dentro de los rangos previamente reportados, y que por tanto en la primera etapa el reactor fue operado a una VCO_{real} de $0,31 \pm 0,06 \text{ gDQO}/\text{L}\cdot\text{d}$. Al finalizar la operación del reactor se determinó que la AME fue $0,068 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4}/\text{gSSV}\cdot\text{d}$ lo que indica que el consorcio metanogénico se encontraba activo. Sin embargo, sufre una disminución de la actividad metanogénica de un 30% luego de 133 días de operación del reactor UASB, esto se debe según resultados reportados previamente por Gallegos-García y col. (2010) a una competencia entre metanógenos y BSR, en el cual se reportó que la AME disminuyó en un 22%, lo que se relaciona directamente con un aumento de la actividad de BSR. Si bien no se determinó la actividad sulfatorreductora en el reactor, específicamente al lodo, en la Figura 21 se observó un precipitado amarillo pálido en la parte superior del reactor correspondiente por tanto a precipitado de sulfato lo que indicaría sulfatorreducción durante la operación del reactor lo cual está directamente relacionado con la disminución en la AME del lodo anaeróbico.



Figura 18. Precipitación de sulfato en el reactor UASB

De izquierda a derecha tapón de goma, pared del reactor y separador de fases en la parte superior del reactor.

Otra explicación es la inhibición de las bacterias metanogénicas debido a compuestos provenientes específicamente de la etapa de blanqueo de la celulosa tal como lo demuestran Vidal y Diez (2003) en el estudio de la influencia de los efluentes de blanqueo en la toxicidad metanogénica de aguas residuales del proceso de producción de celulosa kraft concluyendo que las resinas de la madera de *Pinus radiata* de efluentes de blanqueo ECF es el más tóxico para las bacterias metanogénicas. Por tanto, y como el influente alimentado al reactor proviene de una industria que utiliza la tecnología ECF esto disminuiría la actividad metanogénica del lodo anaeróbico inoculado al reactor.

4.3 Operación reactor UASB

El reactor fue operado en continuo por un período de 133 días, los cuales se dividieron en tres etapas, la etapa I, II y III con una duración de 66, 45 y 22 días, respectivamente. La estrategia operacional que se utilizó fue aumentar progresivamente VCO, y como consecuencia se disminuye el TRH al igual que las investigaciones descritas en la Tabla 6. Para determinar la primera VCO y como ya se señaló en el apartado anterior se determinó la AME del lodo a inocular en el reactor estableciéndose una VCO de $0,31 \pm 0,06$ gDQO/L·d, por tanto, el TRH es de $2,06 \pm 0,07$ d, luego al pasar a la etapa II se aumentó en un 42% la VCO a $0,44 \pm 0,07$ gDQO/L·d para disminuir el TRH a $1,52 \pm 0,02$ d valor similar al promedio de la mayoría de las publicaciones en la Tabla 6 los cuales son de $1,37 \pm 0,35$ d. Para finalizar la operación del reactor se aumentó en un 329,5% la VCO, con el objetivo de determinar qué tan estable es el sistema frente a un aumento considerable de carga orgánica.

Respecto de los parámetros físicos, primero señalar que las mediciones fueron realizadas a la salida del reactor, es decir, al efluente, y no directamente en el reactor, sin embargo, se considera que esta es una buena aproximación de lo que ocurre dentro del reactor. Para controlar que la biomasa se desarrollara en condiciones óptimas se controló que la temperatura estuviera dentro del rango mesófilo, específicamente cercano a los 35°C, como sugieren varios autores (Anderson y col., 2003; Amani y col., 2010; Ghangrekar, 2012) por medio de una manguera en forma de serpentín enrollada alrededor del reactor por la cual se recircula agua proveniente de un baño termorregulado a 40°C. Por

otro lado, como se observa en la Figura 9, se controló el pH el cual fue de $7,83\pm 0,24$; $7,49\pm 0,15$ y $7,25\pm 0,23$ para las etapas I, II y III, respectivamente, es decir, se mantuvo dentro de los rangos (6,3 – 7,8) recomendados por Díaz-Báez y col (2002) asegurando así que los AGV están en la forma no tóxica e indicativo de que no existió acidificación del reactor y por tanto inhibición de la metanogénesis. Sin embargo, Méndez-Acosta y col. (2010) sugieren que, en lugar de pH, es preferible controlar la alcalinidad del proceso, que permite la detección oportuna de los cambios de la capacidad tampón de proceso y, como consecuencia, una información más precisa sobre el riesgo de fracaso de proceso por la acumulación AGV. Por tanto y siguiendo la metodología descrita por Ripley y col. (1986), el cual además indica que la operación de digestión exitosa se produce cuando la relación AI/AT es menor que 0,3 lo cual se mantuvo también en el reactor pues la relación AI/AT fue en torno a 0,2 y nunca superó los 0,3 variando entre 0,07 – 0,29.

Para determinar las condiciones anaeróbicas del reactor se determinó el POR. Dichos valores presentaron tres variantes representativas, los cuales incluyen valores entre +50 – -50 mV donde los iones de nitrato o nitrito están disponibles, menor -50 mV donde los iones sulfato están disponibles para la degradación de compuestos orgánicos y menor que -100 mV ocurre una fermentación ácida mixtas según valores descritos previamente, todos indicativos de que la forma de respiración es anaeróbica. Sin embargo, para que la degradación de compuestos orgánicos ocurra con producción de metano se requieren valores inferiores a -300 mV, valores no alcanzados durante la operación del reactor lo que concuerda también con que no fue posible la detección de metano emitido por el reactor (Gerardi, 2003; Amani y col., 2010).

Finalmente, un parámetro de control importante en la biodegradabilidad anaeróbica es considerar la relación DQO/SO₄ para determinar si existe un predominio de BSR o metanógenos o si bien existe una competencia entre ambos microorganismos. Por consiguiente, como se ve en la Figura 11 la relación DQO/SO₄ se mantuvo entre 0,68 – 1,8 con promedios de $1,12\pm 0,2$; $1,1\pm 0,25$ y $1,35\pm 0,21$ en las etapas I, II y III respectivamente, tales relaciones concuerdan según lo reportado por Van Lier y col. (2008) que existe una competencia entre los microorganismos y que por tanto además de la reducción de sulfato,

también se produce la metanogénesis pues la relación DQO/SO₄ fue siempre superior a 0,67. Otro grupo de investigadores (Chen y col., 2007) encontró que ha relaciones DQO/SO₄ inferiores a 1,7, como lo que sucedió en esta investigación existe un predominio de las BSR esto concuerda también con lo reportado previamente por Bajpai y Kondo (2012) que señala la ocurrencia de una reducción del sulfato casi completa con efluentes de la industria de celulosa y papel.

4.4 Eficiencias de eliminación

Se determinó la eficiencia de eliminación de COT (Figura 12A) como la medida directa de la cantidad de carbono orgánico total removida en el reactor UASB, la cual fue en promedio de 33±13, 27±4,6 y 41,4±6,3 para las etapas I, II y III, respectivamente. Sin embargo, esta medición no indica si los compuestos orgánicos son degradables o no, por tanto, para estudiar la degradabilidad de la materia orgánica se determinó la DQO (Figura 12B) con eficiencias de eliminación de DQO promedio de 25,9±10,2; 25,1±8,7 y 34,6 ±12,8% para las etapas I, II y III respectivamente estos valores se encuentran por debajo de los reportados previamente para investigaciones similares con eficiencias de eliminación de DQO que van desde un 45 – 90% (Tabla 7) en distintos tratamientos anaeróbicos. Por otro lado, se midió específicamente la materia orgánica biodegradable medida como DBO₅, y como es de esperar posee eficiencias de eliminación mayores de 59,5 ± 12,8; 42,0 ± 9,5 y 54,7 ± 4,9% para las etapas I, II y III respectivamente las cuales se encuentran muy por debajo de los ya reportados por Vidal y col. (2007) que llegan hasta 94% utilizando la tecnología de filtros anaerobios para el tratamiento de efluentes provenientes de la industria de celulosa kraft.

De igual modo se controló la eficiencia de eliminación de sulfato en el reactor puesto que las condiciones de operación de anaerobiosis son propicias también para BSR, y además el influente con que se alimenta el reactor posee concentraciones entre 437±77 mg SO₄/L y por tanto este podría ser reducido y en consecuencia generar una inhibición de la metanogénesis por competencia entre arqueas metanogénicas y BSR por sustrato. Se detectaron eficiencias de eliminación de sulfato de 7,7±10,1; 1,6±18,3 y 11,3±14,4% de eliminación de SO₄ para las etapas I, II y III respectivamente, Chen y Horan (1998) han

reportado valores de eliminación de SO_4 de un 73% en el tratamiento de efluente de celulosa y papel y para una relación DQO/SO_4 de 3,3 obteniendo además $0,22 \text{ l CH}_4/\text{gDQO}_{\text{removido}}$.

Para entender mejor el comportamiento del reactor respecto del rendimiento en base a la capacidad de los microorganismos de consumir la materia orgánica suministrada para determinar la eficiencia de la biodegradación anaeróbica en la Figura 19 se resume el efecto de variar la carga suministrada de materia orgánica medida como DQO y la carga suministrada de SO_4 en la eficiencia de eliminación de la DQO, DBO_5 y SO_4 . De la cual podemos decir que la VCS aumenta con el aumento de la VCO, pero siempre es menor, pues la concentración de sulfato en el influente es menor que la DQO. Respecto de las etapas el aumento en las cargas de materia orgánica y sulfato suministradas al pasar desde la etapa I a la etapa II produce una disminución de 3, 80 y 30% en la eficiencia de eliminación de DQO, DBO_5 y SO_4 respectivamente y al pasar a la etapa III un aumento de 28, 56 y 86%.

Los efluentes provenientes de la industria de celulosa kraft poseen además compuestos característicos provenientes principalmente de las etapas de blanqueo conocidos como AOX, los cuales fueron biodegradado siendo reducidos en un $19,8 \pm 1,7$; $13,6 \pm 10,6$ y $7,4 \pm 6,4\%$ para las etapas I, II y III respectivamente, dichos valores están muy por debajo de los reportados por otros autores (Tabla 7) en que las eficiencias reportadas van desde un 40 – 80% de eliminación de AOX. Finalmente, durante el proceso de producción de celulosa kraft se generan compuestos que aportan color y compuestos específicos los cuales se consideran tóxicos debido a la presencia de compuestos extractivos de la madera que se liberan durante las etapas de cocción y descortezado, por tanto, es fundamental estudiar la biodegradabilidad de estos compuestos por ejemplo, Vidal y col (2007) evaluaron a biodegradabilidad anaeróbica y toxicidad anaeróbica de β -sitoesterol y estigmaesterol dos esteroides que forman parte de los extractivos de madera los cuales fueron eficientemente degradados en un sistema de filtro anaeróbico y sin afectar la actividad metanogénica por separado, sin embargo, una mezcla de estos redujo en menos de 10% la actividad metanogénica. Si bien en esta investigación no se realizó una medición

específica de los extractivos de la madera se puede tener una idea de su comportamiento mediante la biodegradabilidad de compuestos específicos como lo son el color, compuestos fenólicos totales, compuestos aromáticos, ácido lignosulfónico, lignina y derivados. En la Figura 14A se observa la eliminación de compuestos fenólicos totales los cuales presentan una eficiencia de eliminación constante en todas las etapas con $13,8 \pm 5,3\%$ de eliminación durante toda la operación del reactor lo cual se encuentra dentro del 13-22% reportado por Vidal y col. (2007) con un sistema de filtro anaeróbico (Tabla 7) y en cuanto al color este varía en cada una de las etapas en la primera etapa se observa más bien una formación de color, en la segunda hay eliminación de color y en la última el color se mantiene constante al inicio y final del tratamiento lo cual resulta interesante pues otros grupos ya reportaron igualmente esta formación de color como se ve en la Tabla 7 incluso un aumento del 60%. Una explicación para el aumento en el color en condiciones anaerobias es la transformación biológica de precursores orgánicos, seguido por polimerización auto-oxidativa de lignina para formar quinonas, las cuales se condensan entre sí formando compuestos de lignina alto peso molecular de color oscuro (Kortekaas y col., 1998; Milestone y col., 2004). Los demás compuestos específicos, como se observa en la Figura 14B, presentan una correlación en su eliminación, las cuales no superan un 30% e incluso en el caso de la lignina y derivado de lignina no hay eliminación en la última etapa de operación del reactor. Singh y Thakur (2006) informaron eficiencias de eliminación de lignina y derivados de lignina de un 25% en el tratamiento anaeróbico de un reactor secuencial de dos etapas.

Tabla 7. Eficiencia de eliminación de diferentes tratamientos anaeróbicos aplicado a la industria de celulosa y papel

Tratamiento	Eficiencia de eliminación (%)		Referencias
	DQO	Otros contaminantes	
UASB	66	73 (SO ₄)	Chen y Horan, 1998
UASB	80	-	Buzzini y Pires, 2002
UASB	81	71 – 99% (Organoclorados)	Buzzini y col., 2005
UASB	80-86	-	Buzzini y col., 2006
UASB + recirculación	75-78	-	Buzzini y col., 2006
UASB	80–85	-	Chinnaraj y Rao, 2006
AF	46-59	13-22 (UV215), -20 - -2 (Color), < 94 (DBO ₅)	Vidal y col., 2007
UAF	50	88 (AOX)	Deshmukh y col., 2009
HPBR	45–55	40 – 45 (AOX), -60 – 20 (Color)	Chaparro y Pires, 2011
UASB	90	70 (AOX)	Setiawan y col., 2011

AF: Filtro anaeróbico; HPBR: Reactor anaeróbico de lecho fijo horizontal; UAF: Filtro anaeróbico de flujo ascendente; UASB: Reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos.

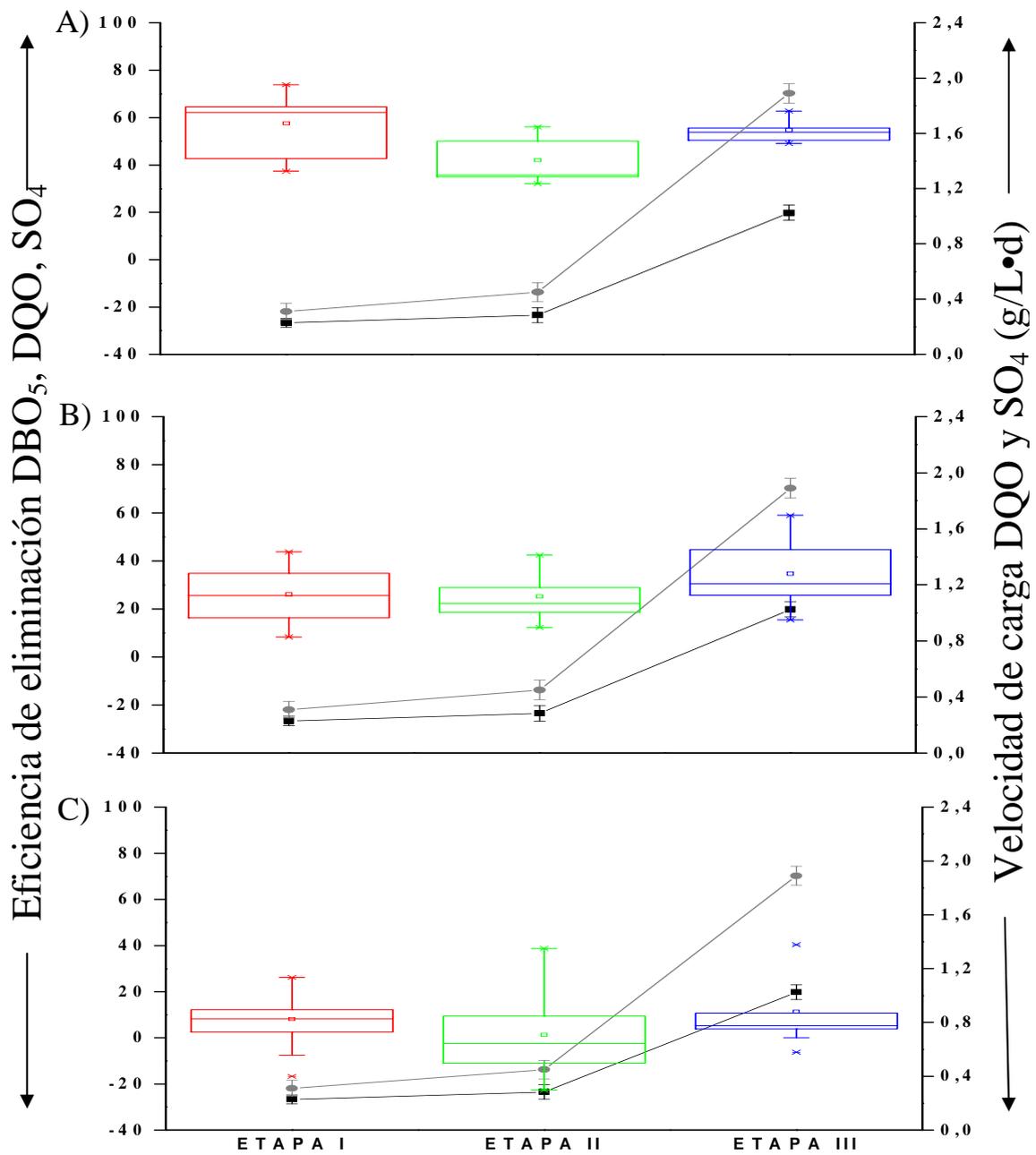


Figura 19. Eficiencia de eliminación y velocidad de carga en diferentes etapas de operación del reactor UASB.

Donde A, B y C representan eficiencia de eliminación de DQO, DBO₅ y SO₄ respectivamente durante las etapas de operación I (●), II (□) y III (⊖) a distintas cargas suministradas representadas por VCO (●) y VCS (■).

4.5 Caracterización del efluente

En la primera etapa de operación, solo los compuestos específicos (excepto el color) de bajo peso molecular (<1000 Da) son degradados por digestión anaeróbica, sin embargo, representan una menor proporción del total del efluente, por el contrario, en la segunda y tercera etapa son degradados los compuestos específicos de alto peso molecular (>10000 Da), mientras que las fracciones de peso molecular $10000 < Da < 1000$ se mantienen estables luego de la biodegradación anaeróbica. Sólo se observó degradación anaeróbica de AOX en la segunda etapa de operación en las tres fracciones de peso molecular >1000 Da. Sin embargo, representan una menor proporción del total del efluente. Mientras que la fracción <1000 Da se observa un incremento de hasta un 61% en la tercera etapa de operación, es decir, esta fracción son recalcitrantes a la biodegradación anaeróbica. Sin embargo, según lo reportado por Ali y Sreekrishnan (2001) y Savant y col. (2006) los AOX de alto peso molecular se mantiene estables y los de bajo peso molecular son degradados luego de la digestión anaeróbica de efluentes provenientes de la industria de celulosa y papel. Sólo después de la primera etapa de operación la fracción de alto peso molecular, específicamente la de >10000 Da incrementa un 12% y 17% en la materia orgánica medida como DQO y COT (Figura 15B) respectivamente e incremento 25% respecto del color (Figura 12B), lo cual de acuerdo con Kortekaas y col. (1998) y Milestone y col. (2004) se debería a que lignina de bajo peso molecular es polimerizada a lignina de alto peso molecular, lo cual concuerda con el aumento en la lignina y derivados de lignina (Figura 16B). Finalmente se determinó, de acuerdo con el DS 90/2000, el cual establece norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales y en base a la caracterización fisicoquímica descrita en la Tabla 5 respecto del efluente a la salida del reactor este únicamente cumple con los límites máximos permitidos para descarga de residuos líquidos a cuerpos de agua fluviales considerando la capacidad de dilución del receptor (Tabla 2, DS 90/2000) y a cuerpos de agua marinos fuera de la zona de protección litoral (Tabla 5, DS 90/2000), esto en base sólo a los parámetros medidos en la investigación y descritos en dichas tablas, los

cuales incluyen DBO₅, pH, SO₄, temperatura y NTK (se estimó que si NT medido es menor a la normativa el NTK también lo será, pues es sabido que el NT > NTK).

4.6 Balance de materia orgánica

El balance de materia orgánica realizado en base a la DQO refleja la baja eficiencia de eliminación de materia orgánica pues un 67,8% de la DQO del influente no fue biodegradada anaeróbicamente bajo las condiciones estudiadas en la investigación. Por otra parte, existe una diferencia de un 19,6% de la DQO a la salida del reactor con respecto a la de entrada tal diferencia en el equilibrio se debería según lo expuesto por Van Lier y col. (2008) a la presencia de aceptores de electrones alternativos como nitrato, sulfato o sulfito resultando en una eficiencia de tratamiento global inferior en el sistema y además una disminución en la producción de metano.

4.7 Proyecciones

Respecto de los resultados obtenidos, la biodegradabilidad anaeróbica de efluentes provenientes de la industria de celulosa kraft, bajo las condiciones estudiadas en un reactor tipo UASB no es factible su utilización como sistema de tratamiento pues posee bajas eficiencias de eliminación de materia orgánica y no se obtiene biogás como subproducto de valor agregado. Sin embargo, para dilucidar bien el porqué de estos resultados y para así poder comprender el comportamiento del reactor durante la operación del sistema no es suficiente únicamente el estudio de los parámetros previamente descritos, se requiere además el estudio del consorcio microbiano presente en el lodo granular del reactor UASB, por tanto, se proyecta determinar las comunidades microbianas predominantes en dicho lodo por medio de la utilización de técnicas moleculares de PCR y DGGE y su posterior identificación mediante secuenciación y de esta manera saber si el sistema se comportó como un sistema híbrido donde arqueas metanogénicas y bacterias sulfato reductoras compiten por sustrato lo cual afecto el rendimiento del reactor.

5 CONCLUSIONES

Las eficiencias de biodegradación promedio de la materia orgánica durante todo el período de operación fueron 28,5% y 52,1% de DQO y DBO₅, respectivamente, es decir, entre un 15-60% más bajas en comparación a estudios similares. Por tanto, la materia orgánica no es degradada completamente bajo las condiciones anaeróbicas estudiadas presentando incluso recalcitrancia a pesos moleculares menores a 1000 Da a velocidades de carga orgánica entre 0,44 y 1,89 gDQO/L·d.

El balance de materia orgánica realizado a la operación del reactor UASB muestra que existe un 67,8% de materia orgánica recalcitrante a la digestión anaeróbica y que en consecuencia el bajo consumo de materia orgánica de las arqueas metanogénicas se ve reflejado en la nula producción de biogás en el reactor.

Las diferentes fracciones de pesos moleculares de materia orgánica del influente y efluente tratado por digestión anaeróbica muestra muy poca diferencia, evidenciando la elevada recalcitrancia del efluente de celulosa Kraft frente a la biodegradabilidad anaeróbica.

Se rechaza la hipótesis planteada, pues la biodegradabilidad de la materia orgánica de efluentes de celulosa Kraft bajo condiciones anaeróbicas, no presenta mejores eficiencias de eliminación en fracciones de peso molecular menores a 1000 Da.

6 AGRADECIMIENTOS

En este ítem quisiera agradecer en primer lugar a la doctora Gladys Vidal por permitir realizar mi tesis junto a ella y la confianza depositada en mi trabajo para el desarrollo de esta misma, así como también al Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA) por su ayuda en el aprendizaje tanto empírico como teórico para poder llevar a cabo la realización de mi tesis. Quisiera agradecer especialmente a María José Ortega por su compañía, colaboración y apoyo durante todo este período de realización de mi investigación para lograr el objetivo de finalizar mi tesis.

Igualmente quisiera agradecer también a la empresa celulosa Arauco y Constitución S.A. planta Nueva Aldea, especialmente a don Miguel Salinas, por su colaboración fundamental para poder llevar a cabo el desarrollo de mi tesis.

Finalmente agradeceré a todos los profesores que fueron parte de mi formación académica universitaria ya que con las enseñanzas entregadas logré determinar la orientación que le di a mi carrera.

7 REFERENCIAS

AgroWaste. (2014). Digestión anaerobia. Fichas Tecnologías para la gestión y valorización de residuos agroalimentarios.

Ali, M. y Sreekrishnan, T. R. (2001). Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. *Advances in environmental research*, 5(2), 175-196.

Amani, T., Nosrati, M., y Sreekrishnan, T. R. (2010). Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects-a review. *Environmental Reviews*, 18,255-278.

Anderson, K., Sallisp, P., y Uyanik, S. (2003). Anaerobic treatment processes. *Handbook of water and wastewater microbiology*, 391.

Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M., y Stams, A. J. (2011). Biomethanation and its potential. *Methods Enzymol*, 494(16), 327-351.

APHA-AWWA-WPCF (2005). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 21st ed., Washington.

Appels, L., Lauwers, J., Degrève, J., Helsen, L., Lievens, B., Willems, K., y Dewil, R. (2011). Anaerobic digestion in global bio-energy production: potential and research challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(9), 4295-4301.

Arauco. 2013. Reporte de sustentabilidad 2013, pp. 27.

Arauco. 2014. Descripción de proceso productivo Celulosa Kraft. Consultado en marzo del 2016. URL: <http://www.arauco.cl/flash/base.swf>

Bajpai, P. (2011). *Biotechnology for pulp and paper processing*. Springer Science & Business Media.

Bajpai, P., y Kondo, R. (2012). *Biotechnology for environmental protection in the pulp and paper industry*. Springer Science & Business Media.

Bajpai, P. (2013). *Bleach Plant Effluents from the Pulp and Paper Industry*. Springer.

Bedoya, O., y Sanches, L. (2009). Tratamiento de aguas residuales de la industria láctea en sistemas anaerobios tipo UASB. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 7(2), 24-31.

Brunaud Sánchez, B. (2008). Desarrollo de un Modelo Predictivo para el Tratamiento Biológico de RILES en una Planta de Celulosa con Blanqueo ECF.

Buzzini, A. P., Gianotti, E. P., y Pires, E. C. (2005). UASB performance for bleached and unbleached kraft pulp synthetic wastewater treatment. *Chemosphere*, 59(1), 55-61.

Buzzini, A. P., Sakamoto, I. K., Varesche, M. B., y Pires, E. C. (2006). Evaluation of the microbial diversity in an UASB reactor treating wastewater from an unbleached pulp plant. *Process Biochemistry*, 41(1), 168-176.

Buzzini, A. P., y Pires, E. C. (2002). Cellulose pulp mill effluent treatment in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Process Biochemistry*, 38(5), 707-713.

Chamorro, S., Pozo, G., Jarpa, M., Hernandez, V., Becerra, J., y Vidal, G. (2010). Monitoring endocrine activity in kraft mill effluent treated by aerobic moving bed bioreactor system. *Water Science and Technology*, 62(1), 154-161.

Chaparro, T. R., y Pires, E. C. (2011). Anaerobic treatment of cellulose bleach plant wastewater: chlorinated organics and genotoxicity removal. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(4), 625-638.

Chen, W., y Horan, N. J. (1998). The Treatment of a High Strength Pulp and Paper Mill Effluent for Wastewater Re-Use: II) Biological Sulphate Removal from Effluent with a Low COD/Sulphate Ratio. *Environmental technology*, 19(2), 163-171.

Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99(10), 4044-4064.

Chen, J. L., Ortiz, R., Steele, T. W., y Stuckey, D. C. (2014). Toxicants inhibiting anaerobic digestion: a review. *Biotechnology advances*, 32(8), 1523-1534.

Chinnaraj, S., y Rao, G. V. (2006). Implementation of an UASB anaerobic digester at bagasse-based pulp and paper industry. *Biomass and Bioenergy*, 30(3), 273-277.

CMPC Celulosa. 2014. Operaciones, Plantas productivas. Consultado en marzo de 2016. URL: <http://www.cmpccelulosa.cl/>

CORMA. 2012. Perfil del sector. Consultado en marzo de 2016. URL: <http://www.corma.cl>

Deshmukh, N. S., Lapsiya, K. L., Savant, D. V., Chiplonkar, S. A., Yeole, T. Y., Dhakephalkar, P. K., y Ranade, D. R. (2009). Upflow anaerobic filter for the degradation of adsorbable organic halides (AOX) from bleach composite wastewater of pulp and paper industry. *Chemosphere*, 75(9), 1179-1185.

Díaz-Báez, M. C., Espitia, S. E. y Molina F. (2002). Digestión anaerobia: Una aproximación a la tecnología. Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología

Diez, M. C., Castillo, G., Aguilar, L., Vidal, G., y Mora, M. L. (2002). Operational factors and nutrient effects on activated sludge treatment of *Pinus radiata* kraft mill wastewater. *Bioresource Technology*, 83(2), 131-138.

Ekstrand, E. M., Larsson, M., Truong, X. B., Cardell, L., Borgström, Y., Björn, A., Ejlertsso, J., Svensson B., Nilsson F. y Karlsson, A. (2013). Methane potentials of the Swedish pulp and paper industry—A screening of wastewater effluents. *Applied energy*, 112, 507-517.

Gallegos-García, M., Celis, L. B., y Razo-Flores, E. (2010). Competencia por sustrato durante el desarrollo de biomasa sulfatorreductora a partir de un lodo metanogénico en un reactor UASB. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 26(2), 109-117

Gerardi, M. H. (2003). *The microbiology of anaerobic digesters*. John Wiley & Sons.

Ghangrekar, M. M. (2005). *Module 21: Anaerobic Wastewater Treatment Processes*. National Programme on Technology Enhanced Learning

INFOR. 2015. Boletín estadístico 140, Anuario forestal 2015, pp. 8.

IPCC, 2001. "Integrated Pollution Prevention and Control: Reference Document on Best Available Techniques in the Pulp and Paper Industry." European Commission, Brussels, pp. 82.

Jahren, S. J., Rintala, J. A., y Ødegaard, H. (2002). Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions. *Water Research*, 36(4), pp.1068.

Jarpa, M., Pozo, G., Baeza, R., Martínez, M., y Vidal, G. (2012). Polyhydroxyalkanoate biosynthesis from paper mill wastewater treated by a moving bed biofilm reactor. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 47(13), 2052-2059.

Kortekaas, S., Vidal, G., Yan-Ling, H., Lettinga, G., y Field, J. A. (1998). Anaerobic-aerobic treatment of toxic pulping black liquor with upfront effluent recirculation. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 86(1), 97-110.

Leitao, R. C., Van Haandel, A. C., Zeeman, G., y Lettinga, G. (2006). The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. *Bioresource Technology*, 97(9), 1105-1118.

Lettinga, G. A. F. M., Van Velsen, A. F. M., Hobma, S. W., De Zeeuw, W., y Klapwijk, A. (1980). Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnology and bioengineering*, 22(4), 699-734.

Acosta, Y. L. y Obaya, M. C. (2005). *La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I*. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, pp.35-48.

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. Santiago de Chile: Cepal, documento de proyecto ROA/49, pp. 45-46

Méndez-Acosta, H. O., Palacios-Ruiz, B., Alcaraz-González, V., González-Álvarez, V., y García-Sandoval, J. P. (2010). A robust control scheme to improve the stability of anaerobic digestion processes. *Journal of Process Control*, 20(4), 375-383.

Meyer, T., y Edwards, E. A. (2014). Anaerobic digestion of pulp and paper mill wastewater and sludge. *Water research*, 65, 321-349.

Milestone, C. B., Fulthorpe, R. R., y Stuthridge, T. R. (2004). The formation of colour during biological treatment of pulp and paper wastewater. *Water Science and Technology*, 50(3), 87-94.

ODEPA. (2012). Producción de la industria forestal. Consultado en marzo del 2016. URL: <http://www.odepa.cl>

Pokhrel, D., y Viraraghavan, T. (2004). Treatment of pulp and paper mill wastewater—a review. *Science of the total environment*, 333(1), 37-58.

Ripley, L. E., Boyle, W. C., y Converse, J. C. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high strength wastes. *Journal Water Pollution Control Federation*, 58, 406-411.

Rozzi, A. (1986). Parámetros de operación y control de los procesos anaeróbicos. Tercer Seminario sobre depuración anaeróbica de aguas residuales, Valladolid, España.

Savant, D. V., Abdul-Rahman, R., y Ranade, D. R. (2006). Anaerobic degradation of adsorbable organic halides (AOX) from pulp and paper industry wastewater. *Bioresource Technology*, 97(9), 1092-1104.

Setiawan, Y., Soetopo, R.S., y Kristaufan, J.P., (2008). Anaerobic treatment for bleaching effluent of pulp and paper mill. In: *Proceedings of the International Seminar on Chemistry*, Jatinangor, Indonesia, pp. 367e372.

Singh, P., y Thakur, I. S. (2006). Colour removal of anaerobically treated pulp and paper mill effluent by microorganisms in two steps bioreactor. *Bioresource technology*, 97(2), 218-223.

Soto, M., Méndez, R., y Lema, J. M. (1993). Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Water Research*, 27(8), 1361-1376.

Thompson, G., Swain, J., Kay, M., & Forster, C. F. (2001). The treatment of pulp and paper mill effluent: a review. *Bioresource Technology*, 77(3), 275-286.

Van Lier, J. B., Mahmoud, N., y Zeeman, G. (2008). Anaerobic wastewater treatment. *Biological Wastewater Treatment*, 415-456.

Veiga, M. C., Soto, M., Méndez, R., & Lema, J. M. (1990). A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. *Water research*, 24(12), 1551-1554.

Vidal, G., Videla, S., y Diez, M. C. (2001). Molecular weight distribution of *Pinus radiata* kraft mill wastewater treated by anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 77(2), 183-191.

Vidal, G. y Diez, M.C. (2003). Influence of feedstock and bleaching technologies on methanogenic toxicity of kraft mill wastewater. *Water Science and Technology* 48(6), 149-155.

Vidal, G., Becerra, J., Hernández, V., Decap, J., y Xavier, C. R. (2007). Anaerobic biodegradation of sterols contained in kraft mill effluents. *Journal of bioscience and bioengineering*, 104(6), 476-480.

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

Wellinger, A., Murphy, J. P., y Baxter, D. (Eds.). (2013). The biogas handbook: science, production and applications. Elsevier. pp. 104-109

Yasar, A., y Tabinda, A. B. (2010). Anaerobic treatment of industrial wastewater by UASB reactor integrated with chemical oxidation processes; an overview. Polish Journal of Environmental Studies, 19, 1051-1061.

Zaror, C. (2002). Introducción a la ingeniería ambiental para la industria de procesos. Editorial Universidad de Concepción.