

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA



«EFECTO DE LA NATURALEZA DEL SUSTRATO DE FILTROS
BIOLÓGICOS ANAERÓBICOS EN LA EFICIENCIA DE DEPURACIÓN
DE NITRATO EN SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLAS
MARINOS»

Presentado por:

CÉSAR ARMANDO NARVÁEZ ARRIAGA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO PESQUERO

Lima - Perú

2014

Resumen

Nuevas tecnologías de bioremediación vienen siendo estudiadas y adaptadas a sistemas de recirculación acuícolas (SRAs) con la finalidad de amplificar su autonomía y cumplir con las exigencias medioambientales impuestas por la legislación. La tesis descrita planteó estudiar la viabilidad de un reactor de desnitrificación o filtro biológico anaeróbico (FBA) como solución al problema de acumulación de nitrato (NO_3^-) en SRAs. Se demostró que la naturaleza del sustrato contenido en el FBA es un parámetro clave en el rendimiento depuratorio de NO_3^- . Los sustratos areno-rocosos y rocosos exhibieron los mejores resultados de depuración, gracias a su reducida granulometría que: (1) facilitó la generación de anaerobiosis, y (2) proporcionó una mayor superficie de colonización a las bacterias desnitrificantes. El valor de cinética de reducción calculado, en condiciones óptimas de operación, fue $0.7 \text{ kg NO}_3^- \cdot \text{m}^{-3} \text{FBA} \cdot \text{d}^{-1}$. La desnitrificación resultó ser una estrategia económica para resolver los problemas de acumulación de NO_3^- en SRAs (por cada g de N- NO_3^- depurado, el costo de operación fue S/. 17 ó 4.42 €).

Palabras clave: Sistemas de recirculación acuícolas, desnitrificación, filtración biológica.

Abstract

New bioremediation technologies are being studied and adapted to recirculating aquaculture systems (SRAs) in order to amplify their autonomy and to satisfy the environmental requirements imposed by the legislation. This thesis proposed to better understand the viability of a denitrification reactor or anaerobic biofilter (FBA) to face the problem of nitrate (NO_3^-) buildup in SRAs. It was proved that the substrate nature contained in the FBA is a key factor in the depuration performance of NO_3^- . Sand-rocky and rocky substrates showed the best removal rates due to their reduced granulometry that: (1) eased the generation of anaerobic conditions, and (2) supplied a higher surface for the colonization of denitrifying bacteria. The calculated reduction kinetics value at their optimal operating conditions was $0.7 \text{ kg NO}_3^- \cdot \text{m}^{-3} \text{FBA} \cdot \text{d}^{-1}$. Denitrification is an economic strategy to solve the inconvenient of NO_3^- buildup in SRAs (for each g of N- NO_3^- removed, the operation cost was S/. 17 or 4.42 €).

Key words: Recirculating aquaculture systems, denitrification, biological filtration.

Índice general

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1	SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLAS (SRAs).....	5
2.1.1	DEFINICIÓN.....	5
2.1.2	PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO.....	5
2.1.3	MONITOREO DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.....	6
2.1.4	NATURALEZA DE LOS EFLUENTES A TRATAR.....	7
2.1.5	LOS TRATAMIENTOS DE AGUA EN UN SRA.....	8
2.1.6	CONSIDERACIONES BIO-FÍSICAS DE RELEVANCIA EN UN SRA.....	8
2.1.7	TÉCNICAS Y EQUIPOS DE TRATAMIENTO DE AGUA.....	11
2.1.8	OTROS EQUIPOS Y CONSIDERACIONES TÉCNICAS.....	17
2.1.9	ESPECIFICACIONES EN EL DIMENSIONAMIENTO DE UN SRA.....	18
2.2	DESNITRIFICACIÓN.....	19
2.2.1	BASES TEÓRICAS.....	19
2.2.2	PROCESOS UNITARIOS DE DESNITRIFICACIÓN.....	23
2.2.3	FACTORES QUE CONTROLAN LA DESNITRIFICACIÓN.....	25
2.2.4	EFFECTO DE LA DESNITRIFICACIÓN EN LA ALCALINIDAD.....	29
2.2.5	TIPOS DE REACTORES.....	31
2.2.6	TECNOLOGÍA MBBR.....	32
2.2.7	DISEÑO DE REACTORES DE DESNITRIFICACIÓN.....	33
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
3.1	FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS.....	34
3.2	IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES.....	34
3.2.1	FACTOR EN ESTUDIO.....	34
3.2.2	TRATAMIENTOS.....	34
3.2.3	TESTIGO.....	35

3.2.4	FACTOR DE CONTROL	35
3.2.5	BLOQUES.....	35
3.2.6	UNIDAD EXPERIMENTAL.....	35
3.2.7	VARIABLE RESPUESTA	37
3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	37
3.4	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	38
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
3.6	INSTRUMENTOS DE COLECTA DE DATOS.....	39
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	41
4.1	DEPURACIÓN DE NITRATO.....	41
4.1.1	ANOVA.....	42
4.1.2	VALIDACIÓN DEL ANOVA.....	43
4.1.3	COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS.....	44
4.2	CINÉTICA DE DESNITRIFICACIÓN	48
4.3	ASPECTO ECONÓMICO	51
V.	CONCLUSIONES	53
VI.	RECOMENDACIONES	54
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

Índice de cuadros

Cuadro 1. Calidad de agua requerida para la producción acuícola de especies de importancia económica e información de sus efluentes [Fuente: J.-P. Blancheton <i>et al.</i> , 2003].....	8
Cuadro 2. Características zootécnicas de SRAs para el engorde de 2 especies de peces marinos [Fuente: J.-P. Blancheton <i>et al.</i> , 2003].	18
Cuadro 3. Concentración inicial (D-0) y final (D-15) de nitrato (mg.L^{-1}) y dosis de melaza suministrada a cada sistema <i>DENLIFT</i> (g.d^{-1}).....	41
Cuadro 4. Rendimiento depuratorio de nitrato obtenido por cada unidad experimental (en mg.L^{-1}).....	41
Cuadro 5. Cuadro de ANOVA (Fuente: propia).....	42
Cuadro 6. Cinética de desnitrificación calculada por cada unidad experimental.	48

Índice de figuras

Figura 1. (a) Monitoreo y control de los parámetros de calidad de agua de un SRA; (b) Interface hombre-máquina del <i>software</i> empleado en la estación piscícola del IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia) [Fuente: Alain Vergnet].....	6
Figura 2. Impacto de la alimentación en la calidad de agua [Fuente: Losordo <i>et al.</i> , 1998].	7
Figura 3. Diferentes equipos de tratamiento de agua empleados en acuicultura [Fuente: Losordo <i>et al.</i> , 1998].	9
Figura 4. Etapas de la nitrificación biológica [Fuente: Losordo <i>et al.</i> , 1998].....	9
Figura 5. Columna de desgasificación a depresión COLDEP [®] asociada a un SRA de la estación de IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia); tecnología patentada por el IFREMER en 2009 [Fuente: propia].....	11
Figura 6. (a) Fraccionador de espuma de la marca Aquaoptima [®] de la ARDA en la isla de La Réunion (Francia) [Fuente: Bertrand Barrut]; (b) Esterilizador UV de la estación IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia) [Fuente: propia].	12
Figura 7. Dispositivos de disolución y almacenamiento de O_2 de la estación IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia): (a) Cono de oxigenación de $180 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (2 bares), 3 a 5 kg de O_2 transferidos al agua de mar a $15 \text{ }^\circ\text{C}$, 35 mg.L^{-1} de O_2 a la salida [Fuente: Cyrille Przybilla]; (b) Almacenamiento de O_2 líquido [Fuente: propia].	16
Figura 8. (a) Diseño funcional de un RBC (EnviroDisc TM); (b) Pilotos de biofiltros de lecho fluidizado de la estación IFREMER de Palavas-les-Flots (Francia) [Fuente: propia]. ...	24

Figura 9. (a) Sustrato móvil Kaldnes™ K1 implicado en procesos de nitrificación; (b) MBBR [Fuente: propia].....	33
Figura 10. (a) Sustrato areno-rocoso; (b) sustrato rocoso; (c) sustrato sintético [Fuente: propia].	34
Figura 11. FBAs empleados en el ensayo [Fuente: propia].	35
Figura 12. (a) Sistema <i>DENILIFT</i> ; (b) diagrama de tuberías de un sistema <i>DENILIFT</i> ; (c) compresor eléctrico empleado durante el ensayo; (d) difusores de cerámica acoplados a los mini-sistemas <i>airlift</i> [Fuente: propia].....	36
Figura 13. (a) Construcción de los mini-sistemas <i>airlift</i> ; (b) vista frontal de los FBAs; (c) válvulas de gas empleados como reguladores de flujo; (d) pesado de la fuente de carbono previa introducción a los sistemas <i>DENILIFT</i> [Fuente: propia].	37
Figura 14. (a) Sistemas <i>DENILIFT</i> antes y después de la adición de la fuente de carbono; (b) medición del caudal de recirculación en una unidad experimental; (c) muestras de agua de mar previo análisis espectrofotométrico para estimar la concentración en nitrato.....	38
Figura 15. Equipos e instrumentos empleados durante el ensayo.....	40
Figura 16. <i>Boxplot</i> – Visualización de los valores de depuración por tratamiento.....	42
Figura 17. Permutación aleatoria.	44
Figura 18. Efecto del fotoperiodo en el rendimiento depuratorio de nitrato.....	44
Figura 19. A la izquierda, 4 sistemas <i>DENILIFT</i> expuestos a un fotoperiodo 24 h diurno y a la derecha, 4 sistemas <i>DENILIFT</i> expuestos a un fotoperiodo 24h nocturno (Fuente: propia).	45
Figura 20. Gráfico de líneas. El T _A (sustrato areno-rocoso) y el T _B (sustrato rocoso) resultaron los mejores en términos de depuración de nitrato indistintamente.	45
Figura 21. Efecto de la naturaleza del sustrato del FBA en el rendimiento depuratorio de nitrato.....	46
Figura 22. (a) Evolución del ORP (mV) promedio en función del tiempo en los sistemas <i>DENILIFT</i> ; (b) Evolución de la concentración en O ₂ disuelto (mg.L ⁻¹) promedio en función del tiempo en los sistemas <i>DENILIFT</i>	48
Figura 23. Monitoreo del ORP en los sistemas <i>DENILIFT</i> dentro del rango óptimo en el que opera el proceso de desnitrificación: (a) -195 mV; (b) -407 mV (Fuente: propia).....	49
Figura 24. (a) Evolución del valor de pH promedio en función del tiempo en los sistemas <i>DENILIFT</i> ; (b) Perfil de las concentraciones de nitrato bioremediadas y remanentes obtenidas en cada unidad experimental.....	50

Figura 25. (a) Sistema *DENILIFT* produciendo espuma a la salida del *airlift*; la adaptación de una cámara de espuma sometida a presiones de vacío para recuperarla es una solución práctica a considerar; (b) Sistemas *DENILIFT* expuestos a un fotoperiodo 24h nocturno (a la izquierda) y a un fotoperiodo natural (a la derecha)..... 51

Índice de anexos

Anexo 1. Cálculo de la dosis de melaza a adicionar a los sistemas <i>DENILIFT</i> [Fuente: Facultad de Zootecnia de la UNALM].	62
Anexo 2. Supuestos de normalidad y homocedasticidad validados por el software SPSS.	63
Anexo 3. Tests « post-hoc » de comparación múltiple realizados a través del software SPSS 15.0 (Tukey y Dunnett).	64
Anexo 4. Monitoreo REDOX y de la concentración en O ₂ por unidad experimental.	65
Anexo 5. Monitoreo promedio de la temperatura por tratamiento.	66

I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura, sector de producción alimentaria cuya progresión es la más dinámica (tasa de crecimiento promedio anual de 6.9%), contribuye actualmente con cerca del 50% de los peces con fin alimentario en el mundo (FAO, 2011).

Esta expansión de la industria acuícola, acelerada y en ocasiones no reglamentada, genera problemas de carácter ecológico. Específicamente, en países como China y Ecuador, la acuicultura desfigura el paisaje costero y contamina el litoral mediante efluentes masivos que transportan compuestos nitrogenados y materia orgánica (Asche *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2001; Masood, 1997; Folke y Kautsky, 1992).

Nuevos y recientes enfoques de productividad, fundados en el respeto por los ecosistemas, son desarrollados en respuesta a una mayor conciencia medio ambiental y al rigor en la legislación (Mirzoyan *et al.*, 2010). Los principales son los siguientes:

- El tratamiento de efluentes acuícolas por fitoremediación, que consiste en la utilización de macroalgas capaces de absorber el nitrógeno y fósforo remanentes (Bartoli *et al.*, 2005; Deviller *et al.*, 2004; Deviller y Blancheton, 2002).
- La acuicultura “offshore”, basada en el engorde de peces confinados en jaulas alejadas de la costa con la finalidad de: limitar el impacto medio ambiental causado por la sedimentación de heces y de alimento granulado no consumido (Skladany *et al.*, 2007; Buck *et al.*, 2004), y localizar cuerpos de agua que ofrezcan propiedades -temperatura y saturación en oxígeno- estables (Kaiser *et al.*, 2010; Troell *et al.*, 2009; Jensen *et al.*, 2007).
- Los sistemas de recirculación acuícolas (SRAs) o de agua reciclada, que facilitan el cultivo de peces en zonas donde la disponibilidad de agua resulta limitante (reduciendo así su demanda y el volumen de efluentes), controlando sus parámetros fisicoquímicos y bajo óptimas condiciones de bio-seguridad (Ifremer, 2009; Summerfelt, 1998).

La esencia de un SRA radica en su capacidad de remediar el agua de cultivo; éste se encuentra estructurado por una secuencia de operaciones que permiten tratar el agua a través de:

- Un filtro mecánico o de arena para la eliminación del material en suspensión,

- Un filtro UV para evitar riesgos bio-sanitarios,
- Un filtro biológico para el tratamiento de los compuestos nitrogenados, y
- Un sistema de aireación para la extracción de gases disueltos (Blancheton *et al.*, 2009; Roque d'Orbcastel *et al.*, 2009).

En materia de compuestos nitrogenados, los parámetros de calidad de agua de mayor relevancia en un SRA son: el amonio (NH_4^+), el nitrito (NO_2^-) y el nitrato (NO_3^-). De todas las formas de nitrógeno inorgánico existentes, el nitrato presenta una menor toxicidad (Dupla *et al.*, 2006); no obstante, a medianas concentraciones (700-1400 μM .), el nitrato interfiere en el desarrollo normal de los tejidos, induciendo estrés continuo en los animales cautivos; esto conduce a un estado de debilidad severa, que propicia retardo en el crecimiento, baja fertilidad, padecimiento de enfermedades o incluso la muerte (Gutierrez-Wing y Malone, 2006; Vidal *et al.*, 2002).

Adicionalmente a la toxicidad del compuesto, la principal desventaja de la acumulación de nitratos es su efecto en la alcalinidad y el pH. La producción de nitrato, durante el proceso de nitrificación, consume alcalinidad y genera protones responsables de la acidificación del medio acuático (Ferra, 2008; Pulefou *et al.*, 2008).

Mientras la nitrificación de amonio y nitrito -filtración biológica aeróbica- ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$), forma parte de la configuración estándar de un SRA, el tratamiento del nitrato resultante no se ha enfatizado al no ser considerado un obstáculo sustancial en la producción (Hamlin *et al.*, 2008; Singer *et al.*, 2008). Pequeñas instalaciones regulan el nivel de nitrato realizando recambios de agua periódicos, sin embargo, esta estrategia deviene impráctica en acuarios de gran envergadura -o locaciones sin acceso al mar-, donde reemplazar una fracción de agua significativa, se torna operacionalmente complicado y oneroso (Grguric *et al.*, 2000).

En respuesta a estas dificultades, la desnitrificación biológica surge como alternativa tecnológica de depuración de nitrato en SRAs (Vidal *et al.*, 2002; Clifford y Liu, 1993). La desnitrificación es la reducción disimilativa de nitrato a dinitrógeno (N_2), nitrógeno molecular o nitrógeno gaseoso ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_{(g)} \rightarrow \text{N}_2\text{O}_{(g)} \rightarrow \text{N}_{2(g)}$), mediante una secuencia de reacciones enzimáticas, en las que se produce nitrito, óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N_2O) como productos intermedios (Quang, 2006; Ovez *et al.*, 2006).

Este proceso respiratorio es efectuado por bacterias heterotróficas -anaerobias facultativas- del género *Pseudomonas* en su mayoría (Boopathy *et al.*, 2007; van Rijn *et al.*, 2006; McCarthy y Gardner, 2003). Las bacterias desnitrificantes requieren un sustrato oxidable -materia orgánica- o donador de electrones, como fuente de energía (Klas *et al.*, 2006a; Aboutboul *et al.*, 1995); éste será oxidado empleando los siguientes aceptores terminales de electrones en orden preferencial: oxígeno disuelto, nitrato y sulfato (Sauthier *et al.*, 1998). En condiciones de anoxia, el nitrato se convierte en el aceptor terminal elegido.

Durante la transferencia de electrones -del donador hacia el aceptor-, el organismo gana energía ulteriormente asignada al mantenimiento de la biomasa celular existente y a su replicación (Ovez *et al.*, 2006). La eficiencia de remoción de nitrato es dependiente de la temperatura, el pH, el oxígeno (Lu *et al.*, 2008; McCarthy y Gardner, 2003), y el ratio C/N (Schneider *et al.*, 2006).

La desnitrificación puede ser considerada como un proceso de dos fases: (1) la reducción de nitrato a nitrito -se elimina un átomo de oxígeno y un ion de nitrito es liberado-, seguida de (2) la reducción de nitrito a nitrógeno molecular, en serie, llevada a cabo en el periplasma celular y cuya velocidad de reacción está supeditada a la presencia de donadores de electrones orgánicos (Lee *et al.*, 2000).

La transformación biológica de nitrato a dinitrógeno, deriva en la completa eliminación de nitrógeno de un SRA, pues es relativamente simple desgasificar el nitrógeno gaseoso con un dispositivo de aireación (Menasveta *et al.*, 2001). Un efecto colateral positivo de este proceso es la creación de iones hidroxilo (OH^-), que estabilizan el decrecimiento normal de pH -consecuencia de la nitrificación aeróbica- ($6\text{NO}_3^- + 5\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{N}_2 + 5\text{CO}_2 + 7\text{H}_2\text{O} + 6\text{OH}^-$), incrementando así la capacidad buffer del agua; esto reduce la necesidad de costear la incorporación de bases externas adicionales (Klas *et al.*, 2006b; van Rijn, 1996).

Al día de hoy, esta tecnología sigue siendo inmadura y su rentabilidad deber ser mejor estudiada (Martins *et al.*, 2010). Los diseños de reactores anaeróbicos son complejos, difíciles de mantener y por ende, caros (Hamlin *et al.*, 2008; Singer *et al.*, 2008); éste es un punto desfavorable, ya que en la actualidad la noción de economía es una prioridad en todo tipo de producción acuícola (Kucuk *et al.*, 2010; Menicou y Vassiliou,

2010; Withmarsh *et al.*, 2006; Troell *et al.*, 2004; Losordo *et al.*, 1998; Izquierdo y Carrillo, 1997; Lazur y Britt, 1997; Bjørndal, 1988).

El presente manuscrito de tesis, cuya fase experimental se desarrolló en el marco de una colaboración entre el Centro de Investigación PIScícola (CINPIS) y el departamento de Manejo Pesquero y Medio Ambiente de la Facultad de Pesquería de la UNALM, se focalizó en: (1) el diseño y construcción de filtros biológicos anaeróbicos (FBA) -reactores de desnitrificación- adaptables a SRAs marinos, a bajo costo y haciendo uso de materiales existentes en las industrias nacionales del gas, riego tecnificado, construcción, y acuicultura -tema de estudio innovador, considerando el contexto actual de nuestro país: sector aún inmaduro e información exhaustiva no disponible-; y (2) la evaluación del efecto de la naturaleza del sustrato, contenido en los reactores, en la eficiencia de depuración de nitrato.

En consecuencia, los objetivos del trabajo de investigación fueron los siguientes:

Objetivo general

- Evaluar el efecto de la naturaleza del sustrato (areno rocoso, rocoso y sintético), contenido en filtros biológicos anaeróbicos, en la eficiencia de remoción de nitrato.

Objetivos específicos

- Diseñar e implementar un prototipo de FBA a bajo costo para su aplicación en SRAs marinos.
- Determinar la cinética de desnitrificación en FBAs en función de los diferentes tipos de sustrato contenidos.
- Calcular el costo de operación de un FBA en condiciones óptimas de funcionamiento por gramo de $N-NO_3^-$ depurado.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLAS (SRAs)

2.1.1 DEFINICIÓN

Un SRA o sistema de agua reciclada asocia tanques de cultivo y un circuito de tratamiento primario constituido por equipos de reciclaje y tratamiento de agua (bombas, filtros, esterilizador, etc.).

Este circuito comprende un aporte de agua nueva cuyo objetivo es la preservación de la óptima calidad del agua del SRA, así como la compensación de pérdidas por evaporación, fugas, vaciados por pesca y retrolavados de filtros. El agua nueva es previamente filtrada (10-15 μm) gracias a un filtro de tambor rotativo, calentada y esterilizada (destrucción de bacterias y parásitos) y se introduce normalmente al nivel del tanque de homogeneización.

La cadena de tratamiento de agua nueva es dimensionada en función de la calidad de agua del sitio y del caudal de agua nueva a adicionar en el circuito primario. En la práctica, es conveniente limitar la cantidad de agua nueva utilizada con el fin de reducir los costos de termorregulación.

La utilización de un SRA limita el impacto de la actividad acuícola sobre el medio ambiente. Con estos sistemas, no existen efluentes directos en el medio natural, pues paralelamente se implementa una cadena de tratamiento secundario (decantación de lodos \rightarrow digestión anaerobia del lodo y/o valorización del sobrenadante a través de cultivos agrícolas o de algas).

2.1.2 PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO

El principio es simple: reciclar el agua luego de su paso por los tanques de cultivo con la finalidad de re-otorgarle las características fisicoquímicas óptimas para el cultivo de la especie en cuestión, eliminando agentes contaminantes y gases disueltos. La capacidad de producción del SRA depende de la eficiencia de la cadena de tratamiento; ésta se dimensionada en función del grado de confort deseado para la especie producida.

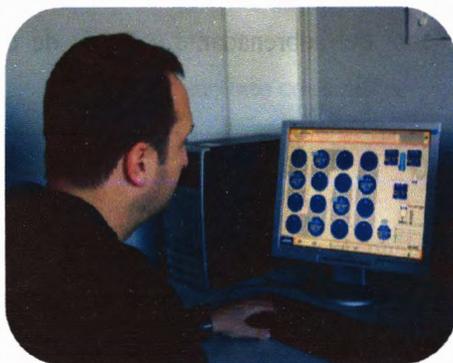
Luego de circular a través de los tanques, el agua es enseguida:

- Colectada en el tanque de homogeneización o en el filtro de tambor rotativo;
- Filtrada físicamente con el fin de eliminar los restos de alimento no consumido y las heces de los animales en cultivo;
- Tratada con ozono (O_3) o esterilizada con radiación UV;
- Tratada biológicamente por filtros bacterianos o biofiltros para eliminar el amoníaco;
- Mezclada con agua nueva (origen: pozo o mar);
- En parte desgasificada y en parte sobre-oxigenada;
- Redistribuida a los tanques de cultivo.

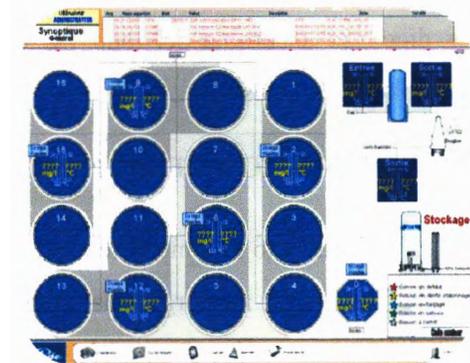
2.1.3 MONITOREO DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Los parámetros de calidad de agua con mayor preponderancia son: la temperatura ($^{\circ}C$), el oxígeno disuelto (O_2 en $mg.L^{-1}$), el nitrógeno total (NH_3/NH_4^+), los nitritos (NO_2^-), el pH, la alcalinidad, el dióxido de carbono (CO_2) y los nitratos (NO_3^-).

En SRAs, un seguimiento regular de los principales parámetros es indispensable. En la práctica, tanto los valores de temperatura, pH, O_2 disuelto y CO_2 pueden ser monitoreados y registrados continuamente (Figura 1). Este sistema de monitoreo se encuentra conectado a un sistema de alarmas -con transmisión telefónica, SMS o enlace a un PC inalámbrico- que brinda órdenes a un equipamiento de oxigenación de seguridad, revisado y controlado regularmente.



(a)



(b)

Figura 1. (a) Monitoreo y control de los parámetros de calidad de agua de un SRA; (b) Interface hombre-máquina del *software* empleado en la estación piscícola del IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia) [Fuente: Alain Vergnet].

2.1.4 NATURALEZA DE LOS EFLUENTES A TRATAR

El alimento de los peces afecta la calidad de agua de los sistemas de cultivo (Figura 2 y Cuadro 1). Los efluentes generados se encuentran vinculados a la actividad metabólica de los peces -respiración y excreción soluble y sólida- y a los residuos de alimento no ingerido. En piscicultura, el flujo y concentración de compuestos contaminantes a la salida de los tanques de cultivo dependen de la especie y estado de crianza (su metabolismo), de la técnica de cultivo (tasa de alimentación) y de la calidad de los alimentos utilizados (composición y elaboración).

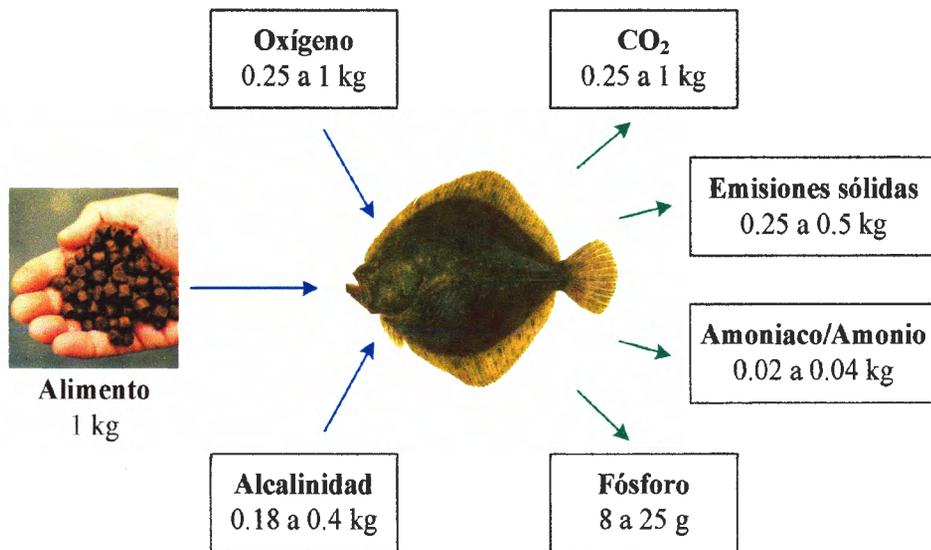


Figura 2. Impacto de la alimentación en la calidad de agua [Fuente: Losordo *et al.*, 1998].

Los principales metabolitos disueltos son el resultado de la excreción, principalmente por las branquias y el riñón:

- El amoníaco y la urea (NH_3 y CON_2H_4) en el caso del nitrógeno – el nitrógeno excretado representa entre el 50 y 70% del nitrógeno ingerido;
- El CO_2 en el caso del carbono – representa aproximadamente 50% del carbono ingerido;
- Los ortofosfatos (PO_4^{3-}) – la excreción de fósforo solo representa el 20% del fósforo ingerido.

Los acuicultores deben cuantificar y calificar sus efluentes. Esta medida permite una optimización del dimensionamiento y de la gestión de los dispositivos de tratamiento primario y secundario del SRA, y así, reducir el impacto ecológico en el medio receptor.

Cuadro 1. Calidad de agua requerida para la producción acuícola de especies de importancia económica e información de sus efluentes [Fuente: J.-P. Blancheton *et al.*, 2003].

Peces de 200-300 g	Salmón (<i>S. salar</i>)	Lubina (<i>D. labrax</i>)	Turbot (<i>P. maxima</i>)
Temperatura (en °C)	10-18	22-26	14-18
Oxígeno disuelto en % de saturación	> 90	> 90	> 90
N(NH ₃) (en mg.L ⁻¹)	< 0.02	< 0.15	< 0.15
CO ₂ (en mg.L ⁻¹)	< 25	< 30	< 30
Índice de conversión (en kg.kg ⁻¹)	1.2	1.5	1
Consumo de O ₂ (en mg.kg ⁻¹ .h ⁻¹)	300-600	200-250	100-150
Excreción de nitrógeno (en mg.kg ⁻¹ .h ⁻¹)	-	250-300	70-120
Excreción de fósforo (en mg.kg ⁻¹ .h ⁻¹)	-	20-25	8-15

2.1.5 LOS TRATAMIENTOS DE AGUA EN UN SRA

Los diferentes tipos de tratamiento de agua en un SRA tienen por objetivo (Figura 3):

- Eliminar los materiales decantados, en suspensión y disueltos;
- Eliminar los microorganismos;
- Regular la temperatura del agua;
- Eliminar el nitrógeno total (N-NH₃/N-NH₄⁺) convirtiéndolos en nitritos y luego en nitratos;
- Eliminar los gases disueltos (N₂ y CO₂);
- Mantener valores óptimos de pH;
- Re-oxigenar el agua.

2.1.6 CONSIDERACIONES BIO-FÍSICAS DE RELEVANCIA EN UN SRA

a. El rol de las bacterias

Durante la crianza, los peces consumen y digieren alimento balanceado. El metabolismo de las proteínas contenidas en este último engendra una excreción nitrogenada vía branquial. El amoníaco no ionizado producido es extremadamente tóxico (su concentración debe ser mantenida por debajo de los 0.05 mg.L⁻¹) para los peces y su proporción dependerá del pH y de la temperatura del agua.

Las bacterias presentes en un SRA consumen cualquier fuente carbonada (residuos de alimento no ingerido y heces), que modifican la calidad de agua, ya sea produciendo amoníaco o incrementando la demanda bioquímica de oxígeno (DBO).

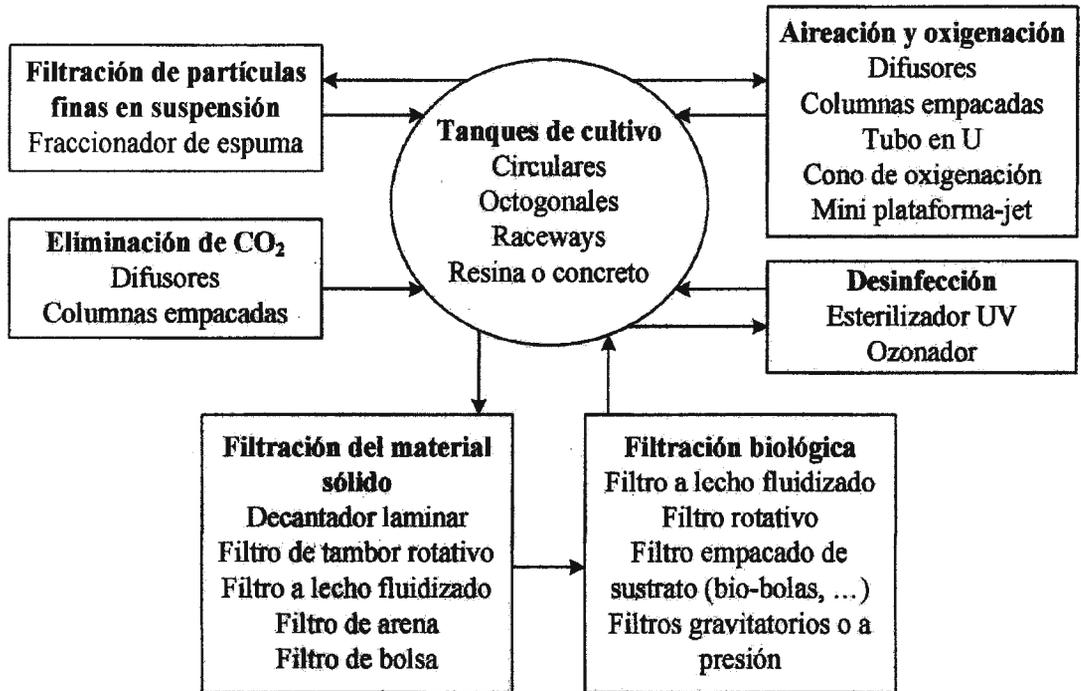


Figura 3. Diferentes equipos de tratamiento de agua empleados en acuicultura [Fuente: Losordo *et al.*, 1998].

En un SRA, el amoníaco es consumido y convertido por bacterias nitrificantes autótrofas: una primera población de bacterias transforma el amoníaco en nitritos (menos tóxicos para los peces) y una segunda población de bacterias transforma los nitritos en nitratos (tóxicos para los peces a muy elevadas concentraciones). Este proceso es conocido como nitrificación y se lleva a cabo en el filtro biológico (biofiltro) del SRA (Figura 4).

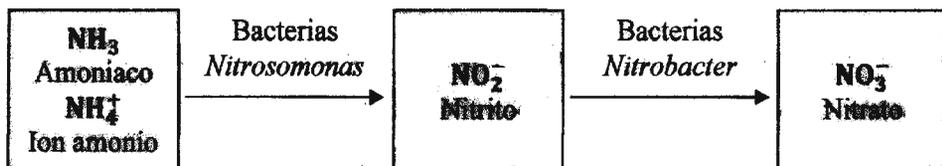
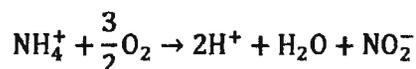
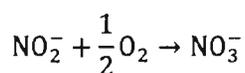


Figura 4. Etapas de la nitrificación biológica [Fuente: Losordo *et al.*, 1998].

Las comunidades bacterianas heterótrofas son normalmente la causa de problemas en los SRAs -consumo de O₂, creación de amoníaco, brote de patologías- pero también son los activadores del sistema por su rol preliminar en la filtración biológica. Una concentración apropiada de oxígeno disuelto es indispensable para que se lleven a cabo las reacciones químicas de la nitrificación:





Por cada gramo de NH_4^+ oxidado en NO_3^- , 4.5 g de oxígeno y 8 g de alcalinidad son consumidos (HCO_3^-) -sean 0.7° TAC-, 2 g de ácidos y 4.5 g de NO_3^- son producidos.

Los nitritos son menos tóxicos que el amoníaco, sin embargo estos bloquean la transferencia de oxígeno efectuada por la hemoglobina de la sangre (consecuencias: reducción de defensas inmunitarias y situación de stress), y deben ser mantenidas a una concentración inferior de 1 mg.L^{-1} continuamente.

En piscicultura los nitratos son considerados no tóxicos a concentraciones inferiores de 200 mg.L^{-1} . Éstos son diluidos y evacuados del sistema durante las operaciones de mantenimiento (retrolavado de filtros) de un SRA.

b. El control de gases disueltos

Es primordial mantener una concentración óptima de oxígeno disuelto en los tanques y en el circuito de agua del SRA. Esta concentración debe cubrir las necesidades de los peces y las bacterias del biofiltro (autótrofas y heterótrofas).

El CO_2 proveniente de la respiración de los peces y bacterias se acumula en el cuerpo de agua, su concentración deberá permanecer por debajo de 20 mg.L^{-1} . Esta acumulación de CO_2 produce una disminución del valor de pH, parámetro que gobierna diversas reacciones químicas en un SRA.

Un exceso de CO_2 puede ser la causa de distintos problemas, como la falta de apetito en los peces, sin embargo, el más común es el aumento de la sensibilidad a enfermedades (estrés), y por consiguiente malformaciones o mortalidad.

En la práctica, se emplea productos sintéticos (carbonatos y bicarbonatos) para tamponar el pH del agua. La masa de bicarbonato adicionado al circuito representa aproximadamente 20% de la cantidad de alimento distribuido por día.

Por lo general, el agua es agitada previa introducción a los tanques de cultivo por intermedio de columnas de desgasificación, colmadas de anillos plásticos, y cuya atmósfera interior es renovada por inyección de aire masiva (*stripping* de CO_2). Este tipo de dispositivo permite incrementar de 0.3 a 0.7 unidades el pH del agua del circuito

principal. Se debe tener en cuenta que valores de pH superiores a 7 reducen la actividad de las bacterias nitrificantes.



Figura 5. Columna de desgasificación a depresión COLDEP[®] asociada a un SRA de la estación de IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia); tecnología patentada por el IFREMER en 2009 [Fuente: propia].

2.1.7 TÉCNICAS Y EQUIPOS DE TRATAMIENTO DE AGUA

a. Eliminación de partículas decantadas, en suspensión y disueltas

Los tanques de cultivo son dimensionados, elegidos y equipados por su capacidad de auto-limpieza. Estos deben facilitar la decantación de materiales sólidos, limitando así su tiempo de residencia y consiguiente lixiviación. La evacuación del tanque puede disponer de un sistema de trampa de partículas (e.g. Eco Trap[™] manufacturado por Aquaoptima[®]) con colectores y separadores de partículas (doble drenaje).

Los tanques de engorde están equipados de un dispositivo (*surface skimmer*) que permite eliminar grasa, espuma y materia orgánica presente en la superficie del agua. El ingreso de agua en los tanques se realiza sobre todo el tirante de agua para facilitar la evacuación de los desechos.

En eclosería o *hatchery*, se tendrá especial cuidado en no crear corrientes de agua o velocidades muy rápidas, pues éstas últimas favorecen la malformación de larvas de peces.

El agua del circuito es canalizada hacia un filtro mecánico encargado de capturar y evacuar los materiales en suspensión. En la práctica, se emplea filtros a tambor rotativo o a

discos Hydrotech[®] (filtración de 20 a 100 μm , caudal de tratamiento de 200 a 400 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ para aguas cargadas hasta 25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de material en suspensión [MES]).

Los filtros de arena a presión o los filtros de bolsa o mangas son reservados a caudales reducidos. Estos sistemas pueden disponer de un sistema de autolimpieza (retrolavado) automatizado programable. Filtros a lecho fluidizado (bolas autolimpiantes) o filtros de correa inclinada son también empleados.

A la salida de los tanques, más del 50% de las partículas sólidas presentes en el agua poseen un diámetro inferior a 30 μm . Un método eficaz para suprimir estos materiales consiste en utilizar fraccionadores de espuma o *protein skimmers* que reducen la turbidez del fluido (Figura 6a).

Su principio de funcionamiento radica en la introducción de micro burbujas de aire, en el fondo de una columna cerrada, que se desplazan a contracorriente del líquido; las partículas comprendidas entre 100 nm y 100 μm pueden adsorberse a la superficie de las burbujas, quedando atrapadas, y ascienden hasta la superficie, formando espuma (mezcla trifásica de agua/aire/partículas) que se separa por rebose o desbordamiento.

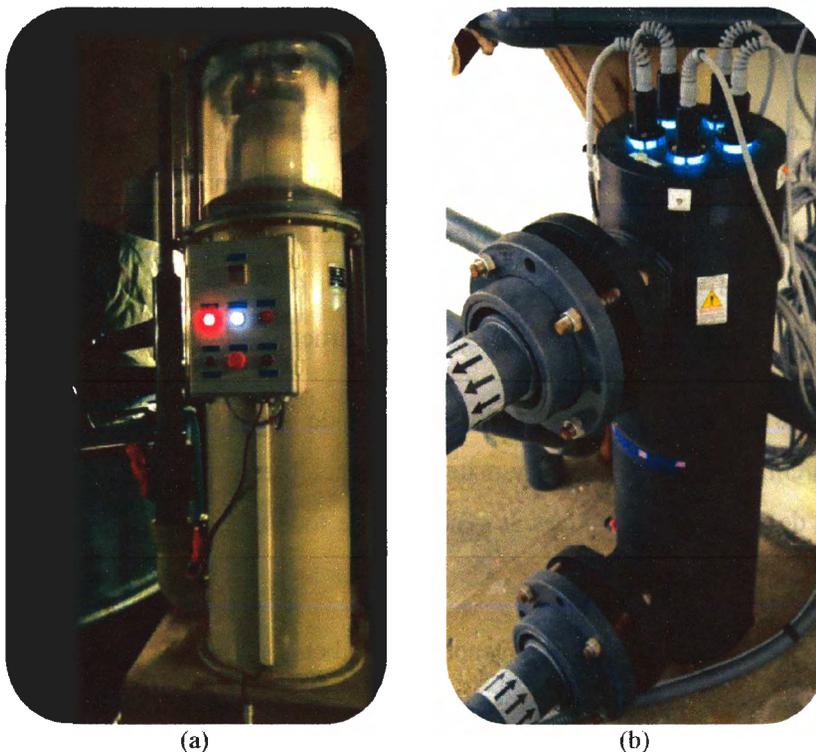


Figura 6. (a) Fraccionador de espuma de la marca Aquaoptima[®] de la ARDA en la isla de La Réunion (Francia) [Fuente: Bertrand Barrut]; (b) Esterilizador UV de la estación IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia) [Fuente: propia].

Esto mejora globalmente la calidad de agua (reduce la turbidez) y limita la irritación branquial de los peces.

Las partículas gruesas (mayores a 80-100 μm) son fácilmente atrapadas por filtración mecánica o separadas por decantación. Un filtro mecánico retiene entre el 50 y 90 % de las partículas producidas por los peces. Las pequeñas partículas son comparables a los materiales al estado coloidal, y su concentración depende del volumen de agua nueva.

La calidad de filtración influye el rendimiento de otros equipos de tratamiento de agua. La concentración en nutrientes y en materia orgánica favorece el desarrollo de algas, bacterias y hongos. Esta acumulación de biomasa contribuye a la obstrucción general del sistema de cultivo (tuberías y filtros) y reduce el caudal circulante. Un vaciado sanitario regular posibilita la limpieza y desinfección de equipos y canalizaciones de agua (mediante cloración y limpiadores a alta presión).

Actualmente, diversos estudios son conducidos para optimizar la cohesión de los desechos sólidos y de esta forma aumentar la cantidad de productos fecales retenidos por los sistemas de filtración mecánicos clásicos. Este adelanto tecnológico permitirá conservar una óptima calidad de agua, favorable para el bienestar del pez, gracias a la eliminación rápida de los desechos del tanque de cultivo.

b. Eliminación de micro-organismos

La desinfección continua del agua por irradiación ultravioleta (UV), es una técnica altamente expandida en acuicultura. Los caudales de tratamiento de las zonas de captación de agua y en el circuito de tratamiento pueden variar entre 1 y 1000 $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (Figura 6b). Ésta no produce ningún efecto sobre los animales cultivados. Para asegurar una esterilización total, antes del retorno a los tanques de cultivo, el esterilizador es instalado entre el filtro mecánico y el biofiltro.

La desinfección al ozono es una solución con alta proyección en acuicultura. El ozono (O_3) es un gas incoloro ligeramente azulado, aromático y tóxico, de rápido y elevado poder germicida. En la práctica, su dosificación no es simple de ejecutar y requiere estudios que describan con precisión su eficiencia, los riesgos a asumir y su posible impacto en los peces.

Se utiliza comúnmente un fraccionador de espuma para poner en contacto el gas con el agua a tratar. Al día de hoy, el progreso técnico en esta área es vertiginoso y presume numerosas aplicaciones futuras en acuicultura.

c. Eliminación del nitrógeno total ($N-NH_3/N-NH_4^+$)

En la práctica, los biofiltros de un SRA son activados a 20°C alrededor de un mes y medio antes de la introducción de los peces. La activación se efectúa en fase estática asegurando la circulación de agua por intermedio de una bomba sumergible. En ocasiones, se adiciona un activador (inoculo ABIL[®] - Avécom), sin embargo el método clásico reside en aportar con al menos un mes de antelación NH_4Cl a una concentración de 4 mg.L⁻¹. La activación/maduración se da por finalizada cuando el tenor en NO_2^- es inferior a 1 mg.L⁻¹ y que la concentración en NO_3^- aumenta progresivamente.

Las condiciones óptimas de nitrificación biológica son las siguientes: una temperatura de agua elevada, una superficie de contacto importante entre el sustrato de filtración y el fluido, la presencia de amoníaco y nitritos, de oxígeno (5 a 7 mg.L⁻¹), un pH comprendido entre 6.8 a 7.5 y una velocidad de paso reducida (inferior a 40 m.h⁻¹).

La eficiencia del biofiltro se controla realizando lecturas de concentración de NNH_4^+ en el agua su ingreso y salida durante la fase de activación o en curso de funcionamiento. De esta forma, se evalúa el crecimiento y la cinética de oxidación del film bacteriano (biofilm).

Existen numerosos modelos de biofiltros y sustratos de filtración. Los biofiltros difieren por el tipo de sustrato utilizado, la energía requerida para su funcionamiento, el mantenimiento y el costo. Los principales modelos son: a lecho sumergido, rotativo, a escurrimiento, a lecho fluidizado (*fluidized bed*) o sometidos a presión.

Para un funcionamiento óptimo del biofiltro, en términos de gestión de los animales (stock), es conveniente restringir las variaciones de biomasa en el circuito, respetando un plan de producción preciso. Esta gestión, en teoría simple con la utilización de programas informáticos especializados (software), es normalmente complicada en la práctica al presentarse retrasos en las previsiones de crecimiento, riesgos e incertidumbre del mercado, problemas logísticos, etc.

El dimensionamiento del biofiltro toma en cuenta la densidad del cultivo, el aporte de agua nueva introducida en el circuito y el caudal de recirculación. Existe una correlación entre el volumen de sustrato utilizado, la velocidad de tránsito del agua a través del filtro, el rendimiento (eliminación) y la excreción nitrogenada de la biomasa en stock. Es necesario determinar igualmente, el tipo de sustrato a utilizar y el modo de funcionamiento hidráulico (presión, ascendente o descendente).

Se preconiza la realización de lavados (al aire o por inversión del sentido de circulación del agua, retrolavados) semanales o cotidianos de los biofiltros. La periodicidad dependerá de la cantidad de biomasa contenida en el SRA.

Como ejemplo concreto, la eliminación promedio de las bio-esferas (sustrato plástico de filtración biológica comercializado en cantidades industriales) está estimada a 2 g.h^{-1} de nitrógeno amoniacal. m^{-3} de biosferas. En crianza intensiva, 1 kg de turbot produce 120 mg de N-NH_4^+ por día. Para 20 toneladas de biomasa en stock en un SRA (sean 2400 g de N-NH_4^+ producidos por día, sea 100 g.h^{-1} , el volumen de sustrato necesario será de 50 m^3 .

d. Re oxigenación del agua

En los SRA, la oxigenación de agua debe cubrir las necesidades de los peces, 150 a $500 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ según las especies, pero también el consumo de bacterias que colonizan el biofiltro. Siendo las densidades acostumbradas elevadas (50 a 100 kg.m^{-3}), la oxigenación es indispensable. En práctica, la sobresaturación no excede los 20 mg.L^{-1} .

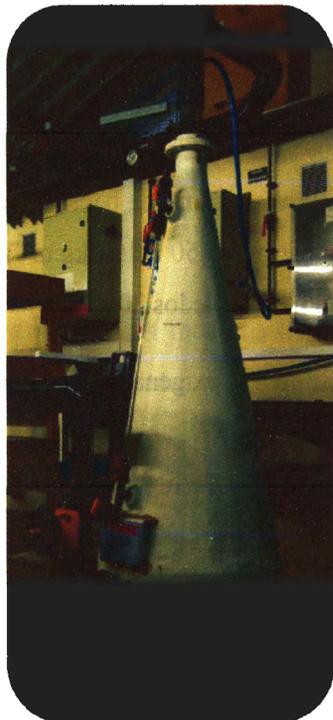
Existe numerosas herramientas que permiten reoxigenar el agua en un SRA. Los diferentes dispositivos de aireación (aireadores de superficie o sumergidos, los tubos en U o las plataformas-jet) presentan buenos rendimientos de disolución de oxígeno (60 a 90%) y permiten tratar grandes caudales, sin embargo su funcionamiento mixto al aire acentúa los riesgos de contaminación de agua en gases tóxicos (nitrógeno o argón).

Algunos inconvenientes de los aireadores radican en su instalación. En el caso de las plataformas-jet, se requiere una gran superficie, y en lo que respecta a los aireadores de superficie, su funcionamiento puede crear perturbaciones en los tanques de cultivo.

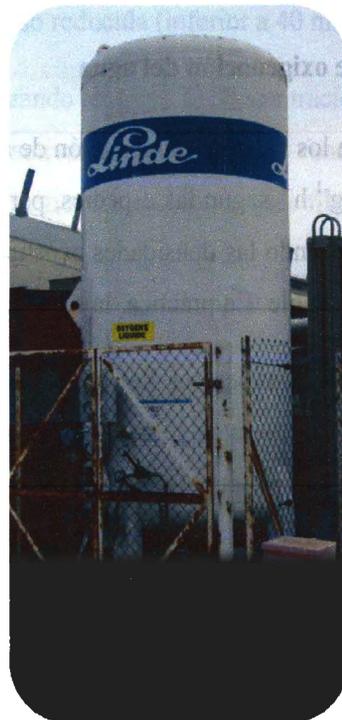
El dispositivo más utilizado es el oxigenador a presión (sistema cónico colmado a 2/3 por la parte superior y mantenido a presión por una bomba independiente). Incluso si no permite tratar grandes caudales (30 a $180 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$), es sencillo de instalar (Figura 7a).

El cono recibe una inyección de O_2 por la parte superior (cielo de oxígeno) y su perfil le confiere la posibilidad de generar un tiempo de contacto prolongado entre el agua y el gas; por consiguiente, una disolución importante (hasta 500% de saturación). Instalado en un circuito independiente del circuito de agua reciclada, este tipo de oxigenador permite alcanzar concentraciones muy elevadas en un reducido volumen de agua. El agua sobreoxigenada es inmediatamente mezclada al agua no tratada del tanque de cultivo (2 alimentaciones de agua por tanque).

En materia de dimensionamiento, se determinará el tamaño y el número de equipos a instalar en función del consumo de los peces (formulado según la especie, temperatura y peso promedio). El resultado obtenido será multiplicado por dos para tomar en consideración el consumo de bacterias.



(a)



(b)

Figura 7. Dispositivos de disolución y almacenamiento de O_2 de la estación IFREMER de Palavas-les-Flôts (Francia): (a) Cono de oxigenación de $180 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (2 bares), 3 a 5 kg de O_2 transferidos al agua de mar a $15 \text{ }^\circ\text{C}$, $35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de O_2 a la salida [Fuente: Cyrille Przybila]; (b) Almacenamiento de O_2 líquido [Fuente: propia].

En todos los casos, se evitará inyectar oxígeno puro directamente en los tanques, pues esta técnica limita la sedimentación de MES y no es eficaz en términos de oxigenación.

2.1.8 OTROS EQUIPOS Y CONSIDERACIONES TÉCNICAS

Los fluidos (agua nueva, agua reciclada, aire, oxígeno, ozono...) circulan comúnmente en redes de PVC. Estas canalizaciones son identificadas y separadas. La utilización de zonas de PVC transparente permite un control de la circulación y del grado de ensuciamiento y atascamiento de los circuitos. Las redes eléctricas se encuentran aisladas y responden a las restricciones y directivas reglamentarias en materia de instalación industrial.

Al día de hoy, los proveedores de equipos de SRA proponen soluciones completas que garantizan la seguridad de las instalaciones gracias al registro, la puesta bajo control de alarmas y la automatización de diversas operaciones: niveles y presión de agua, termorregulación, encendido de luces y bombas, retro-lavado de filtros, etc.

No obstante, en la práctica de un ciclo de producción acuícola, y de forma general, no es tan fácil mantener el correcto funcionamiento de un SRA durante un largo periodo. Las limitaciones y problemas pueden llegar a ser numerosos: mal funcionamiento de equipos, averías, mala calidad de agua, estrés, enfermedades, y el fenómeno de sabor a tierra del filete del pez. Adicionalmente, el sistema es absolutamente dependiente de la energía eléctrica (220-380V trifásico). Es recomendable de definir de forma adecuada los requerimientos durante el proyecto y asegurar las instalaciones con un grupo electrógeno.

Los problema de corrosión y desgaste de equipos constituidos de motores eléctricos (bombas, filtros rotativos) son más severos en SRAs de agua de mar.

Una avería o disfunción del sistema, que genere un corte de la alimentación en agua a los tanques, provoca una caída brutal y súbita de la tasa de oxígeno disuelto en el agua, que requiere una intervención muy rápida (proximidad de equipos de intervención durante las horas de noche).

Las bombas son elementos importantes en el SRA, pues aseguran la circulación de agua del sistema, a través de los distintos equipos de tratamiento. Existen diversos modelos y proveedores. Normalmente, se emplea bombas centrifugas anticorrosión en SRA marinos

que producen una presión suficiente para un paso óptimo a través de los sistemas de filtración biológica.

En materia de concepción, las redes hidráulicas (PVC) de SRAs deben ser: fáciles de montar y desmontar (vaciado/secado sanitario), y constituidos de equipos de tratamiento seleccionados en función de su fiabilidad, eficiencia, disponibilidad y costo. Sin embargo, en los SRAs de engorde intensivo, el vaciado y secado sanitario regular y completo es difícilmente realizable, principalmente cuando el periodo de crianza es prolongado.

La aparición de stress y enfermedades en los animales es limitada gracias a un control de la intensidad sonora y luminosa, a la limitación de variaciones del medio, a medidas estrictas de profilaxis sanitaria (higiene de crianza, desinfección de manos, limitación de entrada, equipos separados) y a la introducción de peces de calidad en el circuito (peces calibrados, indemnes, vacunados y puestos en cuarentena previa su introducción en el circuito principal).

Para resumir, el Cuadro 2, presenta las características zootécnicas principales de SRAs para el engorde de dos especies de peces marinos (granja de 100 toneladas por año):

Cuadro 2. Características zootécnicas de SRAs para el engorde de 2 especies de peces marinos [Fuente: J.-P. Blancheton *et al.*, 2003].

Características – Datos	Lubina (<i>D. labrax</i>)	Turbot (<i>P. maxima</i>)
Filtración mecánica	Tambor rotativo	Tambor rotativo
Biofiltro (m ³)	85	60-100
Sustrato de biofiltración	Mineral	Mineral y plástico
Productividad (kg.m ⁻² .año ⁻¹)	200	70
Stock promedio (kg.m ⁻²)	100	50
Oxígeno (kg.kg ⁻¹ de alimento)	1.5	1.2
Agua nueva (m ³ .kg ⁻¹ de alimento)	0.5-0.9	1-4
Energía (kWh.kg ⁻¹ de alimento)	6.5	6-7
Mano de obra (T.año ⁻¹ .persona ⁻¹)	95	50
Θ °C de cultivo	22-26	14-18
Factor de conversión (kg.kg ⁻¹ de alimento)	1.5	1
Consumo de O ₂ (mg.kg ⁻¹ B.h ⁻¹)	200-250	100-150
Excreción de nitrógeno (mg.kg ⁻¹ B.d ⁻¹)	200-300	70-120
Excreción de fósforo (mg.kg ⁻¹ B.d ⁻¹)	20-25	8-15

2.1.9 ESPECIFICACIONES EN EL DIMENSIONAMIENTO DE UN SRA

En el marco de un proyecto de instalación, las especificaciones del dimensionamiento (modelo, talla, elección de equipos) de un SRA deben tomar en cuenta:

- La capacidad de inversión;
- El nivel de protección sanitario deseado (gestión de riesgos);
- El plan de producción de la granja (número de lotes, clases de edades presentes en los circuitos);
- El stock máximo o capacidad de carga (*carrying capacity*) predefinido (niveles de producción e intensificación);
- El número de tanques y el volumen en agua total del sistema;
- La calidad y cantidad máxima de alimento empleado: un índice de conversión promedio de 1.5 para una producción anual de 50000 kg genera una distribución cotidiana de 205 kg de alimento;
- La cantidad de desechos contaminantes a tratar (niveles de excreción y consumo de la especie: la capacidad de producción del sistema es proporcional a la capacidad de asimilación de desechos);
- La calidad de agua requerida;
- La disponibilidad de productos consumibles y servicios (O₂ líquido, mantenimiento, servicios industriales,...);
- El tamaño y los costos de construcción y de explotación de edificaciones;
- Los gastos energéticos;
- Las autorizaciones de explotación;
- El reclutamiento de personal calificado y experimentado.

2.2 DESNITRIFICACIÓN

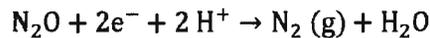
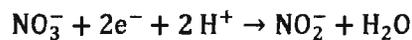
2.2.1 BASES TEÓRICAS

La desnitrificación biológica es la reducción microbiana de nitrato (NO₃⁻) o nitrito (NO₂⁻) en nitrógeno gaseoso (N₂) por bacterias aerobias facultativas heterótrofas y autótrofas, y algunos hongos ampliamente encontrados en el medio ambiente. Un amplio rango de bacterias puede emplear nitrato u oxígeno para oxidar material orgánico, cambiando fácilmente de régimen respiratorio (respiración de oxígeno y respiración de nitrógeno), en función de la concentración de oxígeno en el medio. Los desnitrificadores son comunes entre los heterótrofos, Gram-negativos *Proteobacteria*, como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus* y *Thiobacillus*. Algunas bacterias Gram-positvas, incluyendo *Bacillus*, pueden desnitrificar (Rittman y McCarty, 2001).

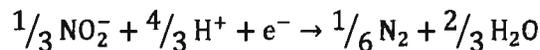
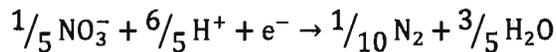
Además de los organismos heterótrofos, muchos microorganismos autótrofos son capaces de desnitrificar. Estos organismos, que emplean sulfuro inorgánico reducido y compuestos de hierro o hidrógeno como su fuente donadora de electrones, obtienen carbono de una fuente inorgánica y son con frecuencia dominantes en ambientes orgánicamente pobres donde tales donadores se encuentran presentes.

En condiciones de anoxia, los nitratos y nitritos remplazan al oxígeno como aceptor de electrones para la oxidación de una extensa variedad de donadores de electrones orgánicos o inorgánicos. El término anóxico define las condiciones óptimas para la desnitrificación, baja concentración en oxígeno y elevada en nitrato.

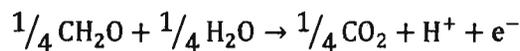
La desnitrificación ocurre de forma gradual, en la cual el nitrato es secuencialmente reducido en nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) y finalmente N_2 gaseoso.



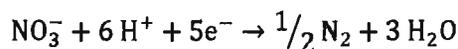
Las ecuaciones de las semi-reacciones o reacciones parciales para la desnitrificación (sin tomar en cuenta los requerimientos de carbono para el crecimiento bacteriano y su mantenimiento) de nitrato y de nitrito como aceptores de electrones son las siguientes (EPA, 1993):



El carbono orgánico reducido, que es oxidado durante la desnitrificación heterotrófica, puede ser generalmente presentado así:



La transformación completa genera:



Este proceso puede ser mediado óptimamente por bacterias desnitrificadoras sometidas a condiciones específicas, tales como: (1) bajo potencial REDOX, (2) bajos niveles de oxígeno, (3) disponibilidad de una fuente de carbono orgánica aprovechada como donador de electrones y carbono, (4) una fuente de nitrato como aceptor de electrones, (5) un rango óptimo de pH comprendido entre 7-8.5 y (6) un rango óptimo de temperatura comprendido entre 25-32°C. Si el sistema no es controlado correctamente, bajas condiciones REDOX pueden desarrollarse, lo que fomenta la producción de sulfuro de hidrógeno tóxico. Los límites inferiores para concentración de N-NO_3^- varían entre 10 y 50 mg.L^{-1} antes que el sulfuro de hidrógeno pueda convertirse en un problema.

a. **Desnitrificación heterótrofa**

Se ha realizado cuantiosa investigación sobre la desnitrificación en la industria del tratamiento de aguas residuales (ITAR), y en menor grado en SRAs. A pesar de que existen numerosas fuentes donadoras de electrones orgánicas, pocos sustratos han sido extensamente estudiados y empleados en la ITAR.

Estas fuentes donadoras de electrones exógenas usadas comúnmente, como el metanol, acetato, glucosa y etanol, pueden ser adquiridas en cantidades importantes (elevada disponibilidad) y a precios módicos. Es en virtud de estas características que el metanol (CH_3OH) ha sido el compuesto más utilizado en reactores de desnitrificación.

Las desventajas del uso de metanol son las cuestiones de seguridad asociadas con el transporte, manipuleo y almacenamiento, pues éste es considerado un compuesto reactivo y tóxico. En acuicultura, diversos potenciales donadores de electrones han sido estudiados y evaluados por su rendimiento.

La ecuación estequiométrica de la desnitrificación, empleando metanol como donador exógeno de electrones es la siguiente:

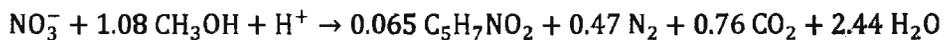
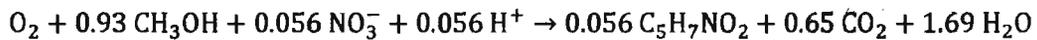


La ecuación sugiere que son requeridos 2.47 g de CH_3OH para reducir 1 g de N-NO_3^- . Los ratios experimentales metanol/nitrato encontrados en la literatura fluctúan entre 2.5 y 3 g de CH_3OH por g de N-NO_3^- . Adicionalmente, por cada g de N-NO_3^- eliminado, 0.45 g de VSS es generado, y 3.57 g de alcalinidad como CaCO_3 o un equivalente de alcalinidad por g de N-NO_3^- desnitrificado.

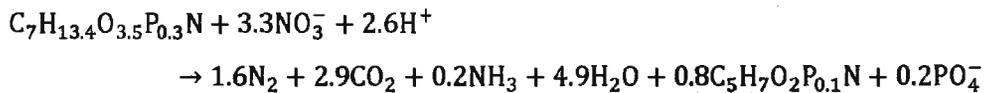
Es necesario contar con sofisticados y costosos sistemas de control computarizados para regular las dosis de carbono correctamente y prevenir una sobredosis (Lee *et al.*, 2000). Un exceso de carbono en ausencia de nitrato en un ambiente anaeróbico puede reducir los valores de potencial REDOX, promoviendo así la reducción de sulfatos y la producción de sulfuros -H₂S- tóxicos (Whitson *et al.*, 1993).

Además de la reacción estequiométrica de la desnitrificación, la estequiometría para la eliminación de oxígeno disuelto fue también reportada por Hamlin *et al.*, 2008, ya que en algunos casos, la remoción de oxígeno es realizada gracias a la adición de la fuente de carbono.

Las ecuaciones estequiométricas de desnitrificación y reducción de oxígeno empleando metanol son las siguientes:



Finalmente, la digestión de lodos orgánicos y heces de SRAs conforman una excelente fuente de carbono endógeno para las bacterias desnitrificantes, mediante la siguiente relación estequiométrica:



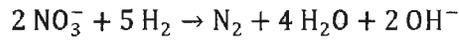
b. Desnitrificación autótrofa

Fuentes donadoras de electrones inorgánicas son también utilizadas en procesos de desnitrificación autótrofa y en la actualidad vienen ganando popularidad, especialmente en acuarios marinos públicos.

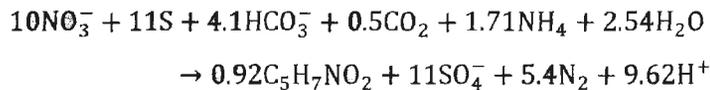
El gas hidrógeno es un excelente donador de electrones con un costo relativamente bajo comparado con otros compuestos orgánicos que producen mayor cantidad de biomasa como resultado del crecimiento heterotrófico.

La principal desventaja del hidrógeno ha sido la falta de un sistema de transferencia eficiente y seguro. Recientes avances en dispositivos de disolución de membranas superan el riesgo de explosión y han convertido al gas de hidrógeno en una alternativa viable

(Rittman y McCarty, 2001). La relación estequiométrica para emplear el gas de hidrógeno para eliminar el N-NO_3^- es:



Es popular el uso de azufre reducido en su forma elemental para llevar a cabo la desnitrificación autótrofa en acuarios públicos comerciales. El azufre es oxidado a SO_4^- y es suministrado en una matriz consistente o perdigón que incluye una base sólida como CaCO_3 . La base es agregada puesto que durante el proceso de oxidación un ácido fuerte es generado, previniendo así modificaciones bruscas de pH. La reacción estequiométrica que gobierna la eliminación del N-NO_3^- empleando azufre elemental es:



2.2.2 PROCESOS UNITARIOS DE DESNITRIFICACIÓN

Muchos de los procesos de tratamiento empleados en acuicultura son adaptaciones de operaciones unitarias utilizadas en la ITAR. A través de los años, éstos se han ido modificando para alcanzar los más altos estándares de calidad de agua en acuicultura (reducción de la DBO y concentraciones de nitrógeno amoniacal), y para que resulten lo más rentables posible.

Estos procedimientos aplicados en SRAs incluyen, por ejemplo, el uso de tanques de sedimentación y filtros de micro-barrera para la captura de sólidos, y filtros de goteo, RBCs (*rotating biological contactors*) o contactores biológicos rotatorios y biofiltros de lecho fluidizado (*fluidized bed bioreactors*) para la nitrificación (Figura 8). Por ende, es conveniente examinar las tecnologías de desnitrificación empleadas en instalaciones de tratamiento de aguas residuales de última generación previa adaptación a un SRA.

En los últimos 10 años, se ha incrementado el rigor en la legislación en cuanto a la eliminación de nitrógeno de los efluentes de la ITAR. Por esta razón, diversas alternativas de tratamiento se han venido desarrollando, basadas en tecnologías de lodos suspendidos, el proceso de desnitrificación y recientemente bioreactores de lecho fijo.

En la ITAR, se hace distinción entre los dos tipos de desnitrificación heterótrofa aplicadas: (1) la pre-desnitrificación, emplea el carbono endógeno liberado durante la

digestión de los materiales orgánicos del efluente como fuente de donadora de electrones; mientras que (2) los sistemas de post-desnitrificación (también denominados de tratamiento terciario en la ITAR) requieren la adición de un donador de electrones exógeno.

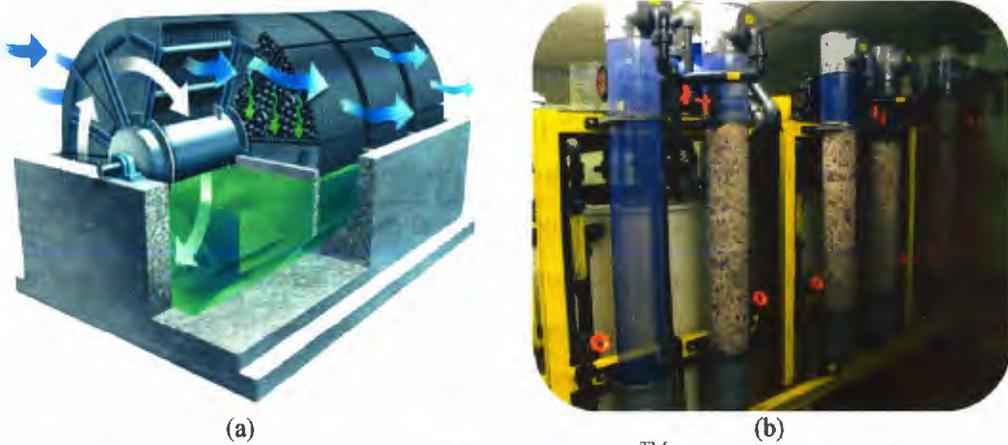


Figura 8. (a) Diseño funcional de un RBC (EnviroDisc™); (b) Pilotos de biofiltros de lecho fluidizado de la estación IFREMER de Palavas-les-Flots (Francia) [Fuente: propia].

En un SRA, existen tres flujos de residuos susceptibles de ser empleados como afluentes o de abastecer una unidad de desnitrificación:

1. La descarga de la canalización central de los tanques de crianza, portadora y concentrada de sólidos en suspensión, podría ser tratada en un sistema de tratamiento de dos fases: una primera etapa de pre-desnitrificación (anóxica) empleando los desechos sólidos de los peces como fuente donadora de electrones, seguida de una etapa de nitrificación aeróbica de la cual se reciclaría agua rica en nitrato enviada de vuelta a la primera etapa.
2. El flujo de retorno a los tanques de crianza podría ser tratado mediante un proceso de post-desnitrificación, empleando una fuente de carbono externa como el nuevo derivado agrícola MicroC™ o polihidroxialcanoatos (PHAs) como donador de electrones, seguido de una pequeña fase de aireación antes de retornar al tanque de producción. Los PHAs son una familia de polímeros bioplásticos producidos a partir de la fermentación de azúcar.
3. Dependiendo de las obligaciones medioambientales a respetar, los lodos provenientes de los filtros de tambor rotatorio o tanques de sedimentación, podrían igualmente requerir un tratamiento final para remover el nitrato acumulado antes de su descarga. Un sistema de pre-desnitrificación de una etapa permitiría cumplir de forma eficiente con este requerimiento.

2.2.3 FACTORES QUE CONTROLAN LA DESNITRIFICACIÓN

Al considerar los diversos factores que controlan la desnitrificación, es importante tomar en cuenta que la reducción de nitrato a dinitrógeno se desarrolla vía productos intermediarios, entre los cuales figura el nitrito, un compuesto extremadamente tóxico para animales acuáticos. En SRAs, es necesario identificar no solo los factores que inhiben o fomentan la desnitrificación, sino también aquellos que originan la acumulación de nitrito intermediario.

a. Oxígeno

Las bacterias desnitrificantes y las poblaciones microbianas han construido e integrado sistemas de control que aseguran que las formas más eficientes de generación de energía sean utilizadas (EPA, 1993). En el caso de bacterias desnitrificantes, el oxígeno disuelto es la elección preferencial sobre el nitrato o nitrito.

Bajo condiciones aeróbicas, no se prevé que la desnitrificación se lleve a cabo. Sin embargo, en SRAs, así como también en otros sistemas de tratamiento de agua, la eliminación de nitrato en ambientes aparentemente aeróbicos, como filtros de nitrificación, es común. La remoción de nitrato observado bajo estas condiciones es atribuida a la heterogeneidad del ambiente.

La acumulación de materia orgánica en ambientes aerobios puede conducir a condiciones de anoxia sobre la capa orgánica o *biofilm*. Esto provee una situación favorable para la proliferación y actividad de los desnitrificadores. Por otra parte, cortos periodos anaeróbicos de zonas normalmente aeróbicas puede provocar pérdidas importantes de nitrato. Esto no es sorprendente si consideramos que los desnitrificadores forman una parte intrínseca de las comunidades microbianas desarrolladas bajo condiciones aeróbicas.

b. pH

En general, la desnitrificación es mucho menos sensible al pH que la nitrificación (EPA, 1993). La desnitrificación puede ocurrir a través de un amplio rango de valores de pH, con óptimos comprendidos entre 7 y 8. Algunas observaciones sugieren que las tasas de desnitrificación disminuyen por encima de 8 y por debajo de 6.

En algunos casos, en donde altas concentraciones de nitrato deben ser eliminadas, la producción resultante de alcalinidad puede incrementar el pH del medio. Modificaciones en los valores de pH pueden originar la acumulación de productos intermediarios como el NO_2^- , NO y N_2O .

c. Temperatura

Debido a la gran versatilidad de los desnitrificadores, existe un amplio rango de temperaturas en el cual la desnitrificación se lleva a cabo. El impacto de la temperatura en sistemas biológicos es con frecuencia descrito por la ecuación de Arrhenius:

$$Q_T = Q_{20}\theta^{(T-20)}$$

Donde: Q_T = tasa de desnitrificación a temperatura T (°C),
 Q_{20} = tasa de desnitrificación a 20°C,
 Θ = constante dependiente de la temperatura simplificada de Arrhenius.

Entre de 10 y 30°C, los coeficientes de actividad térmica generalmente disminuyen en el rango de 1.08 y 1.20, y los valores correspondientes a Q_{10} en el rango de 2 a 3.

A pesar de la utilidad de la función presentada previamente para la modelización de la desnitrificación, ésta se encuentra limitada a un rango de temperaturas definidas y el valor de Θ es a menudo específico al lugar de ensayo (EPA, 1993).

d. Salinidad

Basado en algunos estudios realizados, no existe ningún consenso claro sobre el efecto de la salinidad en la desnitrificación (Glass y Silverstein, 1999).

No han sido encontradas diferencias significativas en tasas de desnitrificación entre SRA de agua dulce y marinos por van Rijn *et al.* (2006). La adaptación de desnitrificadores de agua dulce a agua de mar fue examinada por Park *et al.* (2001), quienes encontraron que una acumulación temporaria de nitrito ocurría durante el proceso de aclimatación. Luego de la finalización de este periodo, no se observaron diferencias significativas en las tasas de desnitrificación entre ambientes de agua dulce y marinos.

e. **Inhibidores**

Los desnitrificadores son mucho menos sensibles a compuestos inhibidores que los nitrificadores (EPA, 1993). En general, podría esperarse que los inhibidores como etanol o fenol tengan un grado de impacto similar sobre la desnitrificación y la respiración aeróbica heterotrófica. Además, los nitrificadores en un sistema necesitan tiempo para adaptarse a los bajos niveles de inhibidores que son empleados para respaldar el proceso de desnitrificación.

Muchas bacterias y sistemas microbianos poseen la habilidad de aclimatarse a altos niveles de compuestos inhibidores, no obstante, éstos deberán ser usados cautelosamente y de forma discontinua o reducida si alguna respuesta inhibitoria es observada.

f. **Fuente de carbono**

Los desnitrificadores heterotróficos obtienen los electrones y protones requeridos para la reducción de nitrato en nitrógeno gaseoso de compuestos de carbono orgánicos. Casi todos los compuestos que son degradados con oxígeno como aceptor de electrones servirán también como fuente donadora de electrones en presencia de nitratos. Como resultado, la lista de compuestos orgánicos susceptibles de ser utilizados como sustrato orgánico para la desnitrificación es extensa. Estos compuestos incluyen carbohidratos, alcoholes orgánicos como el metanol o etanol, aminoácidos, ácido acético, ácidos grasos, etc.

El ratio C/N requerido para una completa reducción de nitrato a dinitrógeno a través de los desnitrificadores depende de la naturaleza de la fuente de carbono y de las especies de bacteria en cuestión. Para las fuentes de carbono orgánico más accesibles en el mercado, una reducción completa del nitrato es alcanzada con ratios de $g\ COD/g\ NO_3^-$ comprendidos entre 3 y 6.

Una limitación de carbono resultará en la acumulación de productos intermedios de la desnitrificación como el NO_2^- y el N_2O , mientras un exceso de carbono promoverá la reducción disimilativa de nitrato a amonio (Tiedje, 1990). El tipo de carbono también afecta el nivel de acumulación de nitrito en reactores de desnitrificación (McCarthy *et al.*, 1969). Algunas fuentes de carbono pueden conllevar al enriquecimiento específico de bacterias que acumulan nitritos, tal cual fue documentado en un estudio de reactores de desnitrificación en donde la adición de sustratos fermentables fomentaron el crecimiento de

este tipo de bacterias. (Wilderer *et al.*, 1987). Un periodo temporal de inanición de carbono conlleva a la acumulación de nitritos en bacterias desnitrificantes con nitrato reductasas constitutivas y nitrito reductasas inducibles. Una competición entre nitrato y nitrito reductasas por donadores de electrones comunes es un factor adicional causante de una acumulación de nitritos por algunos desnitrificadores.

Fuentes potenciales de carbono son los polihidroxialcanoatos (PHAs). PHAs son una familia de polímeros bioplásticos producidos a partir de la fermentación de azúcar. La biodegradación de PHAs en presencia de nutrientes libera carbono orgánico, lo que los convierte en un sustrato ideal para un reactor de desnitrificación pasivo y de auto-regulación.

Los PHAs ofrecen un mantenimiento reducido, un método rentable para alcanzar la desnitrificación, ya que actúan al mismo tiempo como fuente de carbono orgánica y sustrato de fijación para las bacterias desnitrificantes (Ebeling y Drennan, 2006). Esto suprime la necesidad de sistemas de control sofisticados y el manejo de químicos peligrosos requeridos para los métodos de tratamiento convencionales (Boley *et al.*, 2000).

Otra alternativa de fuente de carbono para desnitrificación biológica es MicroCTM, un producto químico de tratamiento de aguas residuales patentado y desarrollado por *Environmental Operating Solutions* y diseñado específicamente como viable, no inflamable y donador de electrones derivado de la agricultura. Mientras este candidato aún no ha sido probado en SRAs, se ha demostrado que MicroCTM puede sostener la desnitrificación eficientemente y mostró una ligera mejor performance en comparación al metanol, especialmente al ser utilizado en un proceso de post-desnitrificación y a bajas temperaturas.

g. Luz

En un estudio focalizado en una bacteria desnitrificante aislada de un reactor de lecho fluidizado de desnitrificación de un SRA, la exposición de la luz produjo una acumulación de nitrito. Ha sido demostrado que a intensidades de luz tan bajas como el 5% de la intensidad solar total, la acumulación de nitrito es el resultado de una inhibición de los citocromos involucrados en la reducción de nitrito en esta bacteria (Barak *et al.*, 1998).

h. Nitrato

La reducción de nitrato sigue la cinética clásica de Michaelis-Menten con respecto a la concentración en nitratos del medio. Puesto que los valores de afinidad de nitrato para los desnitrificadores se encuentran en un rango de concentración (μmolar), la eliminación de nitrato en la mayoría de ambientes, incluyendo SRA, pueden ser percibidos como una reacción de orden cero (velocidad de reacción constante).

2.2.4 EFECTO DE LA DESNITRIFICACIÓN EN LA ALCALINIDAD

La estabilización de la capacidad buffer del agua de cultivo, a través de la desnitrificación, es considerada un factor adicional que favorece el empleo de reactores de desnitrificación en SRAs. La cantidad de ácido requerido para titular las bases en el agua es una medida de la alcalinidad del agua. Una reacción química en donde ácido es producido disminuirá la alcalinidad del agua, por el contrario, lo opuesto se manifiesta con una reacción en la que el ácido es consumido o iones hidroxilo son producidos.

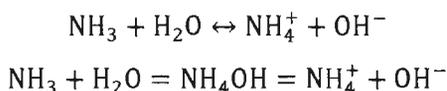
Weihrauch *et al.* (2009) suministra una revisión de literatura que involucra la excreción de amoníaco por peces y crustáceos acuáticos. Sin embargo, no totalmente concluyente, ellos concluyen que la forma dominante excretada por los peces es NH_3 en oposición al amonio, NH_4^+ .

Recientes investigaciones de Timmons y Ebeling (*manuscrito en preparación*) verificaron gracias a medidas de pérdida de alcalinidad que los peces excretan amoníaco principalmente como NH_3 , lo que significa que la combinación de la excreción de amoníaco y la nitrificación consumirán de forma neta aproximadamente una unidad de alcalinidad (1 equivalente por mol de amonio excretado), y no 2 unidades como ha sido previamente reportado en muchos textos.

El proceso de desnitrificación produce una unidad de alcalinidad por mol de nitrato desnitrificado, lo que significa que el proceso total del sistema de alcalinidad permanecerá invariable. Este es un punto muy importante de la estabilidad del sistema en términos de calidad de agua en un SRA.

Como el amoníaco puede reaccionar con H^+ , cada mol de amoníaco excretado por los peces aumenta la alcalinidad de 1 equivalente (eq). En el rango normal de pH de sistemas acuícolas, el amoníaco es protonado a NH_4^+ al entrar en contacto con el agua.

Se puede observar en las siguientes ecuaciones que la alcalinidad, perdida por la conversión de NH_3 en NH_4^+ , es recapturada con la formación de OH^- , un ion que también reacciona con H^+ .



(Aumento de alcalinidad = 1 eq de alcalinidad por mol excretada de NH_3)

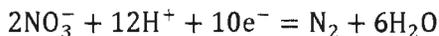
Durante la nitrificación de amonio (NH_4^+), la alcalinidad disminuye 7.14 g de CaCO_3 (2 eq) por cada g de amonio oxidado a nitrato de acuerdo a la siguiente reacción estequiométrica simplificada:



(Pérdida de alcalinidad = 2 eq de alcalinidad por mol de NH_4^+ o 7.14 mg $\text{CaCO}_3/\text{mg TAN}$)

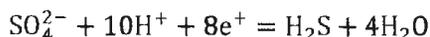
En consecuencia, la pérdida de alcalinidad a través de la excreción de NH_3 y la consiguiente nitrificación es 1 eq por mol de NH_3 excretado por los peces. Esta pérdida de alcalinidad es compensada cuando además de reactores de nitrificación, la desnitrificación es empleada como una fase extra de tratamiento de agua.

La desnitrificación heterotrófica origina la liberación de iones hidroxilo y por ende aumenta la alcalinidad. Se estima que cada gramo de N-NO_3^- reducido a N_2 , produce un aumento de alcalinidad de 3.57 g CaCO_3 de acuerdo a la siguiente reacción estequiométrica:

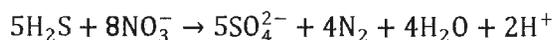


(Ganancia de alcalinidad = 1 eq por mol de NO_3^- o 3.57 g $\text{CaCO}_3/\text{g N-NO}_3^-$)

La desnitrificación autótrofa puede ser aplicada en la remoción de nitrato en algunas variantes de SRA. Con sulfuros como fuente donadora de electrones, se genera alcalinidad a través de dos procesos distintos. En el primero, el sulfato es reducido en sulfuro. Este último compuesto es reoxidado a sulfato con la concomitante reducción de nitrato en el segundo proceso.



(Ganancia de alcalinidad = 2 eq de alcalinidad por mol de SO_4^{2-} o 100 g CaCO_3 /mol SO_4^{2-})



(Pérdida de alcalinidad = 2 eq por 5 moles de H_2S o 20 g de CaCO_3 /mol H_2S)

Se infiere de las ecuaciones precedentes que el acoplamiento de los procesos de la reducción de sulfato, oxidación de sulfuro y reducción de nitrato resulta en una generación de alcalinidad neta de 400 g de CaCO_3 por 8 moles de N- NO_3^- reducido o 3.57 mg CaCO_3 por mg de N- NO_3^- reducido.

No obstante, es poco probable que la desnitrificación autótrofa ocurra en presencia de compuestos orgánicos degradables (el caso normal en un SRA) ya que la desnitrificación heterótrofa se impondría. Este tipo de desnitrificación podría llevarse a cabo a posteriori de un tratamiento de desnitrificación primario, donde la mayoría de DBO ha sido consumida y suprimida previamente gracias a un microfiltro de tambor o discos.

2.2.5 TIPOS DE REACTORES

El tratamiento de aguas residuales emplea distintos tipos de reactores de desnitrificación. Éstos pueden ser divididos en sistemas de biomasa bacteriana suspendida o ligada.

Los sistemas suspendidos son reactores continuos de tipo tanque agitado (*completely-mixed flow reactors*) o de flujo pistón (*plug-flow reactors*), en los que se desarrolla biomasa bacteriana desnitrificadora bajo condiciones de anoxia y la adecuada disponibilidad de carbono. De la misma forma que el tratamiento de lodos activados, parte de los lodos retirados de los reactores es reciclado con el objetivo de mantener una biomasa estable de organismos desnitrificadores.

En SRAs donde este tipo de reactores son empleados, no es necesario retirar los lodos. El proceso RAFA (reactor anaerobio de flujo ascendente) es un tipo de sistema de crecimiento bacteriano suspendido, en éste, las aguas residuales fluyen de forma ascendente a través de una capa de lodo compuesta de gránulos formados biológicamente. Este tipo de reactor, principalmente empleado para realizar la digestión anaerobia de materia orgánica, es también empleado para eliminar nitrato en algunas plantas de tratamiento de aguas residuales e instalaciones acuícolas.

Los bioreactores en los que las bacterias se encuentran fijas a la superficie de un sustrato, son denominados reactores de lecho empacado (*fixed-film o packed bed reactors*), incluyendo a los reactores a lecho fluidizado (*fluidized bed reactors*) y en reciente expansión, los reactores de lecho agitado (*moving bed bioreactors*) MBBR (Ødegaard, 2006).

2.2.6 TECNOLOGÍA MBBR

En los inicios de los años 80, los reactores de lecho agitado (MBBR) fueron desarrollados en Noruega. El objetivo de su creación fue readaptar y equipar, de forma rentable, las instalaciones de tratamiento de aguas residuales para eliminar nitrógeno mediante procesos de pre o post-desnitrificación.

Una ventaja significativa de los MBBR en la modernización de las plantas de tratamiento existentes, fue su reducida superficie y bajo mantenimiento en comparación a temas operacionales asociados a filtros de goteo (*trickling filters*) y lodos activados.

En la actualidad, la tecnología MBBR es ampliamente utilizada en instalaciones de tratamiento de aguas residuales europeas, y en operaciones unitarias acuícolas (nitrificación) a pequeña y gran escala comercial.

El MBBR puede resumirse en un proceso de tratamiento biológico cuya operación es continua, sin obstrucción, con baja pérdida de carga, un elevado ratio de superficie por unidad de volumen ($m^2 \cdot m^{-3}$) y sin requerimiento de retrolavados. La biomasa bacteriana se desarrolla ligada a los transportadores o sustrato de adhesión (*media o carriers*), y se desplaza libremente por toda la columna de agua en el seno del reactor. Este reactor puede operar bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas según el tipo de proceso biológico a emplear, nitrificación o desnitrificación respectivamente.

En el caso de MBBRs empleados para la nitrificación, el sustrato móvil [*carriers o media*] es mantenido en constante circulación a través un sistema de aireación por burbujas que crea condiciones aeróbicas y para la desnitrificación, a través de un agitador de paletas rotativo sumergido con el fin de promover condiciones anaeróbicas.

Normalmente, el sustrato móvil ocupa alrededor del 67% del volumen del reactor (por lo general 50% lleno), un porcentaje de llenado más elevado reduce la eficiencia de agitación. El más comúnmente utilizado (KaldnesTM K1, Figura 9) es elaborado con

polietileno de alta densidad (densidad 0.95 g.cm^{-3}) y configurado como un pequeño cilindro con una cruz en el interior y mini “aletas” en el exterior (Ødegaard *et al.*, 2004).

2.2.7 DISEÑO DE REACTORES DE DESNITRIFICACIÓN

Sin ahondar en detalles técnicos, un reactor de desnitrificación eficiente empleado en acuicultura, será diseñado considerando los 6 parámetros siguientes:

- La producción de N-NO_3^- del sistema,
- La concentración máxima establecida o permitida en el agua de cultivo,
- El volumen de reactor requerido para equiparar la generación de nitrato,
- El tiempo de residencia del fluido en el seno del reactor,
- La fuente donadora de electrones (orgánica o inorgánica) y sus requerimientos estequiométricos en el proceso de desnitrificación,
- La concentración de oxígeno disuelto en el reactor.

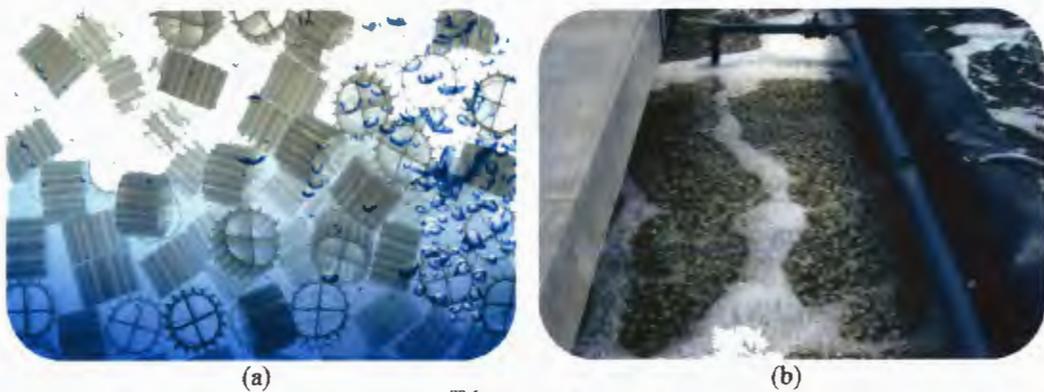


Figura 9. (a) Sustrato móvil Kaldnes™ K1 implicado en procesos de nitrificación; (b) MBBR [Fuente: propia].

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

Considerando un modelo estadístico de efectos fijos, las hipótesis en términos de las medias de los tratamientos (naturaleza del sustrato contenido en un filtro biológico anaeróbico) son:

$$H_0: \mu_i = \mu; \quad 1 \leq i \leq 4$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu; \quad \text{para al menos algún } i.$$

Literalmente también expresadas:

H_0 : Todos los sustratos tienen el mismo efecto sobre el rendimiento depuratorio de nitrato.

H_1 : Con al menos un sustrato se obtiene un rendimiento depuratorio de nitrato diferente.

3.2 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

3.2.1 FACTOR EN ESTUDIO

Naturaleza del sustrato contenido en un filtro biológico anaeróbico (FBA). Sus niveles fueron: areno-rocoso, rocoso y sintético.

3.2.2 TRATAMIENTOS

Tratamiento A: El FBA contiene un sustrato areno-rocoso.

Tratamiento B: El FBA contiene un sustrato rocoso.

Tratamiento C: El FBA contiene un sustrato sintético (esferas de silicona).

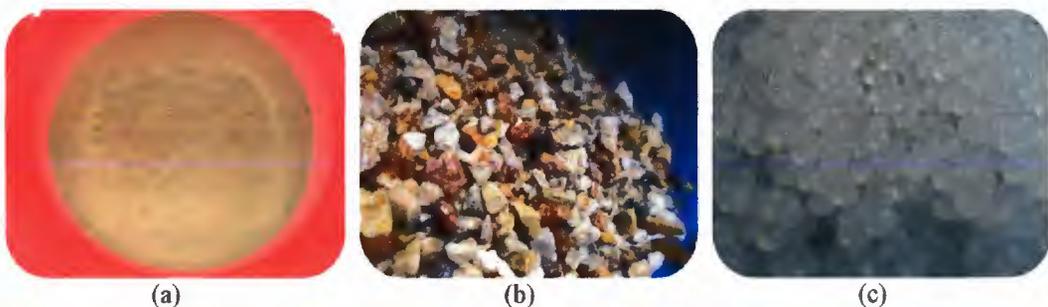


Figura 10. (a) Sustrato areno-rocoso; (b) sustrato rocoso; (c) sustrato sintético [Fuente: propia].

3.2.3 TESTIGO

Tratamiento D: El FBA no contiene sustrato alguno.

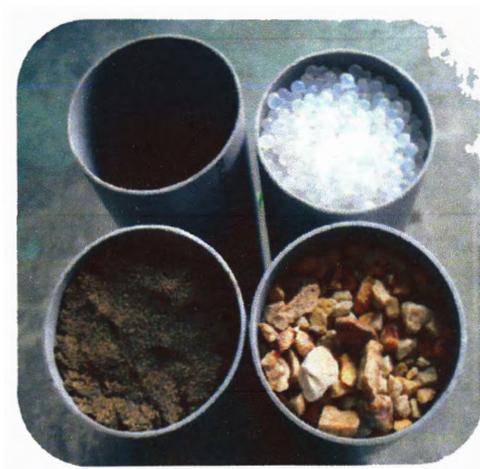


Figura 11. FBAs empleados en el ensayo [Fuente: propia].

3.2.4 FACTOR DE CONTROL

Fotoperiodo aplicado a un sistema *DENILIFT*. Sus niveles fueron: natural, nocturno (24h) y diurno (24h).

3.2.5 BLOQUES

Bloque 1: Fotoperiodo natural.

Bloque 2: Fotoperiodo nocturno (24h).

Bloque 3: Fotoperiodo diurno (24h).

3.2.6 UNIDAD EXPERIMENTAL

Un sistema *DENILIFT* (Figura 11a); 12 unidades experimentales en total.

Un sistema *DENILIFT* (*DEN*itrification-*airLIFT*) es un simulador de un SRA constituido de: un mini-sistema *airlift* o transportador aéreo (función hidráulica), 2 tubos de policloruro de vinilo (PVC) de 1.27 cm de diámetro alineados perpendicularmente (vertical de 50 cm de longitud y horizontal de 10 cm de longitud) formando un tubo en T, un contenedor de 20 L, una válvula de gas acoplada a un inyector -orificio de salida de 0.8 mm- o regulador de flujo o dosificador y un FBA -tubo de PVC que contiene un sustrato específico (altura: 24.5 cm y diámetro: 54 mm). Estos componentes se encuentran

acoplados en serie y su configuración permite que el agua pueda circular a contra-corriente a través del FBA para facilitar la evacuación de N_2 producido.



Figura 12. (a) Sistema *DENILIFT*; (b) diagrama de tuberías de un sistema *DENILIFT*; (c) compresor eléctrico empleado durante el ensayo; (d) difusores de cerámica acoplados a los mini-sistemas *airlift* [Fuente: propia].

Su principio de funcionamiento radica en crear una corriente de circulación, inyectando aire proveniente de un compresor en el mini-sistema *airlift*. El caudal de aire suministrado a cada *airlift*, a través de los difusores, fue de aproximadamente $4 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Mientras el aire es evacuado por la parte superior del tubo de escape, el agua transportada por el *airlift* reingresa al recipiente a un ritmo definido por la válvula de gas.

Un simulador *DENLIFT* es un sistema dinámico, posee una capacidad volumétrica de 20.5 L y contiene agua de mar (33 g.L^{-1}) filtrada a $5 \mu\text{m}$ y esterilizada químicamente. Su concentración de nitrato fluctúa alrededor de 70 mg.L^{-1} (adición de KNO_3) Diariamente se adiciona melaza, como fuente de carbono exógena a los sistemas *DENLIFT* respectando el ratio C/N de 2.5 establecido por Hamlin *et al.* (2008).

Los 12 sistemas construidos son alimentados por un compresor eléctrico de la marca BOYU (china), modelo ACQ-003 cuya potencia eléctrica es de 40 W por un caudal de 40 L.min^{-1} .

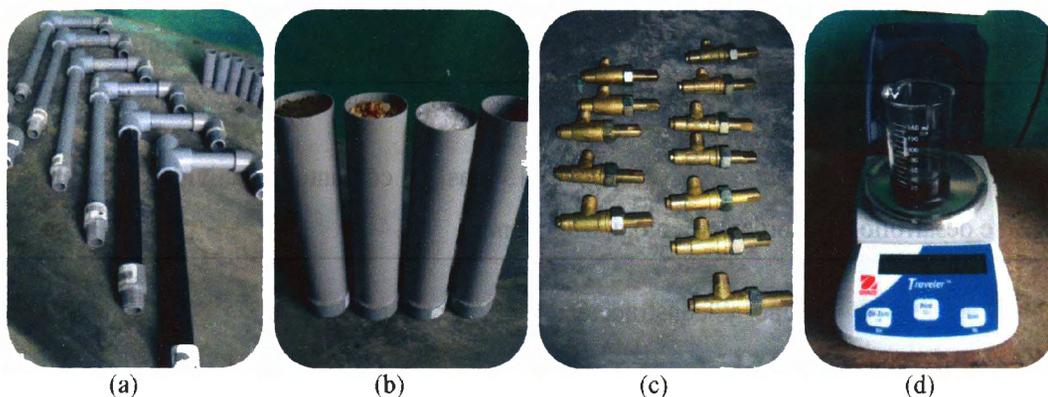


Figura 13. (a) Construcción de los mini-sistemas *airlift*; (b) vista frontal de los FBAs; (c) válvulas de gas empleados como reguladores de flujo; (d) pesado de la fuente de carbono previa introducción a los sistemas *DENLIFT* [Fuente: propia].

3.2.7 VARIABLE RESPUESTA

Rendimiento depuratorio de nitrato en mg.L^{-1} durante un periodo de 15 días en un sistema *DENLIFT*.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento fue conducido bajo los lineamientos de un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con un nivel de significación del 5%. El modelo estadístico aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + e_{ij} \quad 1 \leq i \leq 4 \quad j = 1, 2, r$$

Y_{ij} : Rendimiento depuratorio de nitrato resultante al emplear el i -ésimo sustrato contenido en el FBA sometido al j -ésimo fotoperiodo.

μ : Efecto de la media general del rendimiento depuratorio de nitrato.

τ_i : Efecto del i -ésimo sustrato contenido en el FBA.

β_j : Efecto del j -ésimo fotoperíodo.

e_{ij} : Efecto del error experimental empleando el i -ésimo sustrato contenido en el FBA sometido al j -ésimo fotoperíodo.

t : Número de tratamientos (4)

r : Número de bloques (3)

3.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Culminados los ensayos preliminares, cuyo objetivo gravitó en corroborar la correcta operación en el tiempo (caudal circulante invariable, hermeticidad, etc.) de los 12 sistemas *DENILIFT* y su replicabilidad, se dio inicio a la prueba experimental que permitió realizar el contraste de las hipótesis (o test de significación) formuladas en la sección 3.1.

Durante el periodo experimental (15 días), el conjunto de actividades programadas se desarrolló en el orden cronológico siguiente:

- Diseño y construcción de 12 sistemas *DENILIFT* (4 tratamientos y 3 bloques).
- Toma de muestras de agua iniciales por cada unidad experimental.
- Puesta en marcha de los sistemas *DENILIFT* (día cero o D-0).
- Verificación del correcto e idéntico funcionamiento, en términos hidráulicos (caudal de agua circulante 1 L.h^{-1}) en las 12 unidades experimentales (Figura 14b).
- Análisis fisicoquímicos en laboratorio para evaluar la concentración de nitrato en las muestras de agua iniciales mediante técnicas espectrofotométricas (ensayos colorimétricos).

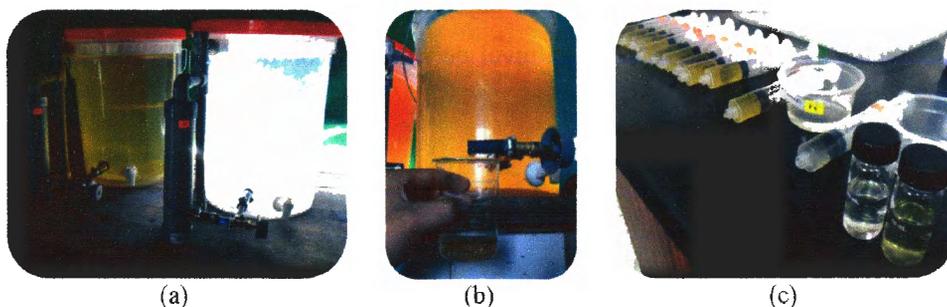


Figura 14. (a) Sistemas *DENILIFT* antes y después de la adición de la fuente de carbono; (b) medición del caudal de recirculación en una unidad experimental; (c) muestras de agua de mar previo análisis espectrofotométrico para estimar la concentración en nitrato.

- Adición diaria de la fuente de carbono -melaza- (Figura 14a) a cada unidad experimental (cálculo de las dosis, anexo I).
- Monitoreo diario del pH, del potencial REDOX (ORP), de la temperatura y de la concentración de oxígeno (% de saturación y en mg.L⁻¹) en cada unidad experimental.
- Finalización del ensayo (día 15 o D-15).
- Toma de muestras de agua finales por cada unidad experimental.
- Análisis fisicoquímicos en laboratorio para evaluar la concentración de nitrato (Figura 14c) en las muestras de agua finales (ensayos colorimétricos).
- Creación de una base de datos con la información recopilada (ver Cuadro 4) para su posterior análisis estadístico.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los datos de depuración obtenidos, se efectuó en principio un análisis exploratorio (estadística descriptiva) mediante un diagrama de cajas o *boxplot*. Este gráfico facilitó la interpretación de los resultados encontrados ulteriormente a través de la estadística inferencial.

El análisis de variancia (ANOVA) se efectuó empleando el paquete estadístico SPSS -*Statistical Package for the Social Sciences*-; este análisis fue validado al verificar los 4 supuestos de aplicación: (1) independencia, vinculada a la asignación al azar de las unidades experimentales a los tratamientos, « aleatorización »; (2) normalidad de los errores, mediante una gráfica de probabilidad normal de los residuos; (3) homogeneidad de variancias, a través de la prueba de Levene (Med); y (4) que no exista interacción entre el factor en estudio (naturaleza del sustrato) y el factor de control (fotoperiodo).

Validado el ANOVA, se realizaron pruebas de comparación múltiple entre grupos de medias de los tratamientos, Tukey y Dunnett, con la finalidad de conocer con qué tratamiento se obtuvo el mejor rendimiento depuratorio de nitrato.

3.6 INSTRUMENTOS DE COLECTA DE DATOS

Se emplearon los siguientes equipos e instrumentos, con el fin de monitorear y evaluar los parámetros fisicoquímicos del agua de mar en cada unidad experimental:

- Un espectrofotómetro de laboratorio de la marca HACH, modelo DR2500, (Figura 15a) y células de muestra con tapa de la marca HACH categoría 24276-06.

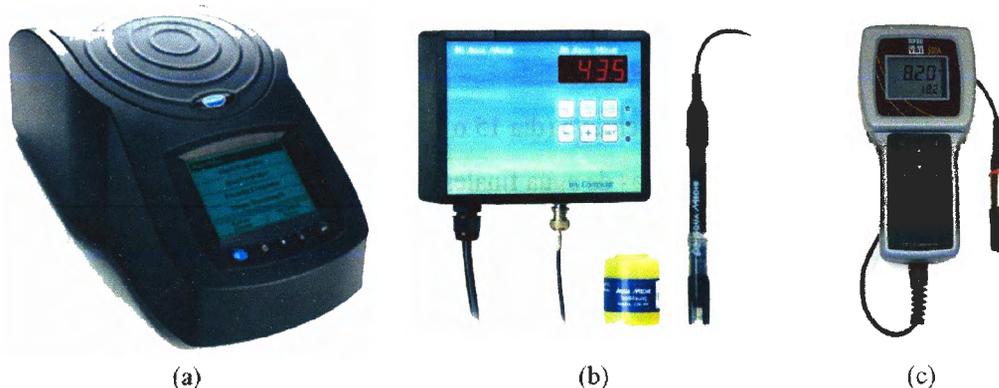


Figura 15. Equipos e instrumentos empleados durante el ensayo.

- Un ion-metro de la marca JENWAY, modelo 3205, cuya precisión es de ± 0.02 unidades de pH.
- Una balanza electrónica de la marca TravelerTM, modelo TA301, cuya precisión es de ± 0.1 g.
- Un electrodo REDOX y ordenador de la marca Aqua MedicTM para el control del potencial de REDOX del agua (Figura 15b), cuya precisión es de ± 5 mV.
- Un oxímetro de la marca YSI, modelo 550A, para el control de la concentración de oxígeno y temperatura del agua (Figura 15c).
- Un salinómetro digital cuya precisión es de $\pm 1\%$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 DEPURACIÓN DE NITRATO

El Cuadro 3 presenta los valores de concentración de nitrato iniciales (D-0) y finales (D-15) registrados en el experimento. Adicionalmente, la dosis diaria de melaza suministrada como fuente de carbono a cada unidad experimental. Recordemos que por cada tratamiento, se realizaron 3 repeticiones (una por bloque).

Cuadro 3. Concentración inicial (D-0) y final (D-15) de nitrato (mg.L^{-1}) y dosis de melaza suministrada a cada sistema *DENILIFT* (g.d^{-1}).

Bloques	Tratamientos	$[\text{NO}_3^-]$ al D-0 (mg.L^{-1})	$[\text{NO}_3^-]$ al D-15 (mg.L^{-1})	Dosis melaza (g.d^{-1})
Natural (12/12h)	T-A	66	8	4.62
	T-B	68	13	4.76
	T-C	78	27	5.46
	T-D	66	28	4.62
Nocturno (24h)	T-A	62	2	4.34
	T-B	66	6	4.62
	T-C	70	16	4.90
	T-D	50	8	3.50
Diurno (24h)	T-A	76	22	5.32
	T-B	61	10	4.27
	T-C	65	12	4.55
	T-D	64	27	4.48

Los valores de depuración alcanzados en cada unidad experimental (diferencia entre la concentración inicial y final de nitrato) son presentados en la cuadro recapitulativo 4. Este cuadro reagrupa la información necesaria para la realización del ANOVA.

Cuadro 4. Rendimiento depuratorio de nitrato obtenido por cada unidad experimental (en mg.L^{-1}).

		NATURALEZA DEL SUSTRATO			
		T-A	T-B	T-C	T-D
FOTOPERIODO		A-rocoso	Rocoso	Sintético	Control
B-I	Natural	58	55	51	38
B-II	Nocturno	60	56	54	42
B-III	Diurno	54	51	53	37

Según la información compilada, el análisis exploratorio reveló que los mejores y peores rendimientos depuratorios, fueron obtenidos con el tratamiento A (sustrato areno-

rocoso contenido en el FBA) y el tratamiento D (testigo), respectivamente. Estas predicciones preliminares estimadas gracias al diagrama de cajas o *boxplot* (Figura 16) fueron corroboradas más tarde por el ANOVA.

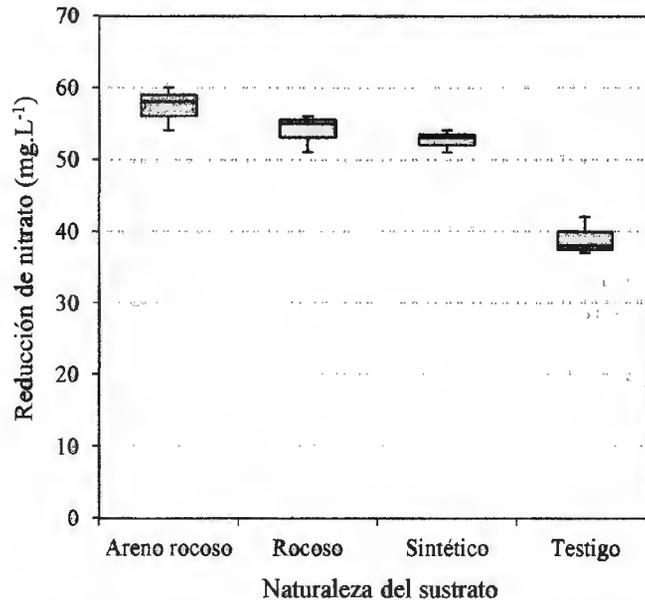


Figura 16. *Boxplot* – Visualización de los valores de depuración por tratamiento.

4.1.1 ANOVA

El cuadro de ANOVA (Cuadro 5), obtenido a través del *software* SPSS, resume los cálculos necesarios a la toma de decisión de aceptación o rechazo de la hipótesis nula; generalmente *-o como regla práctica-*, esta hipótesis se acepta si la *p-value* (valor de probabilidad) es mayor que el límite de significación de α ($\alpha = 0.05$). En el presente estudio, la hipótesis nula fue rechazada.

Cuadro 5. Cuadro de ANOVA (Fuente: propia).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Test de F.	Significación <i>p-value</i>
Modelo corregido	623.417	5	124.683	50.434	.000
Intersección	30906.750	1	30906.750	12501.607	.000
Fotoperiodo	36.500	2	18.250	7.382	.024
Sustrato	586.917	3	195.639	79.135	.000
Error/residual	14.833	6	2.472		
Total	31545.000	12			
Total corregido	638.250	11			

Variable dependiente: Depuración de nitrato ($R^2 = 95.7\%$).
CV = 3.1%

Fue posible, entonces, afirmar que existe suficiente evidencia estadística, a un nivel de significación del 5%, para indicar que hay diferencias en el rendimiento depuratorio de nitrato entre los distintos tipos de sustrato empleados en los FBA (p -value < 0.05).

De la misma forma, la asignación de bloques presentó un p -value < 0.05, lo que ratifica un adecuado control local durante el experimento, al igual que el correcto y eficiente diseño experimental empleado en el trabajo de investigación.

El coeficiente de determinación (R^2) calculado a partir de los resultados de depuración de nitrato fue de 95.7%. Este indicador de la bondad del ajuste del modelo estadístico lineal al conjunto de datos obtenidos durante el experimento, se interpreta de la siguiente forma: 95.7% de la variabilidad total del rendimiento depuratorio de nitrato puede atribuirse a la variabilidad del factor en estudio, en este caso, la naturaleza del sustrato contenido en el FBA; el 4.3% excedentario, se debió al efecto de otros factores que no fueron tomados en cuenta durante el ensayo (error experimental).

El coeficiente de variación (CV), parámetro en relación directa con la variabilidad del error experimental, es empleado como criterio de fiabilidad de los datos (grado de dispersión) en un ANOVA. En este experimento, el valor calculado fue de 3.1%. Según Salinas (2011), dependiendo del tipo y lugar de experimentación: en laboratorio, en campo (agronomía), en estudios en animales y a nivel industrial, estos valores no deben sobrepasar el 5, 30, 20 y 5%, respectivamente. Este resultado corroboró una vez más, el apropiado control local efectuado durante el periodo experimental de la tesis.

4.1.2 VALIDACIÓN DEL ANOVA

Los 4 supuestos de aplicación del ANOVA fueron validados; 2 a través del *software* SPSS y presentados en el anexo 2 -normalidad y homocedasticidad (homogeneidad de variancias)-, y los 2 restantes son detallados a continuación:

a. Independencia

El supuesto de independencia es una condición esencial para la realización del ANOVA; para respetarlo, la asignación de tratamientos al conjunto de unidades experimentales se efectuó de forma aleatoria entre las 3 modalidades o niveles del fotoperiodo (factor de control o bloque).

« Randomización »

Bloque I	Trat. D	Trat. C	Trat. B	Trat. A
Bloque II	Trat. A	Trat. B	Trat. C	Trat. D
Bloque III	Trat. B	Trat. D	Trat. A	Trat. C

Figura 17. Permutación aleatoria.

b. Interacción entre bloques y tratamientos

El gráfico presentado a continuación (Figura 18) confirmó que no existió interacción entre el factor en estudio (naturaleza del sustrato contenido en los FBA) y el factor de control, (fotoperiodo) ya que la evolución de los rendimientos depuratorios de nitrato, entre bloques, exhibe una misma tendencia (comportamiento análogo).

La conformidad de este último supuesto, atribuyó validez científica al ANOVA de dos vías utilizado en la prueba de hipótesis.

4.1.3 COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS

Dado que, inicialmente se rechazó la hipótesis nula y los supuestos del ANOVA fueron validados, se llevaron a cabo pruebas de comparaciones múltiples entre los grupos de medias de los tratamientos « post-hoc » -Tukey y Dunnet-

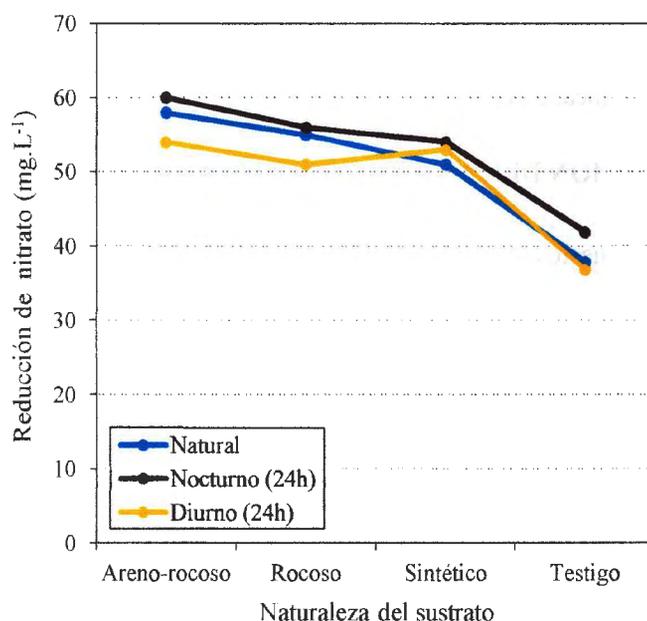


Figura 18. Efecto del fotoperiodo en el rendimiento depuratorio de nitrato.

Esta información permitió conocer y validar estadísticamente con qué tratamiento se alcanzó el mejor rendimiento depuratorio. Los resultados de las pruebas de comparación se encuentran en el anexo 3.



Figura 19. A la izquierda, 4 sistemas *DENILIFT* expuestos a un fotoperiodo 24 h diurno y a la derecha, 4 sistemas *DENILIFT* expuestos a un fotoperiodo 24h nocturno (Fuente: propia).

Los resultados revelaron que los mejores tratamientos, en términos de depuración de nitrato, fueron el A (sustrato areno-rocoso contenido en el FBA) y el B (sustrato rocoso contenido en el FBA) indistintamente (ver Figuras 16 y 20).

La Figura 20, presenta un gráfico de líneas, que asocia a través de un segmento, los tratamientos que no presentaron diferencias significativas (del menos al más eficaz).

$$\begin{matrix} T_D & T_C & T_B & T_A \\ & & \text{-----} & \\ & & \text{-----} & \end{matrix}$$

Figura 20. Gráfico de líneas. El T_A (sustrato areno-rocoso) y el T_B (sustrato rocoso) resultaron los mejores en términos de depuración de nitrato indistintamente.

La naturaleza del sustrato contenido en los FBA es una variable que interviene en la eficiencia de remoción de nitrato (ver Figura 21). Tomando en cuenta datos promedio de depuración, hacer uso de un sustrato de fijación en el FBA (54.6 mg.L^{-1}) amplifica en un 30% el rendimiento del proceso de desnitrificación con respecto al tratamiento control (39 mg.L^{-1}).

Las condiciones de operación de los sistemas *DENILIFT*, se asemejan a los métodos de post-desnitrificación descritos en la sección 2.2.2. En un inicio, la adición de la fuente de carbono biodegradable fomentó la respiración aeróbica de las bacterias heterotróficas (energéticamente más ventajosa), reduciendo así la concentración de O_2 en el seno del reactor (Figura 22b). Posteriormente, al crearse un ambiente anaeróbico, favorable

a la desnitrificación, esta fuente de carbono posibilitó la reducción de nitrato por medio de la respiración anaeróbica (proceso energético menos ventajoso para el microorganismo).

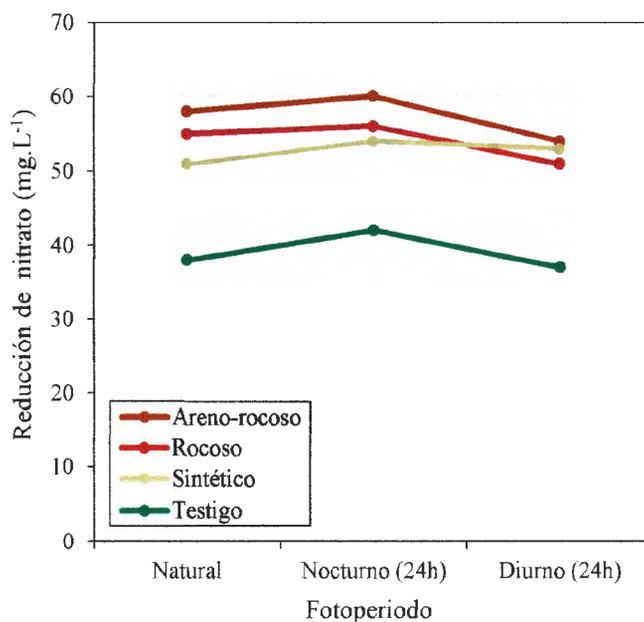


Figura 21. Efecto de la naturaleza del sustrato del FBA en el rendimiento depuratorio de nitrato.

Timmons y Ebeling (2010) afirmaron que el tiempo de retención hidráulica (TRH), es una variable que debe ser integrada en el diseño de FBAs. Basados en la ITAR, los autores establecieron que los valores óptimos de TRH se sitúan entre 20 y 30 minutos. El TRH del fluido calculado en los sistemas *DENILIFT* fue de 33.6 min (0.56 L de volumen del FBA y caudal circulante de 1 L.h⁻¹).

Mantener un escenario anóxico, proclive a oxigenarse mediante procesos de transferencia de masa agua/atmósfera (reequilibrio entre presiones parciales de gases), en los sistemas dinámicos *DENILIFT*, confirma que la estrategia adoptada en su diseño y modo operatorio fue la apropiada.

Con la finalidad de afinar la generación de condiciones anaerobias, y por consiguiente, mejorar el rendimiento de los FBAs, se podría considerar las técnicas siguientes: (1) reducir la presión de saturación del reactor (exposición a una presión de vacío); o (2) desgasificar el agua a tratar, previo ingreso a los FBAs, a través de un reactor químico del tipo columna de burbujas (*gaslift*) que emplee N₂ como gas motor.

Según Lee *et al.* (2000), el valor a partir del cual el proceso de desnitrificación no genera productos intermedios (desnitrificación completa) es -200 mV. El monitoreo del

ORP reveló que el uso de sustratos areno-rocosos y rocosos, favoreció tenuemente la generación de anaerobiosis en los FBAs. Estos tratamientos alcanzaron valores cercanos a -200 mV en menor tiempo, con respecto al sustrato sintético y al testigo (Figura 22a). Es muy probable que la arena, de granulometría reducida, haya propiciado y facilitado la formación de micro-zonas al reducir el espacio intersticial entre partículas ocupado por aire.

Esta ligera ventaja, pudo jugar un papel protagónico en la obtención de rendimientos depuratorios superiores con los tratamientos A y B. En esas condiciones, con el objetivo de aprovisionarse de energía para su metabolismo, las bacterias contenidas en los FBAs correspondientes, iniciaron la ruta metabólica de desnitrificación completa con anterioridad.

Las bacterias se desarrollan formando un *biofilm* en la superficie de sustratos fijos o móviles; en condiciones idénticas de disponibilidad de nutrientes, a mayor relación área-superficial/volumen, as/v (m^{-1}), mayor generación de *biofilm*.

La complejidad de estimar con precisión la relación as/v del FBA por cada tratamiento, en particular el B (sustrato rocoso), obligó a simplificar el cálculo considerando el radio promedio de partículas esféricas (T-A, 0.5 mm, T-B, 2.1 mm y T-C, 2.5 mm). Al resultado se le adicionó el valor obtenido en el T-D (ratio as/v del FBA o cilindro vacío).

Las estimaciones de los ratios as/v para los tratamientos A, B, C y D fueron 6304, 1739, 1511 y 311 m^{-1} , respectivamente. El ratio as/v resultó ser el factor de mayor relevancia en los FBA durante el ensayo. Los sustratos areno-rocosos y rocosos confieren ratios as/v superiores, frente a los sintéticos y de forma más acentuada frente al tratamiento control (diferencias significativas en la reducción de nitrato entre todos los tratamientos con respecto al testigo, prueba de Dunnett, anexo 3).

Al no existir diferencias significativas entre los tratamientos B y C (Figura 20), se pone de manifiesto que la composición del sustrato contenido en el FBA, sea mineral o sintética (silicona), no perturba la actividad de los desnitrificadores. Estos tratamientos presentaron valores del ratio as/v muy cercanos.

La eficiencia de depuración de nitrato en FBAs se rige a la acción independiente o a la interacción (hecho no estudiado durante este estudio) de 2 factores: (1) la granulometría,

responsable de una tenue mejora en la capacidad de generar anaerobiosis en el seno del FBA, y (2) la relación as/v.

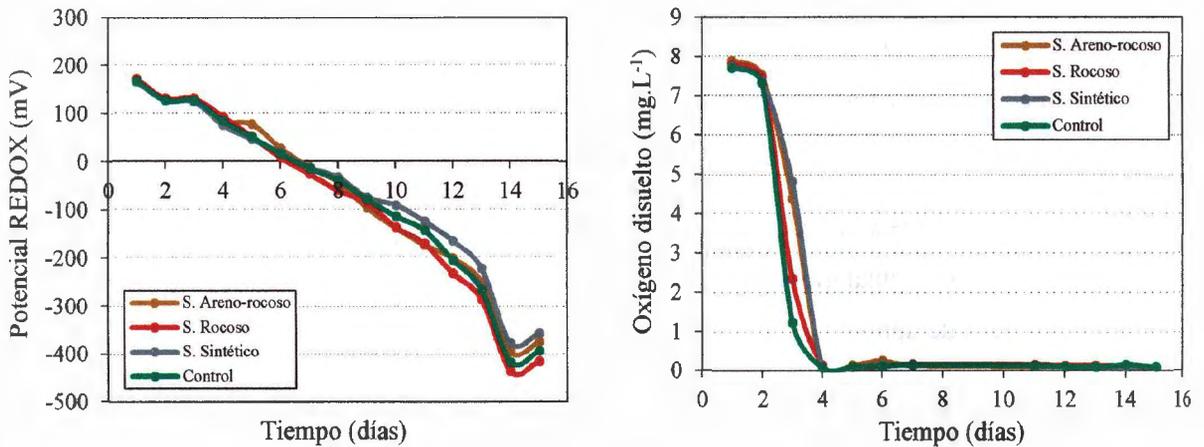


Figura 22. (a) Evolución del ORP (mV) promedio en función del tiempo en los sistemas *DENILIFT*; (b) Evolución de la concentración en O₂ disuelto (mg.L⁻¹) promedio en función del tiempo en los sistemas *DENILIFT*.

4.2 CINÉTICA DE DESNITRIFICACIÓN

Empleando los resultados de rendimiento depuratorio de NO₃⁻ (en mg.L⁻¹) con los que se realizó el ANOVA, se calculó de forma independiente el valor de la cinética de reducción de NO₃⁻ o de desnitrificación, expresada en kg NO₃⁻.m⁻³FBA.d⁻¹ (Cuadro 6).

El rango de valores óptimos del ORP, postulados por Hamlin *et al.* (2008) y Lee *et al.* (2000), para lograr una desnitrificación completa, se sitúa entre -200 y -400 mV. De forma aproximada, estas circunstancias se reunieron, entre el día 12 y 15 del ensayo (Figuras 22a y 23).

Cuadro 6. Cinética de desnitrificación calculada por cada unidad experimental (en kg NO₃⁻.m⁻³FBA.d⁻¹).

		NATURALEZA DEL SUSTRATO			
		T-A	T-B	T-C	T-D
FOTOPERIODO		A-rocoso	Rocosos	Sintético	Control
B-I	Natural	0.708	0.671	0.622	0.464
B-II	Nocturno	0.732	0.683	0.659	0.513
B-III	Diurno	0.659	0.622	0.647	0.451

Por esta razón, la estimación de cinéticas (a través de balances de materia) consideró: (1) el intervalo de tiempo en el cual las condiciones de desnitrificación fueron

favorables en los sistemas *DENILIFT*, 3 días, (2) un volumen de FBA constante y equivalente a 0.56 L (altura: 24.5 cm y diámetro: 54 mm), y (3) un volumen total del sistema de 20.5 L.

En Francia, Sauthier *et al.* (1998), determinaron la capacidad de tratamiento máxima de un biofiltro sumergido de 8 L, que empleó como sustrato fijo gránulos de ladrillo triturado (4 mm de diámetro promedio) y cuya relación as/v fue de 2200 m^{-1} ; este valor de cinética de referencia fue de $10.6 \text{ kg NO}_3^- \cdot \text{m}^{-3} \text{FBA} \cdot \text{d}^{-1}$.

La razón por la que el FBA propuesto por Sauthier *et al.* (1998), fue ≈ 15 veces más eficiente que el FBA perteneciente al sistema *DENILIFT* (T-A/B-II) de mejor performance, incluso contando con un ratio as/v 3 veces inferior (6304 m^{-1}), podría radicar en la elección del compuesto carbonado empleado como fuente donadora de electrones, el etanol.

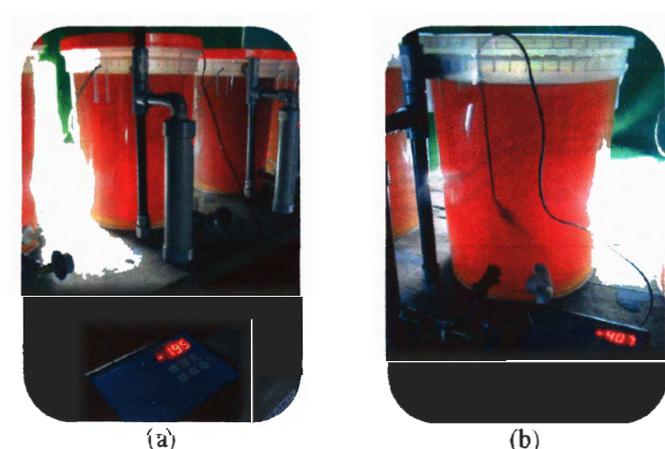


Figura 23. Monitoreo del ORP en los sistemas *DENILIFT* dentro del rango óptimo en el que opera el proceso de desnitrificación: (a) -195 mV; (b) -407 mV (Fuente: propia).

Este producto químico, translúcido, se comercializa puro, por lo que no interfiere con la calidad de agua del sistema a tratar. Adicionar melaza, sin embargo, constituida por compuestos disueltos (mono, polisacáridos) y al estado coloidal, aumenta la turbidez y la concentración de MES del fluido.

En presencia de MES y condiciones anaeróbicas en el agua, se promueve el desarrollo de otro tipo de comunidades bacterianas, ajenas a la desnitrificación. Los microorganismos resultantes son de naturaleza fermentativa (Wilderer *et al.*, 1987).

El monitoreo de pH reveló una excesiva acidificación del agua de mar durante los últimos días del ensayo, valores cercanos a 5 (Figura 24a). Los procesos fermentativos

lácticos, paralelos a la desnitrificación, podrían explicar los reducidos rendimientos depuratorios generados en los sistemas *DENILIFT* con respecto al valor de cinética expuesto por Sauthier *et al.* (1998).

Servirse de melaza como fuente de carbono en los FBAs, generó como efecto colateral negativo una caída extrema de pH (fermentación láctica), que interfirió con la eficiencia de las bacterias desnitrificantes. Van Rijn *et al.*, (2006) afirmaron que valores sub-óptimos de pH y una elevada intensidad luminosa inhiben la actividad desnitrificante.

A intensidades de luz tan bajas como el 5% de la intensidad solar total, la acumulación de nitrito es el resultado de una inhibición de los citocromos involucrados en la reducción de nitrito (Barak *et al.*, 1998). El efecto negativo de la iluminación sobre la eficiencia de depuración fue verificado en el ensayo (Figura 24b), ya que al trabajar con un fotoperiodo de 24h nocturno, la eliminación de nitrato fue superior (p -value < 0.05).

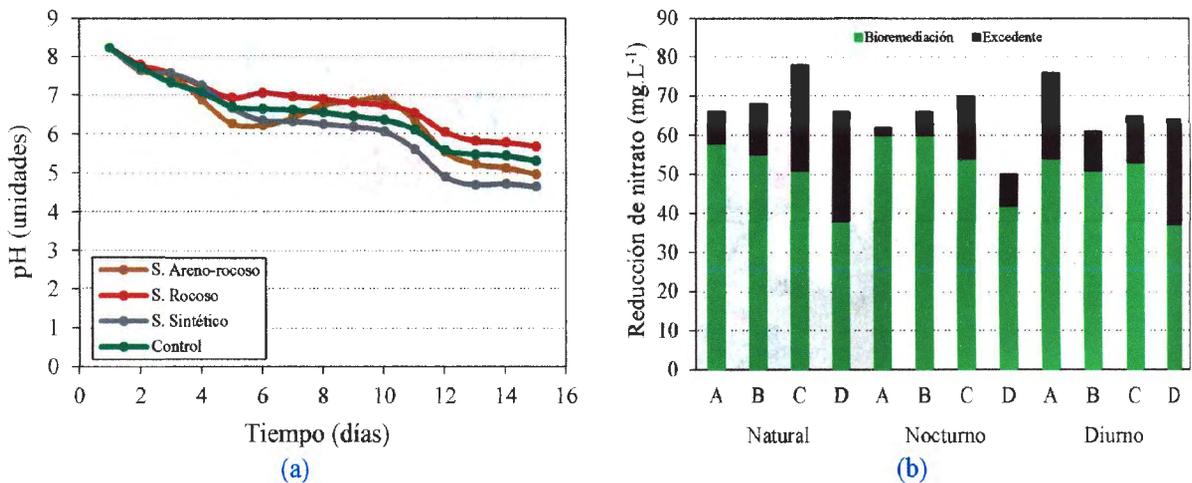


Figura 24. (a) Evolución del valor de pH promedio en función del tiempo en los sistemas *DENILIFT*; (b) Perfil de las concentraciones de nitrato bioremediadas y remanentes obtenidas en cada unidad experimental.

En Estados Unidos, Hamlin *et al.* (2008) probaron que la utilización de melaza como fuente de carbono es una alternativa interesante en los procesos de desnitrificación (precio módico), si los problemas de turbidez y formación de espuma son solucionados. Los autores utilizaron FBAs a flujo ascendente ($10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$) constituidos de un tanque de polietileno de 1.89 m^3 (1 m^3 de sustrato) que generaron una tasa máxima de desnitrificación diaria equivalente a $2.9 \text{ kg NO}_3^- \cdot \text{m}^{-3} \text{FBA} \cdot \text{d}^{-1}$.

Si bien este valor de cinética se aproxima a los alcanzados con los sistemas *DENILIFT* haciendo uso de la misma fuente de carbono, los equipos de operación eran

considerablemente más onerosos en aprovisionamiento y funcionamiento (bomba peristáltica, sensores, etc.).

En el presente ensayo, los prototipos de FBAs se acoplaron a una válvula de gas y a un *airlift* (dos elementos de regulación de caudal) en lugar de una bomba, por lo que cada sistema *DENLIFT* operó a costo energético reducido.

Adaptar un *airlift*, inyección de aire que desplaza volúmenes de agua consecuentes, es siempre una solución económica. Energéticamente, es mucho menos caro transportar aire que agua (Loyless y Malone, 1998).

Los sistemas *DENLIFT* podrían superar los inconvenientes de turbidez y formación de espuma registrados durante el ensayo, y también señalados por Hamlin *et al.* (2008), adaptando un sistema de recuperación de espuma al vacío; esta mejora tecnológica ha sido también propuesta por Suzuki *et al.* (2003).

Recuperar la espuma formada mediante una presión de vacío reducirá la concentración de compuestos decantables y al estado coloidal del cuerpo de agua. En consecuencia, se aminorará la turbidez y la formación de posibles zonas de sedimentación que son el principal lugar de producción de ion amonio a través de la vía metabólica bacteriana DNRA o reducción disimilativa de nitrato a amonio (McCarthy y Gardner, 2003).



Figura 25. (a) Sistema *DENLIFT* produciendo espuma a la salida del *airlift*; la adaptación de una cámara de espuma sometida a presiones de vacío para recuperarla es una solución práctica a considerar; (b) Sistemas *DENLIFT* expuestos a un fotoperiodo 24h nocturno (a la izquierda) y a un fotoperiodo natural (a la derecha).

4.3 ASPECTO ECONÓMICO

La rentabilidad de esta estrategia de bioremediación fue puesta en evidencia al estimar el costo de operación de un sistema *DENLIFT* para depurar un g de N-NO_3^- . El

costo estuvo constituido por los gastos de consumo eléctrico (compresor) y de aprovisionamiento de la fuente de carbono (melaza).

Se consideró que el precio industrial de un kW-h consumido fue de S/. 0.327 (fuente: EDELNOR - Empresa de Distribución Eléctrica Lima Norte S.A.A.), y que el precio de un kg de melaza fue de S/. 1 (Fuente: Facultad de Zootecnia de la UNALM).

El mejor rendimiento depuratorio (60 mg.L^{-1}) fue alcanzado por el sistema *DENILIFT* asignado al T-A/B-II. En estas condiciones, el compresor consumió S/. 4.71 ($40 \text{ W-h} \times 15 \text{ días} = 14.4 \text{ kWh} \times 0.327$) y el gasto derivado de la adición de melaza fue de S/. 0.06 ($60 \text{ mg.L}^{-1} \times 0.07 \times 15 \text{ días} = 63 \text{ g de melaza}$).

El costo total invertido para depurar 60 mg.L^{-1} de NO_3^- empleando un FBA fue de S/. 4.76, sean 1.23 € ($1 \text{ €} = \text{S/} . 3.85$, Fuente: BCP - Banco Central de Reserva del Perú).

Integrando la capacidad volumétrica del sistema *DENILIFT*, se consiguió eliminar 0.28 g de N-NO_3^- por S/. 4.76. Extrapolando, el costo a invertir para eliminar 1 g de N-NO_3^- será de S/. 17 (4.42 €).

La desnitrificación se revela ser una solución económica de eliminación de nitrato de los efluentes acuícolas marinos. Adicionalmente, su incorporación en SRAs minimiza los gastos suplementarios ligados a la incorporación de bases externas (NaOH o bicarbonatos) que buscan remediar los inconvenientes de pérdida de alcalinidad (Summerfelt *et al.*, 2000 ; Loyless y Malone, 1998). La utilización de productos químicos es cada vez menos recomendada por respeto a las normas de calidad y medioambientales de cada nación.

V. CONCLUSIONES

La naturaleza del sustrato contenido en un reactor de desnitrificación o filtro biológico anaeróbico (FBA) es un factor que gobierna la eficiencia de eliminación de nitrato en efluentes acuícolas. Los sustratos areno-rocosos y rocosos exhibieron resultados de depuración superiores, gracias a su reducida granulometría que: (1) facilita la generación de anaerobiosis, y (2) proporciona una mayor superficie de colonización a las bacterias desnitrificantes.

El mejor valor de cinética de reducción de nitrato ($0.7 \text{ kg NO}_3^- \cdot \text{m}^{-3} \text{FBA} \cdot \text{d}^{-1}$) se alcanza empleando un FBA que debe encontrarse expuesto a un fotoperiodo 24h nocturno y contener en su seno un sustrato areno-rocoso.

En condiciones óptimas de operación (descritas en el párrafo precedente), los FBAs de los sistemas *DENILIFT* pueden depurar 1 g de N-NO_3^- a un costo de operación módico y equivalente a S/. 17 (4.42 €).

VI. RECOMENDACIONES

- Emplear fuentes de carbono que no produzcan coloración en el agua a tratar, de tal forma que no se genere una posible interferencia con el ensayo colorimétrico (espectrofotometría).
- Realizar paralelamente el monitoreo de la concentración de nitrito, para controlar correctamente el funcionamiento del biofiltro y la posible acumulación de productos intermediarios del proceso de desnitrificación.
- Utilizar unidades experimentales homogéneas en términos de concentración de nitrato.
- Efectuar ensayos adicionales que permitan discriminar el efecto de la temperatura en la cinética de desnitrificación.
- Servirse de la tecnología económica de desnitrificación, en el tratamiento de efluentes con elevada concentración en nitrato provenientes de otras industrias (aguas residuales, productos químicos de limpieza, etc.), readaptando los filtros biológicos anaeróbicos propuestos durante la tesis, y haciendo uso de los valores de cinética de reducción calculados durante la fase experimental.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboutboul, Y., Arviv, R., van Rijn, J., 1995. **Anaerobic treatment of intensive fish culture effluents: volatile fatty acid mediated denitrification.** Aquaculture. Vol. (133), pp. 21-32.
- Asche, F., Roll, K.H., Tveteras, R., 2009. **Economic inefficiency and environmental impact: An application to aquaculture production.** Journal of Environmental Economics and Management. Vol. (58), pp. 93-105.
- Barak, Y., Tal, Y., van Rijn, J. 1998. **Light-mediated nitrite accumulation during denitrification by *Pseudomonas sp.* strain JR12.** Appl. Environ. Microbio. 64 (3), pp. 813-817.
- Bartoli, M., Nizzoli, D., Naldi, M., Vezzulli, L., Porrello, S., Lenzi, M., Viaroli, P., 2005. **Inorganic nitrogen control in wastewater treatment ponds from a fish farm (Orbetello, Italy): Denitrification versus Ulva uptake.** Marine Pollution Bulletin. Vol. (50), pp. 1386-1397.
- Bjørndal, T., 1988. **The Norwegian aquaculture industry: Industrial structure and cost of production.** Marine Policy. Pp, 122-142.
- Blancheton, J.P., Bosc, P., Hussenot, J.M.E., Roque d'Orbcastel, E., Romain, D., 2009. **Tendances pour la pisciculture européenne de demain : cages au large, systèmes en eau recirculée et systèmes intégrés.** Cah. Agric. Vol. (18), N° 2-3, pp. 227-234.
- Blancheton, J.-P., Covès, D., Lemarié, G., 2001. **Circuits fermés pour le grossissement de poissons: problématiques et axes de recherche.** Catalogue technique, Aqualog International technologies, 4° éd., pp. 372-376.
- Boley A., Wiss, K., Muller, C., Haider, G., 2000. **Biodegradable polymers as a solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems.** Aquacultural Engineering. Vol (22), pp. 75-85.
- Boopathy, R., Bonvillain, C., Fontenot, Q., Kilgen, M., 2007. **Biological treatment of low-salinity shrimp aquaculture wastewater using sequencing batch reactor.** International Biodeterioration & Biodegradation. Vol. (59), pp. 16-19.

ick, B.H., Krause, G., Rosenthal, H., 2004. **Extensive open ocean aquaculture development within wind farms in Germany: the prospect of offshore co-management and legal constraints.** *Ocean & Coastal Management*. Vol. (47), pp. 95-122.

ifford, D., Liu, X., 1993. **Biological denitrification of spent regenerant brine using a quencing batch reactor.** *Water Research*. Vol. (27), pp. 1477-1484.

eviller, G., Blancheton, J.P., 2002. **Seek optimum conditions for purification of marine effluent in aquaculture by the high rate algae pond.** *ProQuest-CSA*.

eviller, G., Aliaume, C., Franco, M.A., Casellas, C., Blancheton, J.P., 2004. **High-rate algal pond treatment for water reuse in an integrated marine fish recirculating stem: effect on water quality and sea bass growth.** *Aquaculture*. Vol. (235), pp. 331-4.

ipla, M., Comeau, Y., Parent, S., Villemur, R., Jolicoeur, M., 2006. **Design optimization a self-cleaning moving-bed bioreactor for seawater denitrification.** *Water Research*. Vol. (40), pp. 249-258.

odeling, J.M., Drennan, D.G., 2006. **Low substrate nitrate kinetics utilizing passive self-gulating denitrification technology.** *International Recirculating Aquaculture Conference, Roanoke, VA.*, pp. 468-476.a

PA, US Environmental Protection Agency, 1993. **Manual Nitrogen Control, PA/625/R-93/010.** Pp. 311.

AO, 2011. **Aquaculture topics and activities.** State of world aquaculture [en línea]. *Text Rohana Subasinghe*. <http://www.fao.org/fishery/topic/13540/en> (Página consultada el 3 Julio 2011).

erra, C., 2008. **Aquaculture.** Edición Vuibert. Cap. 13, pp. 333-334.

olke, C., Kautsky, N., 1992. **Aquaculture with its environment: Prospects for sustainability.** *Ocean & Coastal Management*. Vol. (17), pp. 5-24.

lass, C., Silverstein, J., 1998. **Denitrification kinetics of high nitrate concentration ater: pH effect on inhibition and nitrite accumulation.** *Wat. Res.* 32, 831-839.

Grguric, G., Wetmore, S., Fournier, R., 2000. **Biological denitrification in a closed seawater system**. Chemosphere. Vol. (40), pp. 549-555.

Gutierrez-Wing, M., Malone, R., 2006. **Biological filters in aquaculture: Trends and research directions for freshwater and marine applications**. Aquacultural Engineering. Vol. (34), pp. 163-171.

Hamlin, H., Michaels, J., Beaulaton, C., Graham, W., Dutt, W., Steinbach, P., Losordo, T., Schrader, K., Main, K., 2008. **Comparing denitrification rates and carbon sources in commercial scale upflow denitrification biological filters in aquaculture**. Aquacultural Engineering. Vol. (38), pp. 79-92.

Ifremer, 2009. **Les systèmes en circuit recirculé : intérêt et cas d'utilisation** [en ligne]. http://www.ifremer.fr/aquaculture/layout/set/print/filieres/fiches_informations/filiere_poissons/les_systemes_en_circuit_recircule_interet_et_cas_d_utilisation (Page consultée le 07/2010).

Izquierdo, M., Carrillo, M., 1997. **Optimization of aquaculture systems in Spain**. Energy Convers. Mgmt. Vol. (38), N° 9, pp. 879-888.

Jensen, Ø., Wroldsen, A.S., Lader, P.F., Fredheim, A., Heide, M., 2007. **Finite element analysis of tensegrity structures in offshore aquaculture installations**. Aquacultural Engineering. Vol. (36), pp. 272-284.

Kaiser, M.J., Yu, Y., Snyder, B., 2010. **Economic feasibility of using offshore oil and gas structures in the Gulf of Mexico for platform-based aquaculture**. Marine Policy. Vol. (34), pp. 699-707.

Klas, S., Mozes, N., Lahav, O., 2006a. **Development of a single-sludge denitrification method for nitrate removal from RAS effluents: Lab-scale results vs. model prediction**. Aquaculture. Vol. (259), pp. 342-353.

Klas, S., Mozes, N., Lahav, O., 2006b. **A conceptual, stoichiometry-based model for single-sludge denitrification in recirculating aquaculture systems**. Aquaculture. Vol. (259), pp. 328-341.

Kucuk, H., Midilli, A., Özdemir, A., Çakmak, E., Dincer, I., 2010. **Exergetic performance analysis of a recirculating aquaculture system**. Energy Conversion and Management. Vol. (51), pp. 1033-1043.

Lazur, A.M., Britt, B.C., 1997. **Pond recirculating production systems**. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication N° 455.

Lee, P., Lea, R., Dohmann, E., Prebilsky, W., Turk, P., Ying, H., Whitson, J., 2000. **Denitrification in aquaculture systems: an example of a fuzzy logic control problem**. Aquacultural Engineering. Vol. (23), pp. 37-59.

Losordo, T.M., Masser, M.P., Rakocy, J., 1998. **Recirculating aquaculture tank production systems: An overview of critical considerations**. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication N° 451.

Loyless, J.C., Malone, R.F., 1998. **Evaluation of air-lift pump capabilities for water delivery, aeration, and degasification for application to recirculating aquaculture systems**. Aquacultural Engineering. Vol. (18), pp. 117-133.

Martins, C., Eding, E., Verdegem, M., Heinsbroek, L., Schneider, O., Blancheton, J.P., Roque d'Orbcastel, E., Verreth, J., 2010. **New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability**. Aquacultural Engineering. Vol. (43), pp. 83-93.

Masood, E., 1997. **Aquaculture: A solution, or source of new problems?** Nature. Vol. 386, N° 6621, pp. 109. ProQuest-CSA.

McCarty, P.L., Beck, L., Amant, S.P., 1969. **Biological denitrification of wastewaters by addition of organic materials**. The 24th Annual Purdue Industrial Waste Conf., Purdue Univ., Lafayette, IN, pp. 1271-1285.

Menasveta, P., Panritdam, T., Sihanonth, P., Powtongsook, S., Chuntapa, B., Lee, P., 2001. **Design and function of a closed, recirculating seawater system with denitrification for the culture of black tiger shrimp broodstock**. Aquacultural Engineering. Vol. (25), pp. 35-49.

Menicou, M., Vassiliou, V., 2010. **Prospective energy needs in Mediterranean offshore aquaculture: Renewable and sustainable energy solutions**. Renewable and Sustainable Energy Reviews. Article in Press.

Mirzoyan, N., Tal, Y., Gross, A., 2010. **Anaerobic digestion of sludge from intensive recirculating aquaculture systems: Review**. Aquaculture. Vol. (306), pp. 1-6.

Ødegaard, H., 2006. **Innovations in wastewater treatment: The moving bed biofilm process**. Wat. Science Technol. 53, pp. 17-33.

Ødegaard, H., Rusten, B., Wessman, F., 2004. **State of the art in Europe of the moving bed biofilm reactor (MBBR) process**. Proceedings of the annual meeting of WEFTEC.

Ovez, B., Ozgen, S., Yuksel, M., 2006. **Biological denitrification in drinking water using *Glycyrrhiza glabra* and *Arunda donax* as the carbon source**. Process Biochemistry. Vol. (41), pp. 1539-1544.

Park, E.J., Seo, J.K., Kim, M.R., Jung, I.H., Kim, J.Y., Kim, S.K., 2001. **Salinity acclimation of immobilized freshwater denitrifiers**. Aquacultural Engineering. Vol (24), pp. 169-180.

Pulefou, T., Jegatheesan, V., Steicke, C., Kimb, S.H., 2008. **Application of submerged membrane bioreactor for aquaculture effluent reuse**. Desalination. Vol. (221), pp. 534-542.

Quang, N., 2006. **Hydrogenotrophic denitrification of aquaculture waste water using hollow fiber membrane bioreactor**. School of Environment, Resources and Development (Thailand). Thesis.

Rittman, B.E., McCarty, P.L., 2001. **Environmental Biotechnology: Principles and Applications**. McGraw Hill, NY, pág. 754.

Roque d'Orbcastel, E., Blancheton J.P., Belaud, A., 2009. **Water quality and rainbow trout performance in a Danish Model Farm recirculating system: Comparison with a flow through system**. Aquacultural Engineering. Vol. (40), pp. 135-143.

Sauthier, N., Grasmick, A., Blancheton, J.-P., 1998. **Biological denitrification applied to a marine closed aquaculture system**. Wat. Res. Vol. (32), N° 6, pp. 1932-1938.

Salinas, J., 2006. **Diseños experimentales con SPSS**. Curso- taller avanzado. Departamento de Estadística e Informática. UNALM.

Schneider, O., Sereti, V., Machiels, M., Eding, E., Verreth, J., 2006. **The potential of producing heterotrophic bacteria biomass on aquaculture waste**. Water Research. Vol. (40), pp. 2684-2694.

Singer, A., Parnes, S., Gross, A., Sagi, A., Brenner, A., 2008. **A novel approach to denitrification processes in a zero-discharge recirculating system for small-scale urban aquaculture**. Aquacultural Engineering. Vol. (39), pp. 72-77.

Skladany, M., Clausen, R., Belton, B., 2007. **Offshore aquaculture: The frontier of redefining oceanic property**. Society and Natural Resources. Vol. (20), pp. 169-176.

Summerfelt, S.T., 1998. **An integrated approach to aquaculture waste management in flowing water systems**. The second international conference on recirculating aquaculture. Pp. 87-97.

Summerfelt, S.T., Vinci, B.J., Piedrahita, R.H., 2000. **Oxygenation and carbon dioxide control in water reuse systems**. Aquacultural Engineering. Vol. (22), pp. 87-108.

Suzuki, Y., Maruyama, T., Numata, H., Sato, H., Asakawa, M., 2003. **Performance of a closed recirculating system with foam separation, nitrification and denitrification units for intensive culture of eel: towards zero emission**. Aquacultural Engineering. Vol. (29), pp. 165-182.

Tiedge, J.M., 1990. **Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonia**. In: Zehder, A.J.B. (Ed.), Biology of Anaerobic Microorganisms. Wiley Publ., N.Y., pp. 179-244.

Timmons, M.B., Ebeling, J.M., 2010. **Recirculating aquaculture 2nd Edition**. NRAC Publication No. 401-2010. Chapter 9 – Denitrification, pp. 387-424.

Troell, M., Tyedmers, P., Kautsky, N., Rönnbäck, P., 2004. **Aquaculture and Energy Use**. Encyclopedia of Energy. Vol. (1), pp. 97.

Troell, M., Joyce, A., Chopin, T., Neori, A., Buschmann, A.H., Fang, J.G., 2009. **Ecological engineering in aquaculture - Potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems**. Aquaculture. Vol. (297), pp. 1-9.

- van Rijn, J., 1996. **The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture - A review.** *Aquaculture*. Vol. (139), pp. 181-201.
- van Rijn, J., Tal, Y., Schreier, H., 2006. **Denitrification in recirculating systems: Theory and applications.** *Aquacultural Engineering*. Vol. (34), pp. 364-376.
- Vidal, S., Rocha, C., Galvão, H., 2002. **A comparison of organic and inorganic carbon controls over biological denitrification in aquaria.** *Chemosphere*. Vol. (48), pp. 445-451.
- Weihrauch, D., Wilkie, M.P., Walsh, P.J., 2009. **Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans (Review).** *J. Experimental Biology* 212, pp. 1716-1730.
- Whitmarsh, D.J., Cook, E.J., Black, K.D., 2006. **Searching for sustainability in aquaculture: An investigation into the economic prospects for an integrated salmon-mussel production system.** *Marine Policy*. Vol. (30), pp. 293-298.
- Whitson, J., P. Turk, Lee, P., 1993. **Biological denitrification in a closed recirculating marine culture system.** In: Wang, J-K (Ed.), *Techniques for Modern Aquaculture*. ASAE, St. Joseph, MI, 1993. Pp. 458-466.
- Wilderer, P.A., Jones, W.L., Dau, U., 1987. **Competition in denitrification systems affecting reduction rate and accumulation of nitrite.** *Wat. Res.* Vol (21), pp. 239-245.
- Yang, L., Chou, L.S., Shieh, W.K., 2001. **Biofilter treatment of aquaculture water for reuse applications.** *Water Research*. Vol. (35), pp. 3097-3108.

ANEXOS

Anexo 1. Cálculo de la dosis de melaza a adicionar a los sistemas *DENILIFT* [Fuente: Facultad de Zootecnia de la UNALM].

Sabiendo que la melaza está constituida por: 32.5% de sacarosa - PM = 342 g.mol⁻¹ (C₁₂H₂₂O₁₁); 5% de fructuosa - PM : 180 g.mol⁻¹ (C₆H₁₂O₆); y 2.1% de glucosa - PM = 180 g.mol⁻¹ (C₆H₁₂O₆).

En 1 gramo de melaza, encontramos 0.17 g de carbono:

$$\begin{aligned} &= \frac{32.5 \text{ g. Sac.}}{100 \text{ g. Mel.}} \times \frac{144 \text{ g. C.}}{342 \text{ g. Sac.}} + \frac{5 \text{ g. Fruc.}}{100 \text{ g. Mel.}} \times \frac{72 \text{ g. C.}}{180 \text{ g. Fruc.}} + \frac{2.1 \text{ g. Gluc.}}{100 \text{ g. Mel.}} \times \frac{72 \text{ g. C.}}{180 \text{ g. Gluc.}} \\ &= \frac{0.17 \text{ g. C.}}{\text{g. Melaza}} \end{aligned}$$

Para respetar el ratio C/N de 2.5 (2.5 g C / 1 g N) establecido por Hamlin *et al.* (2008), será necesario 14.71 g de melaza:

$$1 \text{ g. Melaza} \rightarrow 0.17 \text{ g C}$$

$$14.71 \text{ g Melaza} \rightarrow 2.5 \text{ g C}$$

$$14.71 \text{ g Melaza} \rightarrow 1 \text{ g N}$$

Considerando una concentración de nitrato de 50 mg.L⁻¹ y el volumen del sistema *DENILIFT* (20.5 L), existirá 0.23 g de nitrógeno a depurar:

$$50 \text{ mg NO}_3^-/\text{L} \times 20.5 \text{ L} \times \frac{14 \text{ g N}}{62 \text{ g NO}_3^-} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 0.23 \text{ g N}$$

Entonces, serán necesarios 3.4 g de melaza:

$$14.71 \text{ g Melaza} \rightarrow 1 \text{ g N}$$

$$3.40 \text{ g Melaza} \rightarrow 0.23 \text{ g N}$$

Para conocer la cantidad de melaza a adicionar (CMA) de forma más simple, se calculó un factor de conversión:

$$\text{CMA (g)} = [\text{NO}_3^-] \times 20.5 \times \frac{14}{62} \times \frac{1}{1000} \times 14.71 = [\text{NO}_3^-] \times 0.07$$

Anexo 2. Supuestos de normalidad y homocedasticidad validados por el software SPSS 15.0.

Gráfico de probabilidad normal → Validación del supuesto de Normalidad de los residuales.

Gráfico Q-Q Normal de Residue estandarizado para Depuración

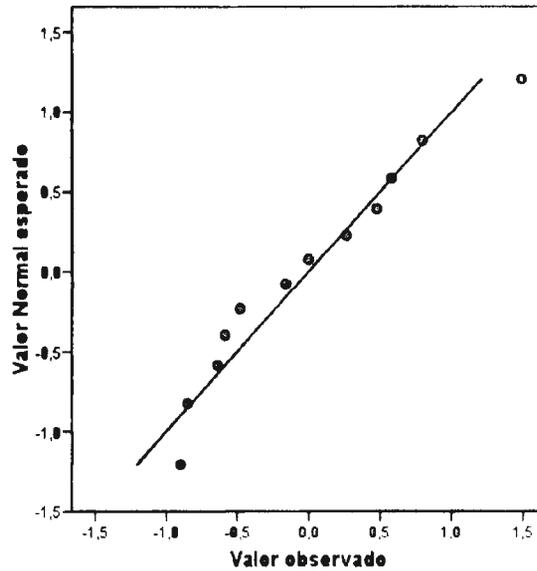
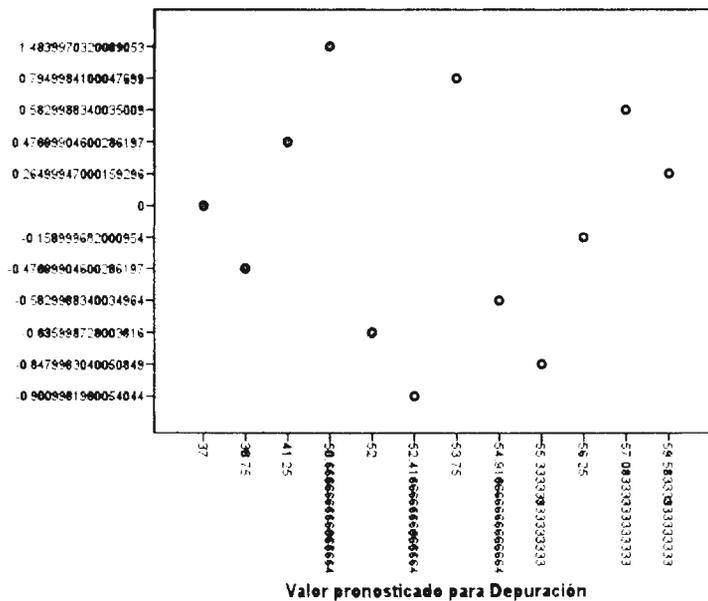


Gráfico de residuos estandarizados para depuración (eje y) contra el valor pronosticado para Y_{ij} (eje x) → Los residuos no obedecen ningún patrón trascendental en su distribución (validación del supuesto de homocedasticidad).



Anexo 3. Tests « post-hoc » de comparación múltiple realizados a través del software SPSS 15.0 (Tukey y Dunnett).

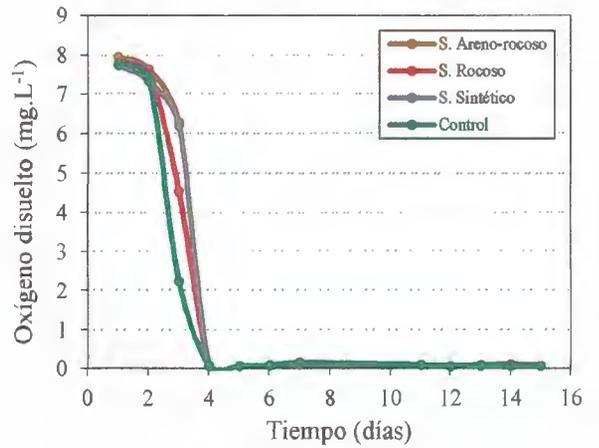
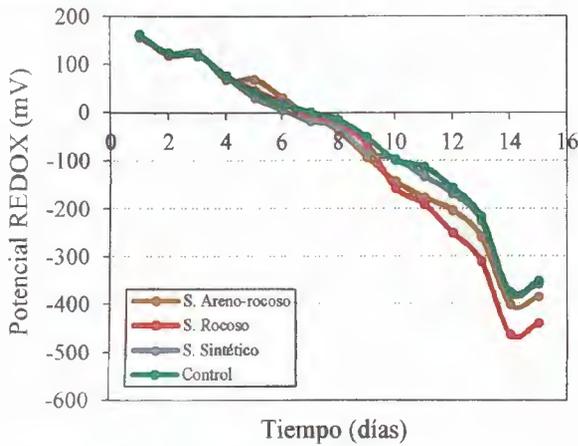
Tests « post-hoc » de Tukey y Dunnett.

	(I) Substrat	(J) Substrat	Différence entre les moyennes (I-J)	Signification <i>p-value</i>
DHS de Tukey	Sablo-roch.	Rocheux	3.3333	0.140
		Synthétique	4.6667(*)	0.041
		Témoin	18.3333(*)	0.000
	Rocheux	Sablo-roch.	-3.3333	0.140
		Synthétique	1.3333	0.735
		Control	15.0000(*)	0.000
	Synthétique	Sablo-roch.	-4.6667(*)	0.041
		Rocheux	-1.3333	0.735
		Control	13.6667(*)	0.000
	Témoin	Sablo-roch.	-18.3333(*)	0.000
		Rocheux	-15.0000(*)	0.000
		Synthétique	-13.6667(*)	0.000
t de Dunnett (bilatéral)	Sablo-roch.	Témoin	18.3333(*)	0.000
	Rocheux	Témoin	15.0000(*)	0.000
	Synthétique	Témoin	13.6667(*)	0.000

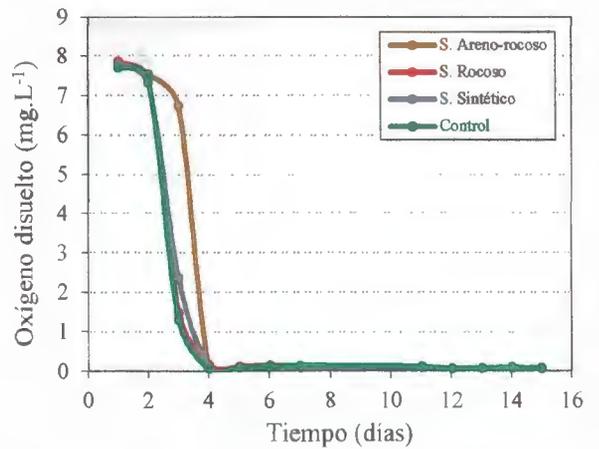
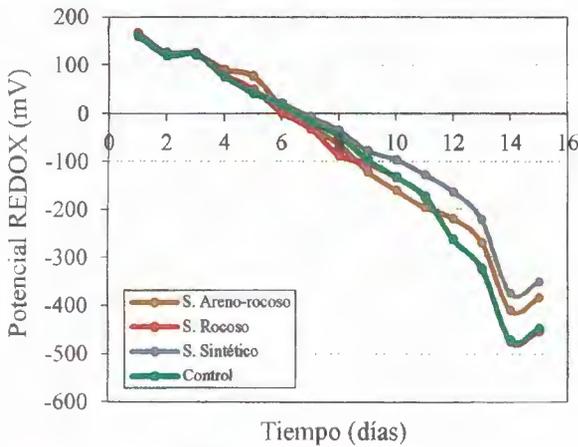
(*) La différence des moyennes est significative avec un seuil de signification de 5%.

Anexo 4. Monitoreo REDOX y de la concentración en O₂ disuelto por unidad experimental.

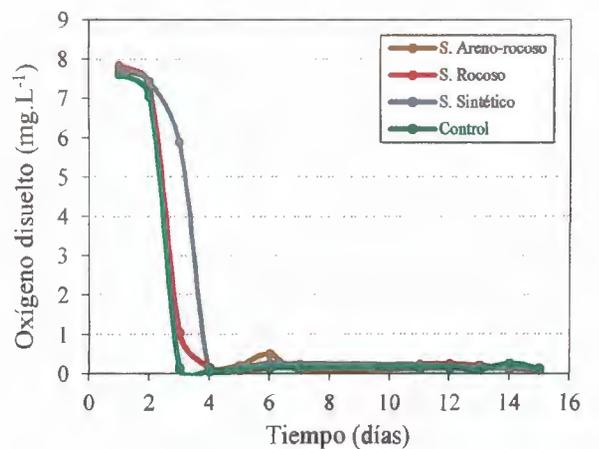
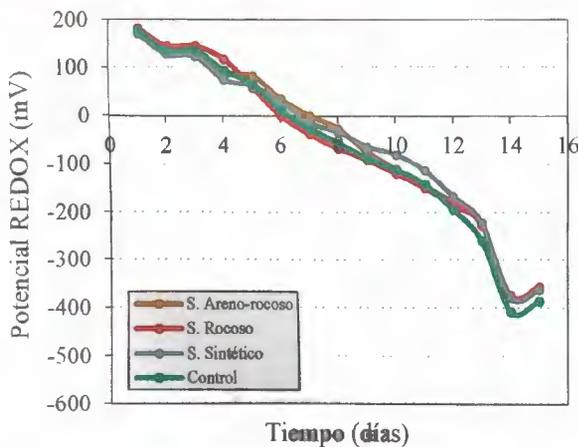
Bloque I (fotoperiodo natural)



Bloque II (fotoperiodo 24h nocturno)



Bloque III (fotoperiodo 24h diurno)



Anexo 5. Monitoreo promedio de la temperatura por tratamiento.

Valor promedio: 16.9 °C

