



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
CENTRO DE CIENCIAS AMBIENTALES EULA-CHILE**

**EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ESTROGENICA PRESENTE EN EFLUENTES DE
CELULOSA KRAFT, TRATADOS MEDIANTE UN SISTEMA BIOLÓGICO, A TRAVES DE
ENSAYOS CON *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* RECOMBINANTE Y *DAPHNIA MAGNA***



Por
SOLEDAD ANDREA CHAMORRO RODRIGUEZ

Tesis presentada a:

Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción

Para optar al Grado de:

Doctor en Ciencias Ambientales con Mención en Calidad de agua y Conservación de Sistemas
Acuáticos Continentales

CONCEPCION (Chile), 2011

RESUMEN

En la actualidad, Chile presenta un gran crecimiento a nivel forestal, debido principalmente a la industria de celulosa kraft blanqueada, con una producción anual de 4,7 millones de toneladas de pulpa basada en celulosa de fibra larga (BSKP, pino), y fibra corta (BSKE, eucalipto). Asociado a este crecimiento, existe también un incremento en los volúmenes de residuos líquidos eliminados al ambiente, los cuales han sido por años considerados como una de las principales fuentes de contaminación de los sistemas acuáticos. Los efluentes generados por este tipo de industria poseen materia orgánica que contiene color y toxicidad. La materia orgánica, contiene fitoesteroides, compuestos que pertenecen a la fracción de los extractivos de la madera, liberados durante el proceso de pulpaje. Estos compuestos pueden alterar la reproducción, desarrollo y crecimiento (disrupción endocrina) de organismos acuáticos expuestos a efluentes de celulosa que son descargados al cuerpo de agua.

A través de los años, esta actividad ha desarrollado cambios en el proceso productivo implementando tecnologías de tratamiento secundario para la degradación de la materia orgánica. Para este fin, las tecnologías disponibles, son de tipo biológica aeróbicas. Dentro de ellas se puede considerar sistemas de biomasa libre, tales como lagunas aireadas y sistemas de biomasa inmovilizada (MBBR: Movil Bed Biofilm Reactor). Sin embargo, a pesar de la implementación de este tipo de tecnologías biológicas secundarias, se ha demostrado por un lado, que existe una alta fracción de compuestos aromáticos en los efluentes que no son biodegradados, y por otro, efectos de alteraciones endocrinas en organismos habitantes en las cercanías a las descargas. Podría ser factible que este tipo de tecnologías no tengan la capacidad de eliminación completa de extractivos de la madera (ácidos resínicos, fitoesteroides, entre otros) y por ello, existe la presencia de un potencial estrogénico en los efluentes tratados. Comúnmente, para la detección de compuestos con actividad endocrina, se han empleado técnicas analíticas. Sin embargo, estas técnicas son muy complejas y de alto costo operacional. Una alternativa potencialmente más simple y de mayor rapidez, lo constituye *Saccharomyces cerevisiae* recombinante, el cual posee la capacidad de detectar actividad endocrina en compuestos y matrices complejas. Por otro lado, es sabido que ensayos con *Daphnia sp.*, son utilizados para evaluar la calidad toxicológica de matrices líquidas como el efluente de celulosa. Además, también es posible evaluar el potencial estrogénico de este tipo de vertidos, producto de los

cambios morfológicos de este organismo expuesto al efluente. En esta tesis, nos planteamos averiguar si los reactores MBBR son capaces de eliminar la actividad estrogénica presente en efluentes de celulosa kraft. Para esto, los objetivos planteados fueron los siguientes: i) evaluar la eficiencia de un reactor MBBR para depurar efluente proveniente de la industria de celulosa kraft, ii) evaluar la capacidad de eliminación de toxicidad aguda y crónica del efluente de celulosa kraft tratado mediante sistema biológico, a través del bioindicador *Daphnia magna*, iii) evaluar la actividad estrogénica del influente y efluente tratados por un sistema biológico, a través de *Saccharomyces cerevisiae* recombinante y *Daphnia magna*. Referente a lo expuesto, esta tesis presenta evidencias que sistemas biológicos, basados en laguna aeróbica producen una eficiencia de eliminación del 96 % de estigmasterol, a una elevada velocidad de carga (1,1 mg/L•d). Sin embargo, existe una acumulación del compuesto cuando se trabaja a velocidades menores que la indicada.

Sistemas basados en bioamasa adherida como MBBR, es eficiente en degradar la materia orgánica, sin embargo, no elimina compuestos específicos como el color y fenoles totales entre otros. Por otro lado, MBBR no es capaz de reducir la actividad estrogénica presente cuando se opera con tiempos de retención de 2 y 1 día. Sin embargo, en condiciones de 0.5 día, esta es eliminada en un 100 %, lo que sugiere que la efectiva reducción de actividad estrogénica específicamente estaría dada por las condiciones operacionales del tratamiento biológico.

Efluentes que presentan diferencias de acuerdo a la materia prima basados en *Pinus radiata*, *Eucaliptus globulus* y una mezcla de ambos (50 % *P. radiata* y 50 % *E. globulus*), presentan actividad estrogénica y tipo dioxina. Siendo efluente *E. globulus*, de los que presenta mayor actividad, seguido del mixto y por último el *P. radiata*. No obstante, esta actividad es muy baja (débil), comparada con valores referenciales de Canadá. Sumado a esto, alteraciones fisiológicas en *D. magna*, se evidencian en todos los efluentes de celulosa ensayados, reafirmando que los efluentes poseen compuestos activos. Cabe destacar que efluente de *P. radiata* evidencia una menor alteración en comparación a las demás muestras ensayadas. Fitoesteroles puros, (β -sitosterol, estigmasterol y la mezcla de ambos) disminuyen la fertilidad y retrasan la madurez sexual de *D. magna*, comportándose de forma similar a 17 α -etinilestradiol (patrón estrogénico).

Estos resultados, evidencian la posibilidad de poder cuantificar utilizando un biosensor, basado en organismos unicelulares eucariontes como *Saccharomyces cerevisiae* recombinante y bioindicadores, como *Daphnia magna*, el tipo de actividad biológica presente en matrices complejas, como los

efluentes de celulosa kraft, y que puede ser tomada en referencia para complementar con los parámetros de rutina.

