



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLAS DE HIDALGO**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA AMBIENTAL**



MCIAM
Maestría en Ciencias
en Ingeniería Ambiental
UMSNH

Facultad de Biología,
Facultad de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería Civil

**Remoción de nitrógeno amoniacal y composición de la
biopelícula, de un reactor de lecho móvil,
en un sistema acuícola con recirculación**

TESIS

que para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERIA AMBIENTAL

presenta la

I.B.Q. Lizeth Yazmín Soria Leal

Director de tesis:

Doctor en Ingeniería de Procesos Julio César Orantes Ávalos

Co-director de tesis:

Doctor en Acuicultura Antonio Campos Mendoza

Morelia Michoacán, febrero de 2015

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y a la Facultad de Biología

A Conacyt, por la beca que me fue otorgada para continuar mis estudios

Al Proyecto FORDECYT: Sistema regional de producción intensiva de tilapia para mercados de alto valor comercial e impulsar el desarrollo económico y social en el occidente de México

Al proyecto Desarrollo de un sistema integrado de tratamiento y reuso de agua para la producción y conservación de peces, con financiamiento de la Coordinación de la Investigación Científica, en el marco de los programas de Investigación 2012-2013

Al Laboratorio de Biología Acuática de la UMSNH, especialmente al Dr. Antonio Campos M. y el M.C. Isaac Chacón, M.V.Z. Luis E. Riveros por su apoyo y cooperación durante mi estancia en el laboratorio

Al Laboratorio de Tecnología de la Madera de la UMSNH, a la M.C. Abril Munro Rojas y a la M.C. Carmen Vargas por las facilidades y apoyo para utilizar las instalaciones

Al Laboratorio de Acuicultura y Nutrición del IIAF, al Dr. Jorge Fonseca M. y la M.C. Sibila Santos, por las facilidades y cooperación en el cumplimiento de nuevos objetivos

Muy especialmente a Mamá, el apoyo más grande que tengo

A mis hermanos Yadi, Hugo y a mi familia

A mis compañeros y amigos del Laboratorio, Alex, Isaías, Jesús, Rubi, Laura, Atzimba y a mis amigos especialmente Alia, Rubí, Brenda e Hilde que han estado conmigo incondicionalmente

A mis sinodales

y especialmente al Dr. Julio Orantes, por ser pilar en esta etapa

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	iii
CONTENIDO.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	vi
NOTACIÓN.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
1.1.1 Objetivo general.....	3
1.1.2 Objetivos específicos.....	3
HIPÓTESIS.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
2 MARCO TEÓRICO.....	5
Acuicultura.....	5
2.1.1 Introducción a la acuicultura.....	5
2.1.2 Cultivo de tilapia.....	7
2.1.3 Parámetros de calidad del agua.....	9
Sistemas Acuícolas Recirculados (RAS).....	15
2.1.4 Introducción a los sistemas de recirculación en acuicultura.....	15
2.1.5 Diseño y operación de un RAS.....	17
2.1.6 Reactores de lecho móvil (MBBR).....	18
2.1.7 Material de soporte.....	20
BIOFILTRACIÓN.....	22
2.1.8 Sistemas de biopelícula.....	22

2.1.9	Composición de las biopelículas.....	24
2.1.10	Propiedades de las biopelículas	25
2.1.11	Remoción de materia orgánica	26
2.1.12	Nitrificación	26
2.1.12.1	Tasas de nitrificación.....	28
	Antecedentes	29
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
	Evaluación preliminar del sistema de tratamiento actual	32
3.1.1	Análisis de la eficiencia del biofiltro de lecho sumergido	32
3.1.3	Análisis de biodegradabilidad de sustrato	35
	Reingeniería del reactor sistema MBBR.....	37
3.1.4	Modificaciones al sistema	37
3.1.5	Preinoculación.....	39
	Seguimiento de la operación del MBBR.....	39
3.1.6	Cultivo de peces	39
3.1.7	Operación.....	40
	Diseño experimental	40
	En todas las condiciones experimentales se trabajó con un volumen útil de estanque de 5.4 m ³ , densidad de cultivo de peces de 35 kg/m ³	41
3.1.8	Análisis de las tasas de remoción.....	41
3.1.8.1	Tasas de nitrificación.....	42
3.1.9	Análisis de la composición de la biomasa	43
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
4.1	Análisis preliminares	45

4.1.1	Evaluación preliminar de biofiltro en operación.....	45
4.1.2	Biodegradabilidad del efluente acuícola.....	46
4.2	Seguimiento de la operación del MBBR.....	48
4.2.1	Cultivo de peces	48
4.2.2	Seguimiento del reactor.....	50
4.2.2.1	Temperatura y pH	50
4.2.2.2	Oxígeno disuelto.....	51
4.2.3	Remoción de N-NH ₄	52
4.2.3.1	Tiempo de retención celular	55
4.2.4	Asimilación de nitrógeno.....	56
4.2.5	Remoción de materia orgánica	59
5	CONCLUSIONES	62
6	REFERENCIAS.....	63
	Anexos.....	a
	Anexo A1 .- Diseño de MBBR	a
	Anexo A2.- Modificaciones del filtro.....	b
	Anexo A3.- Preinoculación	d

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 2.1 Tasas de producción mundial de pesca de captura y acuicultura (FAO, 2012).</i>	6
<i>Figura 2.2 Fotografía de <i>Oreochromis niloticus</i> (Fuente: <i>fishbase.org</i> en Froese y Pauly, 2014).</i>	7
<i>Figura 2.3 Relación de amoníaco libre ($N-NH_3$) a diferentes condiciones de pH y temperatura (Timmons y Ebeling, 2010)</i>	11
<i>Figura 2.4 Formas de carbono inorgánico a diferentes valores de pH (Henry y Heike, 1999)</i>	13
<i>Figura 2.5 Diagrama de unidades de proceso en un RAS (Timmons y Ebeling, 2010)</i>	17
<i>Figura 2.6 Flujos de masa en un sistema RAS (Timmons y Ebeling, 2010)</i>	18
<i>Figura 2.7 Sistema de agitación de un MBBR en a) Reactor aerobio; b) Reactor anaerobio (Rusten et al., 2006)</i>	20
<i>Figura 2.8 Soporte de polietileno Kaldnes® K1 (Fuente: AnoxKaldnes™)</i>	21
<i>Figura 2.9 Estructura de una biopelícula (Characklis y Marshall, 1989)</i>	23
<i>Figura 3.1 Diagrama de flujo correspondiente al diseño experimental</i>	31
<i>Figura 3.2 Sistema de recirculación acoplado al sistema externo de la granja acuícola de la UMSNH</i>	32
<i>Figura 3.3 Reactores batch para análisis de biodegradabilidad</i>	35
<i>Figura 3.4 Tren de tratamiento</i>	38
<i>Figura 3.5 Fotografía del reactor en la que se aprecia el sistema de tratamiento.</i>	38
<i>Figura 4.1. Perfil de remoción de DQO</i>	46
<i>Figura 4.2 Velocidad de consumo de sustrato</i>	47
<i>Figura 4.3 Tasa de alimentación proporcionada a los peces durante el periodo de estudio</i>	49
<i>Figura 4.4. Relación de densidad y número de peces por corrida experimental</i>	49

<i>Figura 4.5 pH y temperatura en el reactor de lecho móvil, durante la experimentación</i>	<i>50</i>
<i>Figura 4.6 Concentraciones de OD en el reactor de lecho móvil durante la experimentación</i>	<i>52</i>
<i>Figura 4.7 Relación de la carga amoniacal con las tasas de remoción de NAT y acumulación de sólidos en biopelícula</i>	<i>54</i>
<i>Figura 4.8 Tiempo de retención celular</i>	<i>56</i>
<i>Figura 4.9 Relación de nitrógeno asimilado y tasas de nitrificación en la biomasa formada.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 4.10 Composición de la biomasa formada.....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 4.11. Relación de tasas de remoción de DQO con sólidos volátiles en biopelícula</i>	<i>60</i>
<i>Figura A.1. Sifones en estanque</i>	<i>b</i>
<i>Figura A.2. Filtración de sólidos grandes a) Malla 40µm; b) Trampa de arena.....</i>	<i>c</i>
<i>Figura A.3 Instalación de tubería y aireación en el reactor: a) Instalación de difusores; b) Pruebas de concentración de oxígeno y movimiento; c) Adaptación con material de soporte Kaldnes.....</i>	<i>c</i>
<i>Figura A.4 Inóculo a) Preinóculo; b) Día cero; c) Día 40 y d) Día 81.....</i>	<i>d</i>

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Comparación del valor nutricional de la carne de pescado y de otros animales comestibles (Fuente: Modificado de Bocek, 2000).....	6
Tabla 2.2 Parámetros de calidad del agua para lograr una buena sobrevivencia, crecimiento y reproducción de tilapia (Beveridge y McAndrew, 2000).	8
Tabla 2.3. Uso de agua por kg de producción acuícola (Timmons y Ebeling, 2010)	16
Tabla 2.4 Comparación de sistemas de biofiltración de lecho sumergido y lecho móvil (MBBR)	19
Tabla 2.5. Características de plásticos y nitrificación (Stephenson et al., 2013)	21
Tabla 2.6. Datos sobre material Kaldnes® (Rusten et al., 2006)	22
Tabla 3.1 Características del material de soporte utilizado en el biofiltro de lecho sumergido (Viveros, 2013)	33
Tabla 3.2 Métodos de análisis utilizados en el estudio	34
Tabla 3.3 Características del operación del biofiltro por etapa (Viveros, 2013)	34
Tabla 3.4. Corridas en reactores batch	36
Tabla 3.5. Dimensiones del sistema de tratamiento de agua en el RAS	37
Tabla 3.6 Cargas de trabajo en sistemas MBBR para acuicultura	40
Tabla 3.7. Protocolo experimental de corridas en reactor MBBR	41
Tabla 3.8 Métodos de análisis de calidad del agua utilizados en este estudio	42
Tabla 4.1 Resultados de la evaluación de parámetros de calidad del agua para efluente acuícola en el filtro sumergido.	45
Tabla 4.2 Cargas experimentales probadas en la experimentación	53
Tabla 4.3 Concentraciones de compuestos de nitrógeno en la entrada y salida del reactor en las corridas experimentales	53

<i>Tabla 4.4 Concentraciones de DQO total en la entrada y salida del reactor</i>	<i>59</i>
<i>Tabla 4.5. Concentraciones de DQO soluble en la entrada y salida del reactor</i>	<i>59</i>
<i>Tabla A.1 Condiciones de diseño para MBBR (Timmons y Ebeling, 2010)</i>	<i>a</i>

NOTACIÓN

RAS = Sistemas acuícolas con recirculación

MBBR = Biorreactor de lecho móvil

AOB = Bacterias Amonio Oxidantes

NOB = Bacterias Nitrito Oxidantes

EPS = Exopolisacáridos

SMP = Productos metabólicos solubles

NAT = Nitrógeno amoniacal total

DQO = Demanda química de oxígeno

STbp = Sólidos totales en biopelícula

SVbp = Sólidos volátiles en biopelícula

SST = Sólidos suspendidos totales

SSV = Sólidos suspendidos volátiles

N-NO₃⁻ = Nitrógeno de nitratos

N-NO₂⁻ = Nitrógeno de nitritos

NTK = Nitrógeno total Kjeldahl

PS = Polisacáridos

PN = Proteínas

VTR = Tasa volumétrica de nitrificación

ATR = Tasa de nitrificación con respecto al área superficial

RESUMEN

Los sistemas acuícolas con recirculación, requieren de procesos de tratamiento de agua eficientes en la remoción de contaminantes, para poder reusarla en el cultivo acuícola. En estos sistemas el contaminante de mayor interés es el nitrógeno amoniacal no ionizado, que debe mantenerse a bajas concentraciones ($<0.025\text{mg/L}$) por su toxicidad para los peces. En este proyecto se trabajó con un reactor de lecho móvil (MBBR) acoplado a un sistema acuícola con recirculación. En este tipo de reactores, el tratamiento se realiza por biomasa fija en un material de soporte para crecimiento; se utilizó material Kaldnes k1[®], el cual tiene una densidad de área superficial de $500\text{ m}^2/\text{m}^3$. Se trabajó operando el reactor con cinco cargas amoniacales de 51.2, 56.2, 64.0, 75.7 y $80.9\text{ mg}_{\text{N-NH}_4}/\text{m}^2\text{d}$. Se determinaron las tasas de remoción de nitrógeno amoniacal total (NAT), obteniendo un porcentaje de remoción de hasta el 84% de NAT. Paralelamente se determinó el porcentaje de asimilación de nitrógeno en la biomasa (biopelícula), así como el contenido de sólidos volátiles (SV), proteínas (PN) y polisacáridos (PS) en la misma. Los resultados muestran que los SV y las tasas de remoción son directamente proporcionales a la carga amoniacal, en el intervalo de cargas aplicadas en este trabajo.

La cantidad de SV, PN Y PS en la biopelícula se relaciona linealmente con las tasas de remoción de NAT; sin embargo, al estimar las tasas de asimilación específica, se obtuvo una relación inversamente proporcional, resultado de la formación de compuestos de almacenamiento. La cantidad de PS en la biomasa muestra una relación directamente proporcional a la cantidad total de biomasa en el reactor y, una relación inversamente proporcional del contenido de PN en la biomasa.

Se concluye que las condiciones de operación más recomendables para la operación de un reactor de lecho móvil sería: con altas CA, pero bajas CO, con objeto de orientar la asimilación de nitrógeno amoniacal hacia la síntesis de productos de reserva de energía en la biomasa y tener baja producción de lodos residuales.

Palabras clave: Sistemas acuícolas recirculados, tasas de remoción de amonio, asimilación de nitrógeno amoniacal, composición de la biopelícula.

ABSTRACT

Recirculating aquaculture systems, require efficient water treatment processes in order to remove pollutants, allow the water reuse in aquaculture. In these wastewater treatment systems, the unionized ammonia nitrogen, is considered as most importante contaminant, which must be maintained at concentrations below 0.025mg/L, due to its toxicity to fish. In this project, the experiment was carried out in a moving bed biofilm reactor (MBBR), coupled to a recirculating aquaculture system. In such reactors, the treatment is performed by fixed biomass grown on the plastic material support. In this experiment il was used K1® Kaldnes material, which has a surface area density of 500 m²/m³. The ammonia loading experimental conditions were: 51.2, 56.2, 64.0, 75.7 and 80.9 mg_{N-NH4}/m²·d. Removal rates of total ammonia nitrogen were determined, obtaining a removal percentage up to 84% of NAT.

The percentage of nitrogen assimilation in biomass (biofilm) and the content of proteins (PN) and polysaccharide (PS) in biomass (VS), were determined. The results show that the SV and removal rates are directly proportional to ammonia load, under the operatinng conditions of this experiment. The amount of SV, PN and PS in the biofilm are linearly related to the removal NAT removal rates. On the other hand, the synthesis of storage compounds showed an inverse relationship to the specific NAT assimilation rates.

It is concluded , that the most suitable operating conditions of a moving bed biofilm reactor would be: high ammonia loading, but low organic loading, in order to drive the ammonia nitrogen assimilation to the synthesis of biomass storage compounds as well as to get low waste sludge production.

Keywords: Recirculating aquaculture systems, ammonia removal rate, ammonia assimilation rates, biofilm composition.

1 INTRODUCCIÓN

El acelerado crecimiento de la población y el consecuente consumo de recursos para satisfacer sus requerimientos. Cada vez es más importante hacer un uso eficiente de los recursos naturales, con el fin de garantizar su suministro para generaciones futuras. El uso sustentable del agua y el tratamiento y reutilización de las aguas residuales, resultan una alternativa para garantizar su abastecimiento en la sociedad contemporánea, particularmente en las actividades que demandan un alto consumo y por ello generan un impacto ambiental importante.

En materia de acuicultura, el uso de sistemas de recirculación de agua es una tecnología relativamente reciente y de gran impacto en los sistemas de producción. El principio general de éste tipo de sistemas consiste en la recirculación completa del agua utilizada (con una mínima tasa de recambio) en los tanques de cultivo, pasando por un tratamiento físico y biológico, de tal forma que sean removidos aquellas sustancias químicas que resultan tóxicas para las especies cultivadas. En los tanques de cultivo acuícola, el nitrógeno amoniacal total (NAT) es uno de los contaminantes de mayor interés, ya que resulta tóxico, incluso a bajas concentraciones (Timmons *et al.*, 2010). Consecuentemente, también es el principal parámetro de diseño de los Sistemas Acuícolas Recirculados (RAS por sus siglas en inglés). El nitrógeno amoniacal puede encontrarse en forma ionizada o no ionizada, siendo ésta última la que aporta mayor toxicidad al sistema. Cabe resaltar que la presencia de éstas, depende de las condiciones de operación en el tanque de producción y en el sistema de tratamiento.

El tratamiento de aguas residuales, particularmente de los contaminantes de tipo orgánico y que se encuentran en forma disuelta, se realiza por medio de procesos biológicos, en los cuales los microorganismos son capaces metabolizar los contaminantes que se desea remover del agua residual. Los microorganismos tienen la capacidad de formar agregados celulares de forma natural, ya sean flóculos o biopelículas, lo cual les ofrece beneficios como la protección ante condiciones que pueden afectar su crecimiento y contra depredadores. Los reactores de lecho móvil son sistemas, en los cuales la biopelícula se fija sobre materiales de soporte en movimiento, que ofrecen una gran área superficial para su crecimiento. Los reactores de biopelícula son considerados como sistemas estables, que pueden trabajar con altas concentraciones de biomasa y que pueden alcanzar altas tasas de remoción de contaminantes o de asimilación de nutrientes.

La base para el funcionamiento adecuado de éste tipo de sistemas consiste en el conocimiento profundo de los procesos biológicos realizados por los microorganismos, así como de la dinámica de las poblaciones presentes en el reactor. En cultivos acuícolas con sistemas de tratamiento recirculado, su funcionamiento se basa en la nitrificación por medio de bacterias oxidantes de nitrógeno.

En el presente trabajo se utilizó un sistema de tratamiento de agua que incluye un reactor biológico de lecho móvil, para el tratamiento del efluente acuícola, proveniente de un cultivo acuícola de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Se estudian las tasas de remoción de contaminantes en el sistema de biomasa fija, estudiando la asimilación de nutrientes en la biomasa, por medio de análisis de sus características, bajo diferentes condiciones de carga amoniacal.

OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Analizar la tasa de remoción de nitrógeno amoniacal, por nitrificación y asimilación, de la biopelícula, de un reactor de lecho móvil, en un sistema acuícola recirculado.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Evaluar la eficiencia global de remoción de contaminantes, en el biofiltro de lecho sumergido, acoplado a un sistema acuícola con recirculación.
- b) Rediseñar el biofiltro, para transformarlo en un reactor de lecho móvil.
- c) Evaluar la biodegradabilidad del efluente acuícola.
- d) Evaluar las tasas de nitrificación y asimilación de nitrógeno amoniacal, en el reactor de lecho móvil.
- e) Analizar la composición de proteínas y polisacáridos, en la biopelícula del reactor de lecho móvil.

HIPÓTESIS

La asimilación de nitrógeno en la biopelícula de un reactor de lecho móvil, para el tratamiento de agua en un sistema acuícola con recirculación, incrementará la remoción de nitrógeno amoniacal por nitrificación.

JUSTIFICACIÓN

La acuicultura es una de las actividades económicas con mayor potencial de crecimiento en la actualidad, el cual aporta grandes beneficios económicos y sociales, pero de la misma forma puede ocasionar un impacto ambiental negativo, por la gran cantidad de agua que requiere. La implementación de sistemas de recirculación en cultivos acuícolas, surgió como una alternativa en el tratamiento de los efluentes, la cual es una de las tecnologías que requiere mayor control la calidad del agua. Por ello es de suma importancia estudiar a fondo los procesos de tratamiento para la remoción de contaminantes en este tipo de efluentes.

El amoníaco, como residuo principal de los efluentes acuícolas, resulta tóxico en pequeñas concentraciones para los peces, por lo cual debe asegurarse la remoción en una alta proporción, siendo así un factor de control en el diseño de éste tipo de sistemas, principalmente por la etapa biológica, es por ello que en este trabajo se estudian los procesos de asimilación y nitrificación, de tal modo que permitan diseñar mejor los sistemas de tratamiento para efluentes acuícolas con recirculación.

2 MARCO TEÓRICO

Acuicultura

2.1.1 Introducción a la acuicultura

La búsqueda de formas para satisfacer las necesidades de alimentación y nutrición en las poblaciones, en todos los tiempos, ha llevado a la explotación de recursos naturales de forma creciente. La acuicultura, entendida como el cultivo de animales y plantas acuáticos (El-Hage y Hattam, 2003; Arredondo y Lozano, 2003), toma una parte en el bienestar mundial, ya que éstos constituyen una fuente importante de nutrientes esenciales y de proteínas necesarias en una alimentación balanceada, siendo así una actividad económica de gran importancia para la población mundial.

Entre los factores más importantes a considerar en el desarrollo de los proyectos productivos de acuicultura, es necesario definir la especie o especies a cultivar, el tamaño del mercado, la talla comercial, la producción pesquera de la especie o especies que puedan competir en los mercados con las cultivadas, los productos similares, la temperatura óptima del crecimiento y reproducción, las facilidades de infraestructura, la calidad del agua, el alimento y su disponibilidad, así como los limitantes en el manejo y transporte de organismos e insumos (Arredondo y Lozano, 2003). Los acuicultores se encuentran modificando los diversos componentes del medio, para controlar a los organismos acuáticos. Ésta práctica se ha llevado a cabo por varios siglos y presenta diversas ventajas, como por ejemplo:

- *Alto valor nutricional de los productos acuícolas.* Los peces son fuente de proteínas esenciales, de gran calidad y digestibilidad. El contenido en grasas insaturadas es mayor y su consumo ayuda a reducir los niveles de colesterol en la sangre (Tabla 2.1). Aunque la acuicultura representa un gran consumo de agua, puede ser justificado debido a los grandes beneficios ésta actividad refleja.
- *El valor comercial de productos acuícolas.* La producción acuícola promete intensificar la producción con mejor distribución de la tierra, agua, mano de obra, equipo y otros capitales limitantes.

Tabla 2.1. Comparación del valor nutricional de la carne de pescado y de otros animales comestibles (Fuente: Modificado de Bocek, 2000)

Fuente de carne	Grasa comestible (%)	Energía (cal/100g _{tejido comestible})
Tilapia	<2	70
Res	34	323
Cerdo	42	402
Pollo	3	84

El sector acuícola se encuentra en constante crecimiento. Según datos de la FAO (2012), la pesca de captura y la acuicultura han alcanzado una producción de 154 millones de toneladas, de los que 131 millones de toneladas se destinaron a alimentos (Figura 2.1). La producción mundial de peces por acuicultura ha alcanzado, desde 1980, una tasa de media de crecimiento del 8.8%. En la actualidad se cultivan alrededor de 600 especies acuáticas por medio de acuicultura en el mundo, en diferentes condiciones de utilización de insumos y tecnologías (FAO, 2012). Es importante tomar en cuenta que toda ésta producción puede verse afectada por condiciones ambientales, socioeconómicas, tecnológicas y de origen natural.

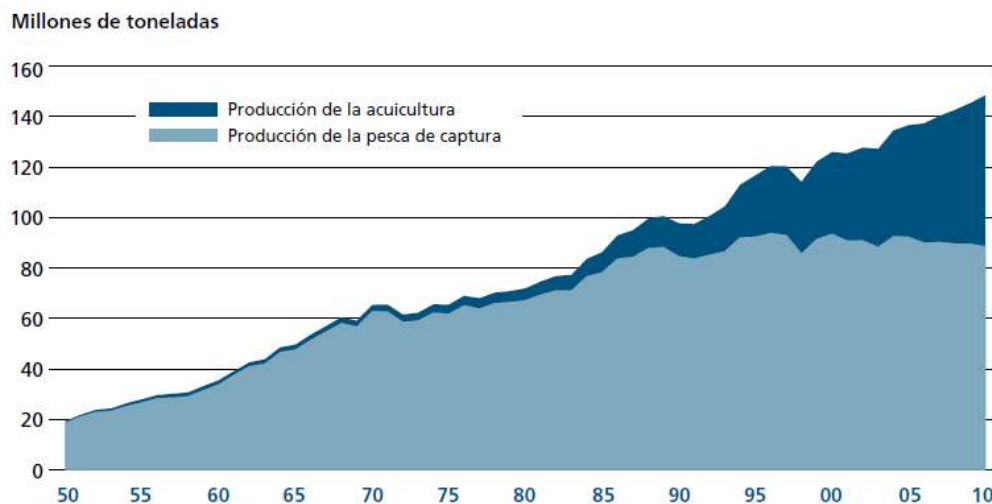


Figura 2.1 Tasas de producción mundial de pesca de captura y acuicultura (FAO, 2012).

México es considerado un país con gran diversidad ecológica, encontrando una amplia variedad de especies nativas y endémicas debido a los diversos cuerpos de agua con los que cuenta. Estas condiciones permiten que se cultiven diversas especies de peces, moluscos, crustáceos, anfibios,

reptiles, macrófitas acuáticas y microalgas. Las especies se cultivan en ambientes dulceacuícolas, salobres y marinos, utilizando distintas modalidades e intensidades tecnológicas (Arredondo y Lozano, 2003). Hoy en día la principal actividad acuícola se lleva a cabo en los estados del norte, principalmente Sonora y Sinaloa, sin embargo, está creciendo prácticamente en todo el territorio nacional. En cultivos de agua dulce, la producción de tilapia y carpa (*Oreochromis spp.* y *Cyprinus carpio*) oscila entre 100,000t anuales.

A pesar de que México ofrece condiciones favorables para el desarrollo de ésta actividad, se tienen algunos impedimentos que limitan un mayor desarrollo, como:

- Falta de antecedentes y experiencia en el área
- Falta de tecnología en este campo, que optimice los sistemas de producción
- Falta de sistemas de cultivo comercial establecidos para especies de interés en el país (e.g. tilapia, pescado blanco, camarón)
- La contaminación antropogénica de cuerpos de agua dulce y estuarios
- Carencia de promoción al desarrollo económico y social a través de la acuicultura

Dado que es una actividad potencialmente productiva e importante para la producción de alimento de alta calidad nutrimental, es importante trabajar para solventar estas limitantes y dar un mayor impulso a la acuicultura en nuestro país.

2.1.2 Cultivo de tilapia

La tilapia (*Oreochromis spp.*), corresponde a un grupo de especies de la familia Cichlidae (Figura 2.2). Fue introducida en México en 1964 y presenta características que les permiten desarrollarse en diversas condiciones climáticas.



Figura 2.2 Fotografía de *Oreochromis niloticus* (Fuente: *fishbase.org* en Froese y Pauly, 2014)

Su capacidad de adaptación es elevada, puede crecer y reproducirse en una gran variedad de cuerpos de agua del país, desde aguas blandas y poco mineralizadas, hasta aguas duras eutróficas. Aunque las tilapia son principalmente de aguas dulces, algunas especies pueden soportar incluso condiciones de salinidad elevados (*e.g. O. mossambicus*).

Las tilapias resisten una amplia gama de temperaturas, siendo su intervalo de tolerancia desde los 10 a los 42°C, lo que las hace relativamente de fácil manejo. En el caso del pH, las tilapias de diferentes especies pueden encontrarse en un rango muy amplio, desde 5 a 11, sin presentar efectos adversos; aunque el crecimiento óptimo se encuentra en valores de pH entre 7 y 9. Se reproducen a temprana edad, alrededor de las 8 o 10 semanas, teniendo una talla entre 7 a 16 cm, por lo que dificulta el control de la población de los estanques donde se cultiva. El oxígeno disuelto es una de las principales limitantes de crecimiento en el medio acuático. Las tilapias pueden tolerar una baja calidad de agua y bajas concentraciones de oxígeno disuelto. Pueden sobrevivir por corto tiempo expuestas a concentraciones de 0.1 mg/L o incluso menos. Sin embargo, se ha reportado que a valores de entre 2.3 y 3 mg/L de oxígeno disuelto, sufren depresión en el crecimiento (Beveridge y McAndrew, 2000), incluso reportan que hay una relación logarítmica inversa entre el peso corporal y la tasa de respiración.

Tabla 2.2 Parámetros de calidad del agua para lograr una buena sobrevivencia, crecimiento y reproducción de tilapia (Beveridge y McAndrew, 2000).

Parámetro	Unidades	Crítico	Ideal
Oxígeno	mg/L	<2	6
Salinidad	mg/L	<40	<10
Temperatura	°C	10 a 35	28 a 32
NAT	mg/L	>15	<3
NH ₃	mg/L	>1	<0.02
TSS	mg/L	>200	<20
BOD ₅	mg/L	>200	<5
CO ₂	mg/L	>20	<10
NO ₂	mg/L	>5	<1
NO ₃	mg/L	>500	<20
H ₂ S	mg/L		<1
Metales pesados	mg/L		<0.01

Debido a todas éstas condiciones, hoy en día el cultivo de tilapia puede asegurarse de tal forma que ésta especie sigue siendo una de las más cultivadas. No obstante, en los sistemas de cultivo, la producción de amonio necesita ser controlada dada su toxicidad. Las tasas de excreción de amoniaco aumentan bruscamente después de 1 a 5 horas de la alimentación, de tal forma que el tiempo para la máxima tasa de excreción de ésta sustancia post-alimentación, su magnitud y duración dependen del consumo de proteína por las especies en el cultivo. Por ello es importante mantener un buen control de la calidad del agua (Tabla 2.2).

2.1.3 Parámetros de calidad del agua

El intenso desarrollo de la acuicultura ha sido acompañado por el incremento en impacto ambiental. El proceso productivo genera efluentes con contaminantes, producidos debido a la actividad de peces, las técnicas de alimentación y organismos heterótrofos. Estos efluentes contienen residuos orgánicos e inorgánicos; nitrógeno soluble y particulado, fósforo, materia orgánica particulada y soluble, los cuales deben ser removidos del medio acuático, ya que su acumulación en los sistemas de cultivo, o su descarga en un cuerpo de agua natural, representa un riesgo para el cultivo o para la vida acuática y el ecosistema. Entre los principales factores de control en la calidad del agua se encuentra el oxígeno disuelto, nitrógeno amoniacal, nitratos, nitritos, pH, alcalinidad, salinidad y cantidad de sólidos.

- *Oxígeno disuelto*

La deficiencia de oxígeno disuelto (OD) es la principal razón de muerte en acuicultura, ya que el oxígeno es consumido a una tasa alta por parte de los peces. De forma general puede considerarse que el metabolismo de los peces requiere 0.25 unidades de oxígeno por cada unidad de alimento (Timmons y Ebeling, 2010). Además, debe considerarse que el funcionamiento adecuado de un filtro biológico para tratamiento depende de niveles adecuados para mantener el metabolismo de bacterias; cuando la nitrificación se lleva a cabo, la concentración de oxígeno disuelto tiene gran importancia tanto para bacterias oxidantes de amonio, como de nitritos, siendo necesario mantener una concentración de oxígeno disuelto por arriba de los 2 mg/L. La concentración de oxígeno determina la cantidad de nitratos formados en el proceso nitrificación. La acumulación de nitritos, a bajas concentraciones de oxígeno influye en la actividad de bacterias nitritoxidantes (NOB, por sus siglas en inglés) más significativamente que en la de las bacterias amonio oxidantes

(AOB), probablemente debido a que se libera mayor cantidad de energía por oxígeno consumido de AOB, en comparación de las NOB (Hulle *et al.*, 2010).

- Nitrógeno amoniacal

El nitrógeno es un nutriente elemental para los organismos vivos, ya que forma parte de proteínas, ácidos nucleicos, fosfato adenosinas, nucleótidos de piridina y pigmentos. En un sistema acuícola, existen diferentes fuentes de residuos nitrogenados, como la urea, el ácido úrico, los aminoácidos excretados por peces, residuos orgánicos de organismos muertos, alimento no ingerido, heces y gas nitrógeno de la atmósfera. Las necesidades fisiológicas pueden cubrirse a bajas concentraciones, por lo tanto el exceso se convierte en un residuo que debe ser removido. El nitrógeno amoniacal es el mayor residuo metabólico producido por peces. En el agua, éste se encuentra de dos formas; por una parte, el ión amonio (NH_4^+) o amonio ionizado y por otra, el amoniaco (NH_3) o amonio no ionizado (Nora'aini *et al.*, 2005), las cuales en conjunto se denominan nitrógeno amoniacal total (NAT). De todos los parámetros de calidad que afectan a los peces, el amoniaco es el más importante después del oxígeno. El amoniaco es una sustancia incolora, inodora y altamente soluble en agua, la cual puede ser acumulada en sistemas de acuicultura y causar mortalidad directa. Los peces expuestos a bajos niveles de amonio a través del tiempo son mayormente susceptibles a infecciones bacterianas, tienen bajo crecimiento y no toleran la rutina de manejo como deberían, debido a su falta de carga y a su liposolubilidad, lo cual facilita el transporte a través de la membrana celular (Crab *et al.*, 2007). Como regla general, la concentración de N-NH_3 debe mantenerse por debajo de 0.1 a 0.5 $\text{mg}_{\text{N-NH}_3}/\text{L}$. Medido como NAT, la concentración debe mantenerse por debajo de 3 $\text{mg}_{\text{N-NH}_4}/\text{L}$, sin embargo en algunos casos se ha reportado toxicidad desde 0.025 $\text{mg}_{\text{N-NH}_4}/\text{L}$, dependiendo de la especie y tamaño de los peces, además de la presencia de sólidos finos, orgánicos refractarios, compuestos activos en la superficie, metales y nitratos (Crab *et al.*, 2007).

La predominancia de cualquiera de las formas de amoniaco en los sistemas acuáticos depende principalmente de la temperatura y el pH; un aumento en sus valores hará que la proporción de N-NH_3 aumente, de tal forma que a 20°C y pH de 7, la fracción molar de N-NH_3 es de 0.4%, y a un pH de 10, éste valor asciende al 80% (Timmons y Ebeling, 2010) (Figura 2.3).

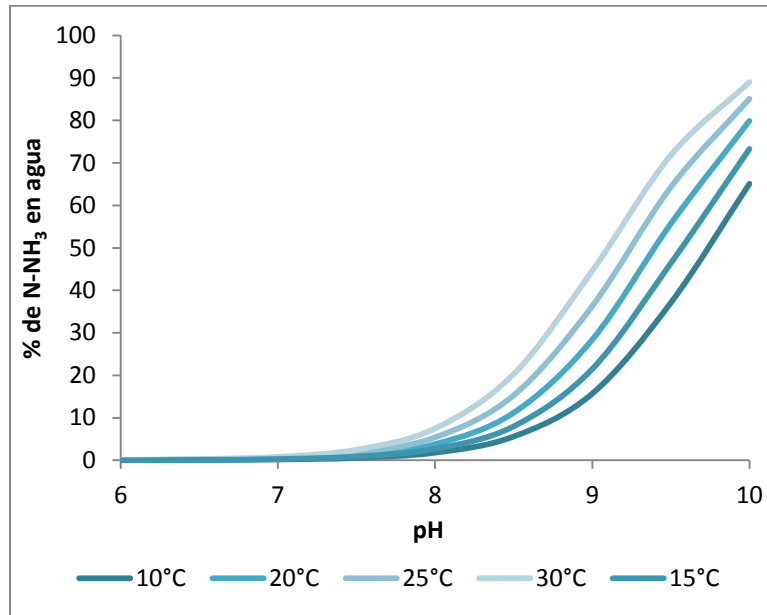


Figura 2.3 Relación de amoníaco libre ($N-NH_3$) a diferentes condiciones de pH y temperatura
(Timmons y Ebeling, 2010)

Timmons y Ebeling (2010) proponen una ecuación para estimar la tasa de generación de nitrógeno amoniacal total, basada en una tasa de alimentación de los animales, como:

$$P_{NAT} = \frac{F \cdot PC \cdot 0.092}{t}$$

Considerando la cantidad total de NAT excretada por día, dada una alimentación uniforme. La constante de 0.092 está dada en función del producto de las siguientes estimaciones:

- 16% (proteínas tienen 16% de nitrógeno),
- 80% del nitrógeno es asimilado,
- 80% del nitrógeno asimilado es excretado,
- 90% del nitrógeno excretado como NAT, y
- 10% como urea (peces de agua dulce)

Además:

- El nitrógeno no asimilado en heces se remueve rápidamente
- No hay compuestos nitrogenados adicionales de mineralización.

Ésta concentración representa una alta tasa de producción conservativa de NAT (P_{NAT}).

- *Nitratos*

Los nitratos (N-NO_3^-) son considerados los compuestos del nitrógeno con menor toxicidad en el estanque, y son originados como producto final de nitrificación. Los nitratos generalmente no son de gran interés para los acuicultores, ya los peces pueden tolerar concentraciones hasta de 1000 $\text{mg}_{\text{N-NO}_3^-}/\text{L}$ en los sistemas de producción (Timmons y Ebeling, 2010). En RAS, los niveles de nitrato generalmente son controlados por los intercambios de agua o altos tiempos de retención en los cuales se propicia la desnitrificación.

- *Nitritos*

Aunque el nitrógeno de nitritos no es tan tóxico como el nitrógeno amoniacal, es perjudicial para especies acuáticas y debe removerse del sistema. Los nitritos (N-NO_2^-) se originan en un paso intermedio de la oxidación de amoníaco a nitrato en la nitrificación. Éstos pueden ser tolerados en altos niveles, por especies acuáticas, aunque en la mayoría de los casos, son adversamente afectados por largos tiempos de exposición a bajos niveles ($<0.2 \text{ mg}_{\text{N-NO}_2^-} / \text{L}$) (Schreier *et al.*, 2010). Se considera que los nitritos son relativamente rápido convertidos a nitrato, ya sea por ozono o por bacterias nitrificantes en un biofiltro adecuadamente controlado.

- *Dióxido de carbono*

La mayor concentración de dióxido de carbono (CO_2) se produce por respiración de los peces y la descomposición de materia orgánica. El CO_2 es una sustancia muy soluble en agua, su concentración es proporcional a la alcalinidad en los rangos normales de pH encontrados en acuicultura, entre 6 y 8.5. La concentración de CO_2 en el estanque debida a la atmósfera se considera baja debido a su baja concentración en la misma (0.035% en volumen).

La generación de CO_2 se basa en la estequiometría, por la relación de producción relativa de CO_2 con respecto al consumo de oxígeno (44/32), de tal forma que se producen 1.375 gramos por cada gramo de oxígeno consumido por peces y bacterias (Timmons y Ebeling, 2010). Los peces de aclimatan a niveles de CO_2 de 20 mg/L y pueden morir si son expuestos a un repentino incremento de 80 mg/L de CO_2 , mientras otros peces pueden exhibir un buen crecimiento y tasas de conversión de alimento a un nivel de hasta 80 mg/L de CO_2 .

- *pH*

El pH es una variable determinante en la solubilidad de sustancias y el equilibrio de reacciones en un medio acuático. En acuicultura se considera un factor importante en la relación entre la relación de la forma ionizada y no ionizada del amoníaco y la presencia de nitritos. El metabolismo de los peces y la nitrificación dan como resultado la formación de ácidos que reducen la capacidad de amortiguamiento del agua y disminuyendo el pH del medio. La mayoría de los peces toleran valores de pH entre 5 y 10; sin embargo, se recomiendan valores entre 6.5 y 8.5 (Timmons y Ebeling, 2010). Aunque existe un alto rango de divergencia en cuanto a los efectos reportados en nitrificación dada una variación de pH, existe un consenso de que el valor óptimo tanto para AOB como para NOB, se encuentra entre 7 y 8. La preferencia de AOB por medios alcalinos probablemente se deba al hecho de que estos organismos utilizan el NH_3 como un sustrato (Hulle *et al.*, 2010), mientras a ciertos valores de pH el NH_3 y HNO_2 , pueden exhibir efectos inhibitorios. Por debajo de valores de pH de 7, la velocidad de nitrificación decrece.

- *Alcalinidad*

La alcalinidad es una medida de la capacidad de amortiguamiento o capacidad de neutralización de ácidos. Los iones principales que contribuyen a la alcalinidad son carbonato (CO_3^{2-}) y bicarbonato (HCO_3^-). La alcalinidad de aguas dulces varía desde menos de 5 mg/L en agua suave hasta 500 mg/L, dependiendo de la geología del acuífero. La alcalinidad requerida entonces depende del pH del medio y las concentraciones de CO_2 (Figura 2.4).

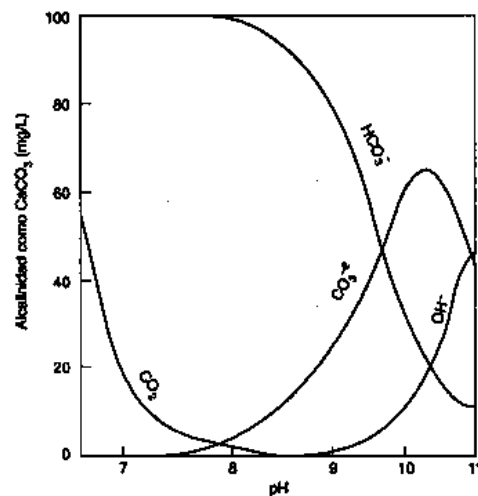


Figura 2.4 Formas de carbono inorgánico a diferentes valores de pH (Henry y Heike, 1999)

La alcalinidad en un cultivo acuícola puede ajustarse fácilmente, a través de la adición de bicarbonato de sodio (NaHCO_3). En la nitrificación se consumen 7.05 gramos de alcalinidad por cada gramo de N-NH_3 reducido a N-NO_3^- . En sistemas de acuicultura, los niveles tanto de alcalinidad, como de CO_2 disuelto, determinan obtener valores óptimos de pH de cultivo para las especies acuáticas.

- *Salinidad*

Dependiendo de la cantidad de sales en el agua, ésta puede clasificarse como dulce, salobre o salada, aunque no hay límites claros en cuanto a la caracterización de cada uno de éstos tipos. Los peces mantienen la concentración de sales disueltas en sus fluidos corporales, regulando el intercambio de iones del ambiente. Cada especie tiene un rango óptimo para reproducción, crecimiento, aunque la tolerancia de la mayoría de las especies acuáticas es bastante amplia. En los sistemas de agua dulce generalmente se mantienen una concentración entre 2 y 3 ppt (Timmons y Ebeling, 2010).

- *Sólidos*

Los sólidos en el sistema de cultivo son originados como residuos de alimento, materia fecal, algas, y residuos celulares, entre otros. Éstos pueden clasificarse en sólidos sedimentables, sólidos suspendidos y sólidos disueltos. Diferentes estudios indican que los peces producen entre 0.3 y 0.4 kg de sólidos suspendidos totales (SST) por cada gramo de alimento, siendo la principal fuente de demanda química de oxígeno y nutrientes en el sistema. En la operación normal de un cultivo acuícola en agua dulce, se recomiendan valores de 25 $\text{mg}_{\text{SST}}/\text{L}$ (Timmons y Ebeling, 2010). La tilapia puede tolerar concentraciones de hasta de 80 $\text{mg}_{\text{SST}}/\text{L}$, si los otros parámetros están ajustados.

- *Otros*

El nitrógeno y el fósforo estimulan el crecimiento de algas y otras formas de vida fotosintéticas, contaminando los cuerpos de agua superficial en las descargas. Aproximadamente el 80% del fósforo en residuos de acuicultura se encuentra en forma sólida como heces y alimento no ingerido. La mayoría de las descargas de fósforo de sistemas de acuicultura (50-80%) se encuentra en la fracción de sólidos sedimentables (Nora'aini *et al.*, 2005).

Sistemas Acuícolas Recirculados (RAS)

2.1.4 Introducción a los sistemas de recirculación en acuicultura

El cultivo de peces en sistemas controlados, usando sistemas de recirculación (RAS por sus siglas en inglés: recirculating aquaculture systems), constituye una tecnología útil en el tratamiento de aguas residuales. Los países Europeos, como Reino Unido, Irlanda, Italia y Noruega, promueven los sistemas de recirculación como una opción para el desarrollo de la acuicultura, ya que son capaces de recircular 90-99 % del consumo de agua y permiten un mejor control sobre el medio y parámetros de calidad del agua, optimizando el cultivo de peces (Badiola *et al.*, 2012).

La acuicultura implica la demanda de tratamiento de grandes cantidades de agua, en la cual se requieren mantener un proceso eficiente de nitrificación, desnitrificación y remoción de materia orgánica (Wik *et al.*, 2009). El alimento usado en la producción en acuicultura se encuentra formado por proteínas, carbohidratos, grasas, minerales y agua. Una parte es asimilada por los peces al ser ingerida, y otra, la porción no asimilada, es excretada como un residuo orgánico (sólidos fecales). Cerca del 36% de la alimentación se excreta como residuo orgánico y el 75% de la alimentación de nitrógeno y fósforo no se utiliza y se mantiene como desperdicio en el agua (Crab *et al.*, 2007). Los alimentos no ingeridos y los subproductos metabólicos que permanecen en el sistema de cultivo, generan CO₂ y N-NH₃, reduciendo el contenido de oxígeno disuelto en el agua debido a la degradación bacteriana, contribuyendo a la acumulación de sedimentos en el fondo, y por lo tanto, un alto contenido de nutrientes que perjudica la calidad el agua y por ende en la salud de los peces (Losordo *et al.*, 1998). En los RAS, los nutrientes residuales son parcialmente liberados desde la matriz orgánica o bien, inmovilizados en biomasa bacteriana, constituida por bacterias heterótrofas y autótrofas, que degradan los contaminantes (Schneider *et al.*, 2005).

Un RAS requiere menos del 10% del agua de “recambio”, fundamentalmente por evaporación y mucho menos espacio en estanques, para cultivar la misma cantidad de peces, que cuando no se tiene recirculación. En un sistema de cultivo se puede incrementar la productividad de 6 hasta 48 kg de peces anualmente por cada L/min de agua (Timmons y Ebeling, 2010).

Estos sistemas también ofrecen la ventaja de mantener a los peces en un ambiente monitoreado, permitiendo el desarrollo de productos controlados. Ésta tecnología es adaptable a especies,

permitiendo a los operadores utilizar el proceso según las necesidades del mercado. Wik y colaboradores (2009) menciona las siguientes propiedades de un sistema de recirculación:

- La remoción de nutrientes eutroficadores y material orgánico puede reducirse a niveles mínimos, siempre que haya un proceso de tratamiento de agua eficiente como parte del sistema.
- Se reduce el riesgo de afectaciones por microorganismos patógenos, dado el control y la biodiversidad en el sistema.
- Se puede lograr una estabilidad en la biomasa, disminuyendo los problemas asociados a fluctuaciones en concentración de nutrientes y función incorrecta de poblaciones.
- Presencia de un ambiente bacteriano adecuado, consecuencia de las condiciones de operación y la función de todas las unidades en el sistema de recirculación.

Otras ventajas son se pueden escalar en forma relativamente fácil y que son ventajosamente económicos por unidad de volumen.

Tabla 2.3. Uso de agua por kg de producción acuícola (Timmons y Ebeling, 2010)

Especie y sistema	Intensidad de producción (kg/ha·año)	Agua requerida (L/kg)	Espacio	Agua
<i>O. niloticus</i> (tilapia del Nilo) RAS	1,340,000	100	1	1
<i>O. niloticus</i> (tilapia del Nilo) Estanque	17,400	21,000	77	210
<i>I. punctatus</i> (Bagre de canal) Estanque	3,000	3,000 – 5,000	448	400
<i>S. gairdneri</i> (Trucha arcoíris) Canal	150,000	210,000	9	2,100
Camarones Panaeid Estanque	4,200 – 11,000	11,000 21,340	177	160

2.1.5 Diseño y operación de un RAS

Durante la recirculación, el oxígeno es transportado en un tanque de cultivo de peces y los residuos producidos deben ser removidos. Los subproductos del metabolismo de peces, CO_2 , N-NH_3 y los sólidos fecales. Los sólidos suspendidos, son removidos principalmente utilizando sedimentadores, filtros de pantalla o medios granulares (arena o medio de bolas) (Losordo *et al.*, 1998). Los sólidos suspendidos finos ($<30 \mu\text{m}$) normalmente no son removidos a través de estos procesos de separación y contribuyen a más de un 50% del total de sólidos suspendidos en el sistema de recirculación. El diseño y operación de un RAS requiere un conocimiento sólido de muchas unidades de proceso y operaciones involucradas (Figura 2.5).

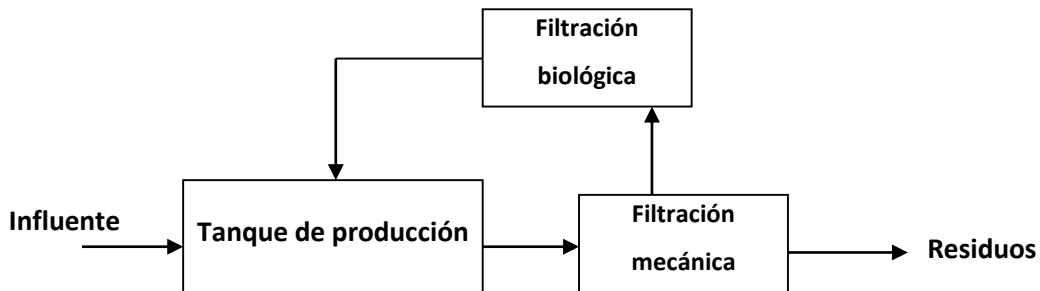


Figura 2.5 Diagrama de unidades de proceso en un RAS (Timmons y Ebeling, 2010)

El diseño de éste tipo de sistemas debe asegurar que los parámetros importantes, que afectan la calidad del agua y la productividad de los peces, como el oxígeno, amoníaco, dióxido de carbono y sólidos suspendidos se encuentran completamente balanceados.

La ecuación de balance de masa de cada uno de ellos en el sistema en condiciones estables puede describirse como:

$$Q_1 C_2 + Q_0 C_0 + P = Q_0 C_1 + Q_1 C_1$$

Donde Q_0 y Q_1 son los flujos de entrada de agua limpia y de reciclaje respectivamente, expresadas como L/d y C_0 y C_2 son las concentraciones del parámetro en la entrada de agua limpia y de

reciclaje respectivamente, expresadas generalmente como mg/L (ppm) y P el término de producción de parámetro en el sistema.

En un RAS toda el agua es recirculada y no hay descargas, así que $Q_{\text{entrada}} = Q_{\text{salida}}$ (Figura 2.6). Entonces se tiene lo siguiente ecuación de balance de materia:

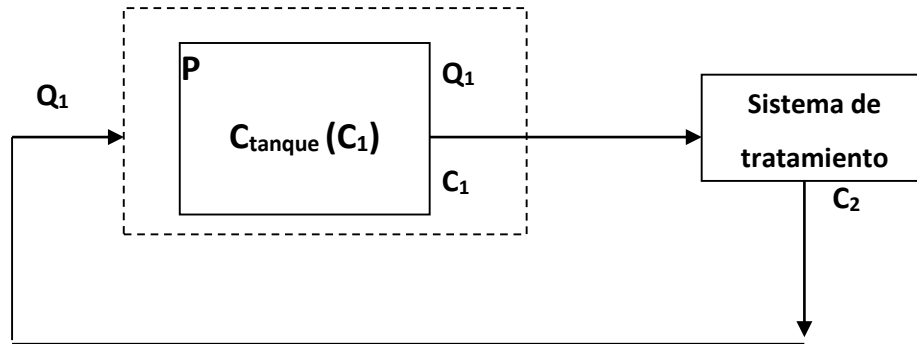


Figura 2.6 Flujos de masa en un sistema RAS (Timmons y Ebeling, 2010)

$$Q_1 C_2 + P = Q_1 C_1$$

El cálculo de las concentraciones de cada parámetro de calidad del agua que sale del tratamiento (C_2), es un indicativo del flujo de masa necesario de cada parámetro de calidad del agua. Al tener los cálculos necesarios, el sistema se diseña y se debe operar, con los flujos de agua más bajos, que permitan mantener el valor adecuado de los parámetros de control, al valor de diseño.

2.1.6 Reactores de lecho móvil (MBBR)

Un reactor de lecho móvil (Moving Bed Biofilm Reactor, MBBR), es un modelo que utiliza las ventajas de lodos activados y los del proceso de biofiltración, tienen poca pérdida de carga hidráulica, bajos tiempos de retención hidráulica y altos tiempos de retención celular (Rusten *et al.*, 2006; Alves *et al.*, 2002). La mayor parte del conocimiento actual sobre la operación de los MBBR han sido obtenidos a través de estudios de tratamiento de agua, por medio del monitoreo unidimensional de parámetros fisicoquímicos (Zhang *et al.*, 2013), es por ello que es importante evaluar las diferentes aplicaciones en las que se pretende usar y en condiciones más cercanas a las condiciones reales de operación, mediante reactores a escala piloto.

El proceso consiste en la adición de pequeños elementos de polietileno con densidad específica menor a la del agua (aproximadamente 0.96g/cm^3), en un reactor aireado y completamente

mezclado, para mantener el crecimiento de biopelícula debido a que proveen una alta densidad de área superficial (*i.e.* 500 m²/m³). Un MBBR, a comparación de un biofiltro de lecho sumergido, no requiere recirculaciones o retrolavados, por lo tanto pueden ser operados en continuo, además de no tener pérdidas de carga y problemas de taponamiento (Zhang *et al.*, 2013). En la tabla 2.4 se muestra una comparación de los sistemas MBBR con un sistema de biofiltración por lecho sumergido.

Tabla 2.4 Comparación de sistemas de biofiltración de lecho sumergido y lecho móvil (MBBR)

Parámetros	Biofiltro de	Biofiltro de lecho	Referencia
	lecho sumergido	móvil (MBBR)	
Tasa de remoción de NAT por superficie específica (g/m ² .d)	0.46	0.27	(Suhr y Pedersen, 2010)
Tasa volumétrica de remoción de NAT (g/m ³ .d)	206	88	(Suhr y Pedersen, 2010)
Área superficial relativa (m ² /m ³)	200	850	(Suhr y Pedersen, 2010)
Eficiencia de remoción de DBO ₅ (%)	50 - 70	85 - 99	(Suhr y Pedersen, 2010)
Taponamiento ("clogging")	SI	NO	(Zhang <i>et al.</i> , 2013)
Pérdida de carga	Mayor	Menor	(Zhang <i>et al.</i> , 2013)
Funcionamiento	Discontinuo	Continuo	(Rusten <i>et al.</i> , 2006)

La operación del sistema de tratamiento de agua requiere un clarificador para sedimentar sólidos desprendidos; éste tipo de sistemas tiene ventajas para el sistema de tratamiento ya que reduce la carga de sólidos en el clarificador (Metcalf y Eddy, 2003), y pueden operarse en condiciones aerobias, anaerobias o anóxicas. La turbulencia es importante para el transporte advectivo de nutrientes. Las condiciones hidrodinámicas afectarán a las propiedades físicas de la biopelícula y a su vez, a las tasas de consumo en los reactores. La velocidad de circulación y las condiciones del mezclado se verán afectados por la geometría del reactor, la tasa de suministro de aire y la densidad de partículas de soporte con biopelícula (Orantes, 2001). En condiciones aerobias, el movimiento se origina debido a las corrientes de aire suministrado, mientras que en condiciones anaerobias o anóxicas, se lleva a cabo por medio de un mezclador (Figura 2.7).

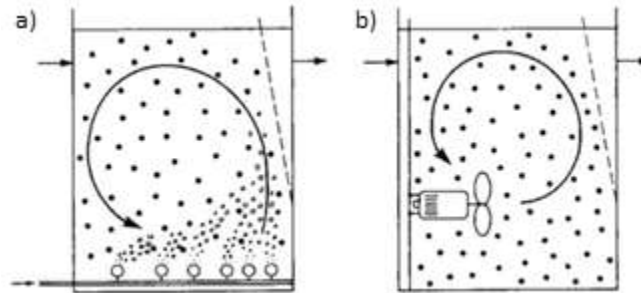


Figura 2.7 Sistema de agitación de un MBBR en a) Reactor aerobio; b) Reactor anaerobio (Rusten *et al.*, 2006)

El volumen de llenado de elementos representa una ventaja, ya que es calculado a preferencia del diseñador, aunque se recomienda que éste no exceda del 70% del reactor. Finalmente, después del reactor biológico, también es necesario implementar un proceso de separación para retener los sólidos que se desprendieron de la biopelícula (Rusten *et al.*, 2006).

2.1.7 Material de soporte

El material de soporte o material de empaque en un sistema de biomasa fija, debe proveer condiciones adecuadas para el desarrollo de la población microbiana, así como tener ciertas propiedades estructurales, que le permitan resistir las condiciones físicas, químicas y biológicas a las que va a ser sometido durante la operación. Para tener un tratamiento adecuado, se deben tomar en cuenta características como el tipo, tamaño nominal, material, dimensiones del medio, densidad de área superficial, densidad de masa, densidad aparente, volumen de vacíos, durabilidad e influencia en la efectividad del proceso. El la densidad de área superficial efectiva del filtro es el área que será ocupada por las bacterias, el valor de éste parámetro dependerá entonces de la superficie total del medio, las características del tipo de sistema y los procedimientos de operación. Se han desarrollado numerosos tipos de materiales como material de soporte para la inmovilización de biomasa, desde sintéticos (poliestireno, poliuretano, polietileno, etc.) como naturales (arcilla, basalto, carbón etc.). En la tabla 2.5 se muestra una comparación para los diferentes materiales plásticos y desempeño en nitrificación.

Uno de los materiales comúnmente usados es Kaldnes® (Colt *et al.*, 2006). Ésta tecnología fue desarrollado por Kaldnes Miljoteknologi (Patente europea no. 0,575,314, Patente EUA no.

5,458,779) en Noruega a finales de los años 80's y principios de los 90's (Rusten *et al.*, 2006). En la tabla 2.6 se muestran algunas características de materiales tipo Kaldnes® en sus diferentes variedades comerciales.

Tabla 2.5. Características de plásticos y nitrificación (Stephenson *et al.*, 2013)

Material	Área superficial (nm ²)	Tasa de nitrificación respecto al área (mg _{N-NH4} /m ² .d)
ABS	5891	360
Nylon (Ny)	5799	70
Policarbonato (PC)	5639	390
Polietileno (PE)	6322	150
Polipropileno (PP)	5719	170
Politetrafluoroetileno (PTFE)	5839	320
Cloruro de polivinilo (PVC)	5737	60
Tufnol (Tu)	5735	490

Los medios de soporte Kaldnes® K1 son pequeños cilindros de polietileno, de alrededor de 10 mm de diámetro y 7 mm de longitud con una cruz interior y aletas en la parte exterior (Figura 2.8), con una densidad de 0.95 g/cm³, ofreciendo un densidad de área superficial de 500 m²/m³ del volumen de empaque total (Metcalf y Eddy, 2003).

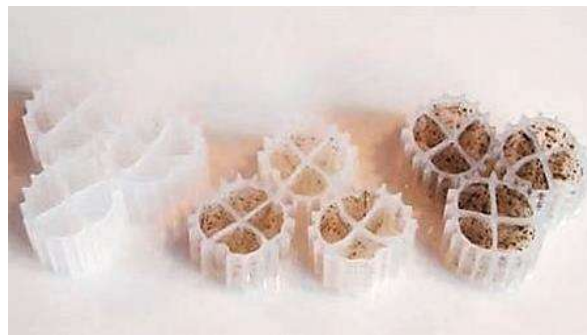


Figura 2.8 Soporte de polietileno Kaldnes® K1 (Fuente: AnoxKaldnes™)

Tabla 2.6. Datos sobre material Kaldnes® (Rusten et al., 2006)

Atributo físico	Unidades	Tipo de soporte Kaldnes®		
		K1	K2	K3
Diámetro nominal	mm	9.1	15	25
Longitud nominal	mm	7.2	15	12
Densidad de masa	kg/m ³	150	95	100
Densidad de área superficial	m ² /m ³	500	350	500

BIOFILTRACIÓN

Un biofiltro consiste en un reactor biológico, en el que biomasa activa se encuentra formando una biopelícula, sobre un material de soporte en el sistema de tratamiento. Su operación implica el flujo de agua residual descendente, ascendente u horizontal (Metcalf y Eddy, 2003) a través de un volumen de material de soporte donde las bacterias comienzan degradar los residuos hasta convertirlos en compuestos inorgánicos. Esta conversión depende de la presencia de microorganismos, que sean capaces de incorporar a su metabolismo aquellos contaminantes del efluente en cuestión. En el ambiente de acuicultura, el nitrógeno es un componente fundamental porque lo contienen las proteínas que requieren los peces. Hay cuatro fuentes principales de residuos de nitrógeno: amonio, urea, ácido úrico y aminoácidos excretados por los peces, residuos orgánicos de organismos muertos o en decadencia, alimento no comido y heces en el agua, y nitrógeno gas a la atmósfera (Timmons y Ebeling, 2010).

2.1.8 Sistemas de biopelícula

En una operación continua, la eficiencia y estabilidad del reactor dependerán de la estructura de la biopelícula formada, por lo que es importante controlar los parámetros que influyen en el desarrollo de la misma, para garantizar una operación estable del reactor (Alves et al., 2002). Una biopelícula consiste en una cooperativa comunitaria de células inmovilizadas en un sustrato (Characklis y Marshall, 1989), los cuales crecen revestidos en una matriz de polisacáridos adhesivos excretados por las propias células. Esta matriz le da estabilidad estructural a la biopelícula y le permite atrapar los nutrientes que requieren las bacterias para su propio crecimiento.

Su estructura puede representarse como un conjunto estructurado de capas: primero se tiene una capa externa de gas y/o líquido, en donde se va a llevar a cabo el transporte de nutrientes por convección hasta la siguiente capa, donde se encuentran los microorganismos estructurados en forma de una biopelícula porosa, transportando los nutrientes por difusión; la tercera y última capa consiste en el medio de soporte (conocida también como sustrato), que es un medio físico de soporte sobre el cual se desarrolla la biopelícula (Figura 2.9).

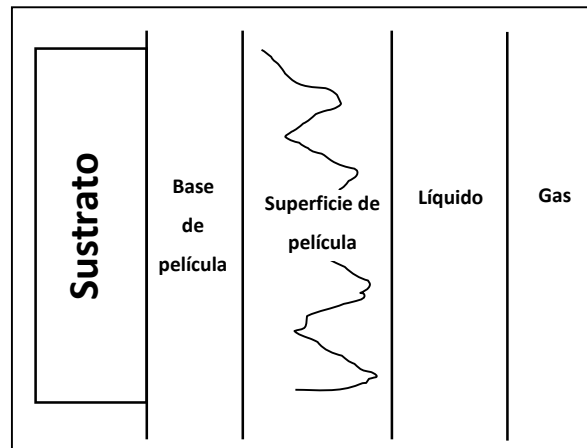


Figura 2.9 Estructura de una biopelícula (Characklis y Marshall, 1989)

Inicialmente, los microorganismos se adhieren a una superficie acondicionada, aunque se desprenden con facilidad; eventualmente comienzan a liberar polímeros como polisacáridos, proteínas y DNA, que ayudan a la fijación de microorganismos de forma más estable a la superficie. Ésta asociación bacteriana tiene una función de protección ante cambios agresivos de las condiciones ambientales (*e.g.* temperatura, pH, concentración de nutrientes, productos metabólicos y sustancias tóxicas) (Lazarova y Manem, 1995).

La biopelícula es un sistema dinámico, con procesos de crecimiento y desprendimiento, afectados por factores externos como la concentración de sustrato disponible, las fuerzas cortantes en el medio, colisiones entre partículas, etc., (Alves *et al.*, 2002). En una biopelícula, la comunicación intercelular es una función necesaria determinante para su desarrollo y mantenimiento (Matigan *et al.*, 2004). Cuando una célula se adhiere, se comienzan a expresar genes que codifican para proteínas que sintetizan moléculas, las cuales promueven la unión de células mediante el mecanismo denominado *quórum sensing* (Matigan *et al.*, 2004).

Otro parámetro importante en la acumulación celular, es la relación de nutrientes en el sistema. La relación C/N representa la disponibilidad de carbono, en relación al nitrógeno en el influente del reactor. La alimentación de la mayoría de los peces comerciales es a base de una alta cantidad de proteína y bajos niveles de carbohidratos, por lo que ésta relación C/N es regularmente baja (*i.e.* valores menores a 15). Se ha demostrado que la relación C/N tiene un efecto significativo en las tasas de remoción de nitrógeno de los sistemas; en efluentes con valores superiores a 1.0 se ha observado una reducción de hasta el 70% en la remoción de NAT (Guerdat *et al.*, 2011). Las bacterias heterótrofas son las responsables de la remoción de la materia orgánica y tienen un crecimiento más rápido y coeficientes de rendimiento más elevados, comparados con los autótrofos nitrificantes, que son de lento crecimiento, de forma que cuando se busca la nitrificación, se debe trabajar con baja carga orgánica para tener altos tiempos de retención celular y que la biopelícula se colonice con microorganismos de lento crecimiento (Stephenson *et al.*, 2013; Rusten *et al.*, 2006). Los valores altos de C/N se encuentran relacionados con la dominancia de bacterias heterótrofas en la capa externa de la biopelícula, lo cual puede reducir la concentración de oxígeno disponible para nitrificación, ejerciendo así competencia con las bacterias autótrofas nitrificantes en espacio y disponibilidad de oxígeno en la biopelícula (Rusten *et al.*, 2006; Timmons y Ebeling, 2010; Guerdat *et al.*, 2010; Michaud *et al.*, 2006). Ésta inhibición directa de bacterias nitrificantes por formas de carbono orgánico se llama *alelopatía*. En las granjas acuícolas las cargas orgánicas generalmente son muy bajas; en éstas condiciones, se considera que la biomasa heterótrofa disminuye la concentración de oxígeno 0.5 mg_{O₂}/L; por el contrario, a cargas orgánicas de 1.5 g_{BOD₅}/m²d, éste consumo permite incrementar la concentración de oxígeno disuelto a 2.5 mg_{O₂}/L (Rusten *et al.*, 2006). La constante de velocidad de reacción es entonces más baja a valores mayores de carga orgánica en el reactor; además, una baja alcalinidad también disminuye este factor, debido a la reducción del pH en la biopelícula.

2.1.9 Composición de las biopelículas

Los componentes del medio determinan la presencia de ciertos tipos de microorganismos en una biopelícula, los cuales modificarán el microambiente de forma específica a su actividad metabólica. Las biopelículas se encuentran ampliamente estratificadas y con una composición heterogénea en función a la profundidad, relacionada con la distribución de especies y zonas aerobias/anóxicas en el mismo. Los componentes principales de una biopelícula son células y polímeros extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés) (Lazarova y Manem, 1995). La cantidad de

EPS puede variar dependiendo de numerosos factores ambientales como el nivel de oxígeno, disponibilidad de nitrógeno, desecación, baja temperatura, bajo pH, entre otros (Ahimou *et al.*, 2007). Los EPS se encuentran formados por proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, cada uno de los cuales puede variar en concentración y estructura en la biopelícula dependiendo de las condiciones en las cuales se encuentra el reactor (Ahimou *et al.*, 2007). La mayor parte de los EPS son polisacáridos, entre los que encuentran azúcares comunes como glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, N-acetil glucosamina, ácido glucurónico y ácido galacturónico. En la biopelícula nitrificante, los polisacáridos se forman por las bacterias heterótrofas, utilizando los SMPs producidos por las bacterias nitrificantes a través de la nitrificación y los procesos de decaimiento (Zhang *et al.*, 2013). Los polisacáridos representan arriba del 65% de material extracelular en el sistema (Lazarova y Manem, 1995).

2.1.10 Propiedades de las biopelículas

Las propiedades físicas, químicas y biológicas son dependientes del medio en el cual se acumula la película. Los microorganismos predominantes modifican el microambiente del sustrato a su actividad metabólica, además de sus otros componentes mayoritarios, los cuales son principalmente polisacáridos (Characklis y Marshall, 1989).

El paso inicial de formación de biopelícula tiene un importante rol y tiene un impacto considerable en la estructura y propiedades fisicoquímicas de la biopelícula madura (Lazarova y Manem, 1995). El espesor efectivo es importante y depende del volumen de biomasa fija y varía durante los diferentes pasos del crecimiento microbiano; generalmente el espesor es menor a 100 μm distribuida sobre la superficie del soporte (Rusten *et al.*, 2006). Las biopelículas se consideran muy hidrófilas debido a la cantidad de EPS, ya que contienen muchos residuos de azúcar hidrofílicos (Characklis y Marshall, 1989).

La actividad de la biopelícula no es proporcional a la cantidad de biomasa fija, pero sí se incrementa con el espesor de la misma, a un determinado nivel, denominado "espesor activo" (Lazarova y Manem, 1995). Éste tenderá a disminuir cuando se aumenta el número de Reynolds del líquido en el que se encuentra, bajo una misma carga orgánica y aumentará en condiciones de mayor CO, en régimen laminar (Orantes, 2001). La densidad se asume variable, es decir, se habla de una estructura compleja y homogénea (Lazarova y Manem, 1995; Ahimou *et al.*, 2007), no solo en cuanto a composición y distribución sino también en las zonas aerobia/anóxica formadas de

acuerdo al espesor, lo cual afecta la velocidad de crecimiento de las bacterias. La densidad es mayor en CO más bajas (Characklis y Marshall, 1989).

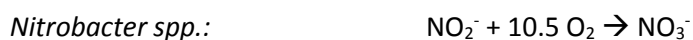
2.1.11 Remoción de materia orgánica

Debido a que la biomasa heterótrofa que remueve material orgánico compite con la biomasa nitrificante a altas cargas orgánicas, en los MBBR de granjas acuícolas lo deseable es que sean operados a bajas cargas orgánicas, sin embargo, es un parámetro que al que no se le suele dar prioridad (Rusten *et al.*, 2006).

2.1.12 Nitrificación

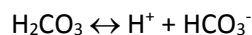
El nitrógeno amoniacal puede ser oxidado en el medio acuático, siempre que haya las condiciones físicoquímicas necesarias y la presencia de bacterias nitrificantes. Hay dos grupos filogenéticos de bacterias, que llevan a cabo nitrificación colectivamente. Se encuentran categorizadas como bacterias autótrofas quimiosintéticas, debido a que derivan su energía de compuestos inorgánicos, opuesto a las bacterias heterótrofas que derivan su energía de compuestos orgánicos. Las bacterias amonio-oxidantes (AOB) obtienen su energía catabolizando amoníaco no ionizado a nitrato e incluyen bacterias de los géneros *Nitrosomonas spp.*, *Nitrosococcus spp.*, *Nitrospiras spp.*, *Nitrosolobus spp.* y *Nitrosovibrio spp.* Generalmente se asocia la conversión de nitritos a nitratos a las del género *Nitrobacter spp.* Las bacterias nitrificantes son autótrofos obligados, los cuales consumen CO₂ como fuente primaria de carbono inorgánico, y aerobias obligadas, las cuales requieren oxígeno para crecer. La nitrificación es el proceso biológico de oxidación de amoníaco a nitritos, y posteriormente de nitritos y nitratos, en condiciones aerobias estrictas. Las dos reacciones son llevadas a cabo secuencialmente. Debido a que el primer paso tiene una tasa de reacción cinética más alta que la segunda, la cinética general es usualmente controlada por la oxidación de amoníaco y como resultado, no deber haber acumulación de nitritos en un reactor con capacidad nitrificante.

Las reacciones generales para nitrificación son (Timmons y Ebeling, 2010):



Los factores más significativos en la nitrificación tienen que ver con las características nitrificantes, como la cantidad de biomasa nitrificante, la velocidad de crecimiento de las bacterias nitrificantes y el coeficiente de rendimiento, es decir, en cuanto más crecimiento tengan, más amonio será oxidado (Pollard, 2006; Chen *et al.*, 2006). La actividad y máximo tamaño de población de bacterias nitrificantes depende de la cantidad de sustratos de energía que estén disponibles, hay ciertos factores de operación que influyen en el proceso, como la relación C/N, la alcalinidad, la concentración de oxígeno disuelto, pH, toxicidad, el tiempo medio de residencia celular y temperatura.

Debido a los efectos de difusión, las tasas de nitrificación son muy dependientes de las concentraciones de N-NH_4^+ y OD. Normalmente el oxígeno es el sustrato limitante a altas concentraciones de N-NH_4^+ y, por el contrario, el de N-NH_4^+ lo es a bajas concentraciones de oxígeno. Altas concentraciones de OD mejoran las velocidades de nitrificación, pero inhiben el proceso de desnitrificación (Meng *et al.*, 2008). Las bacterias nitrificantes obtienen energía para su actividad celular, incluyendo el anabolismo, a partir de la oxidación. Sin embargo, la energía obtenida a partir de la oxidación de amonio ionizado y de los nitritos, las bacterias nitrificantes se reproducen muy lentamente. Bajo condiciones óptimas de operación, la generación de éste tipo de bacterias es de 8 a 10 horas. La generación de éstas bacterias también es dependiente de la temperatura, son más activas y se reproducen sobre un rango entre 5 y 40°C, con una media de 30°C (Gerardi, 2006). Estas bacterias son quimiolitioautótrofas, ya que obtienen su energía para la síntesis celular por consumo de carbono inorgánico, es decir CO_2 ; el consumo de éste por bacterias autótrofas nitrificantes es en forma de alcalinidad por bicarbonato (HCO_3^-), que se disuelve en agua para formar ácido carbónico (H_2CO_3) y se asocia a la forma de bicarbonato:



Por cada gramo de N-NH_4^+ oxidado a nitrógeno de nitratos, se consume aproximadamente 4.18g de oxígeno y 7.07g de alcalinidad (como CaCO_3). Si la fuente de carbono es baja en alcalinidad, se debe monitorear éste parámetro con la adición de bases. Algunas de las comúnmente usadas son $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO , Na_2CO_3 y NaHCO_3^- (Losordo *et al.*, 1998).

El pH deseado para el proceso se encuentra entre 6.8 y 7.2, aunque el proceso se ve favorecido a pH mayores. Los niveles de pH por debajo de 4.5 son peligrosos para peces, y a pH por debajo de 7

reducen la actividad nitrificante de las bacterias (Rusten *et al.*, 2006). En el proceso se producen 0.17g de biomasa (Chen *et al.*, 2006).

El producto inicial de oxidación de amoníaco, el nitrito, puede ser tolerado a altos niveles por especies acuáticas, aunque muchos son adversamente afectados por largos tiempos de exposición a bajos niveles (<0.2 mg_{N-NO2}/L) (Schreier *et al.*, 2010b)

2.1.12.1 Tasas de nitrificación

Las tasas de nitrificación dependen de la carga orgánica, el oxígeno disuelto, concentración de NAT, temperatura, pH y alcalinidad, además de la historia previa de la biopelícula. Se considera que las tasas de nitrificación incrementarán después de un año de operación (Rusten *et al.*, 2006).

El cambio de concentraciones de amoníaco y nitratos generalmente son usados para estimar las tasas de nitrificación y ésta es proporcional a la concentración de sustrato (Chen *et al.*, 2006). Las pruebas moleculares podrían indicarnos cuantas bacterias nitrificantes se encuentran en la comunidad microbiana, sin embargo no pueden medir que tan rápido están creciendo (Pollard, 2006). La concentración mínima de NAT para biofiltros nitrificadores sumergidos encontrada por Zhu y Chen (1999) fue de 0.07 ± 0.05 mg/L a 27.2°C. Rusten y colaboradores (2006) reportan una tasa de remoción de 1 g N-NH₄⁺/(m².d) a una concentración de oxígeno de 5mg/L.

La tasa volumétrica de nitrificación (VTR) es el principal indicador para la evaluación del desempeño del filtro. Se obtiene mediante la siguiente ecuación como lo reportan Pfeiffer y Willis (2011):

$$VTR = \frac{K_C \times (NAT_{Ent} - NAT_{Sal}) \times Q_F}{V_{MEDIO}}$$

Donde:

- VTR = gramos de NAT removidos por m³ de medio filtrante por día,
- Q_F = Tasa de flujo a través del filtro (L/min),
- K_C = Factor de conversión de 1.44,
- NAT_{Ent} = Concentración total de amonio en el influente
- NAT_{Sal} = Concentración total de amonio en el efluente
- V_{MEDIO} = Volumen del medio filtrante en m³

La tasa de nitrificación por área, se calcula dividiendo entre el área superficial específica el VTR del filtro, para obtener la tasa de nitrificación con respecto al área, el cual indica los gramos de NAT removidos por metro cuadrado de medio. Otra forma de medir la remoción de nitrógeno es de forma porcentual, el cual se determina dividiendo el cambio en la concentración de amonio en el filtro entre la concentración inicial del mismo en el influente (Pfeiffer y Wills, 2011).

Antecedentes

Los sistemas acuícolas recirculados han sido desarrollados desde hace más de cuarenta años. La ingeniería en éste tipo de sistemas, ha sido ampliamente desarrollada por Timmons y colaboradores desde 1992.

Colt y colaboradores (2006) reportan estándares para el diseño y evaluación de estudios de eficiencia de biofiltración, aplicados en acuicultura, marca los parámetros especiales de diseño de sistemas recirculados. De forma similar, Rusten y colaboradores (2006) proporcionan datos de operación y parámetros de diseño para el soporte comercial Kaldnes® k1 en reactores MBBR, reportando la eficiencia para aplicaciones en acuicultura en cultivos de salmón, trucha y rodaballo, reportando valores aceptables de remoción y VTR como un datos de diseño y control en el sistema. Terjesen y colaboradores (2013) en un estudio de diseño para el cultivo de salmón , utilizando un sistema RAS, evalúa el diseño y operación de un sistema bajo ciertos parámetros, como diferentes cargas de alimentación, comparando las condiciones de diseño, encontrando que el diseño preliminar para la producción de nitrógeno amoniacal se encuentra sobre estimado.

Estudios de biopelícula relacionados con tratamiento de aguas crudas para potabilización pueden ser comparables a sistemas acuícolas, debido al bajo contenido de $N-NH_3$ que se tiene en los efluentes. Akker y colaboradores (2011) utilizan como criterio para evaluación del desempeño de la biomasa, la composición y estructura de biopelículas nitrificantes en un filtro percolador, utilizando cargas orgánicas crecientes y ligando éste parámetro con su funcionalidad y competencia entre bacterias autótrofas y heterótrofas.

De forma similar, Bassin y colaboradores (2012) estudian el efecto de diferentes condiciones operacionales para promover la nitrificación en sistemas de tratamiento, relacionando negativamente la concentración de DQO, con el contenido de polisacáridos y proteínas, fraccionando la biopelícula, utilizando éstos como criterio de desarrollo y decaimiento de biomasa.

Zhang y colaboradores (2013) caracterizan por varias técnicas la biopelícula formada en reactores de lecho móvil, para tratamiento de agua residual cruda, obteniendo relaciones lineales de componentes de la biopelícula (polisacáridos, proteínas, ácidos húmicos, sólidos volátiles) con las tasas de nitrificación en el reactor, especificando la factibilidad de establecer éstos datos con la determinación del estado de la biomasa y el estado de operación de un sistema.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente capítulo se describirá los materiales y se señalan los métodos analíticos que fueron utilizados para llevar a cabo la parte experimental. Además de describirse la metodología utilizada para llegar al objetivo planteado anteriormente, como base para la obtención de resultados descritos en el capítulo 4 de este documento. El esquema general de la metodología planteada se muestra por medio de un diagrama a continuación (Figura 3.1).

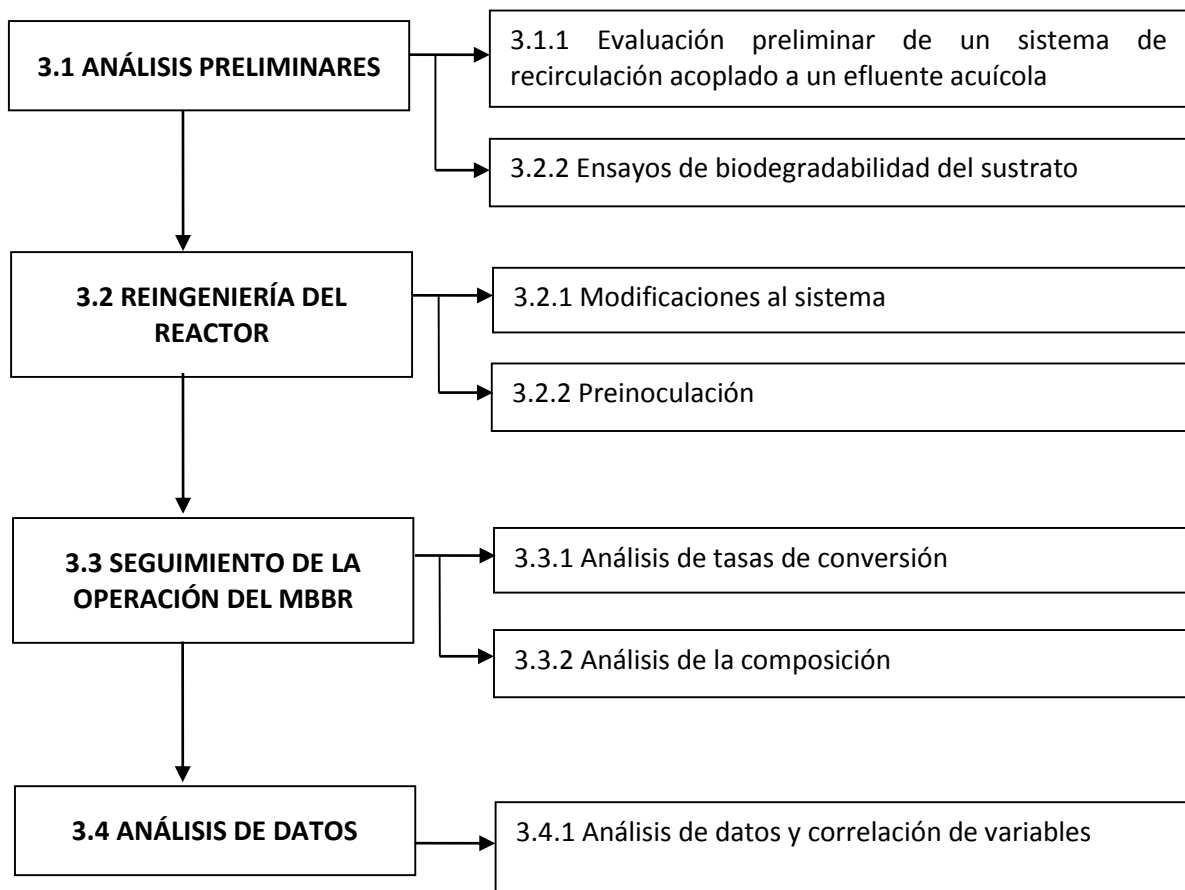


Figura 3.1 Diagrama de flujo correspondiente al diseño experimental

Evaluación preliminar del sistema de tratamiento actual

3.1.1 Análisis de la eficiencia del biofiltro de lecho sumergido

a) Cultivo acuícola

La granja acuícola del laboratorio de Biología Acuática de la UMSNH cuenta con un sistema externo y un sistema interno. El primer paso fue realizar una evaluación de la eficiencia del sistema de tratamiento de agua (Viveros *et al.*, 2013) El efluente proveniente del sistema externo, el cual consta de 15 tanques acuícolas de cultivo de (*Oreochromis niloticus*) en variedades de *hembras Stirling*, *supermachos*, *hembras de chitralada* y *supermacho Stirling*, con densidades desde 1.25 hasta 20 peces/m³ (0.875 a 14 kg/m³). El cultivo se encuentra acoplado a un sistema de recirculación cuyo tratamiento era por medio de biofiltración utilizando un lecho sumergido. Los tanques iniciaron su operación un año antes de la evaluación del biofiltro y operan con una tasa de recambio promedio de 2% del volumen de agua por día.

b) Biofiltro

El filtro biológico (Figura 3.2) recibe el efluente con un flujo de 3.2 L/s. Para su estudio, el filtro ha sido separado en 3 etapas, en cada una de las cuales tiene lecho sumergido, como se muestra en la figura.



Figura 3.2 Sistema de recirculación acoplado al sistema externo de la granja acuícola de la UMSNH

c) *Operación del biofiltro*

El filtro opera en condiciones aerobias, con un TRH de 49.2 min. El influente llega con concentraciones de 7 mg/L de oxígeno disuelto. La temperatura no estaba controlada y oscila entre 15.3 y 18.4°C. El pH tiene una media de 7.2 ± 0.5 . El medio filtrante para el sistema de recirculación es grava de tezontle, con diámetro medio de partícula de $\frac{3}{4}$ ". Este se encuentra empacado en bolsas de red plástica, sumergidas en cada una de las etapas del filtro (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Características del material de soporte utilizado en el biofiltro de lecho sumergido (Viveros, 2013)

Material de soporte	
Material	Tezontle
Diámetro de partícula	$\frac{3}{4}$ "
Área superficial	2375 m ²
Volumen aparente	0.25 m ³ /m ³
Densidad de área superficial	250 m ² /m ³

d) *Análisis de remoción*

Con el fin de determinar la eficiencia de remoción de contaminantes por medio del biofiltro, se realizó la evaluación de diferentes parámetros de calidad del agua en cuatro puntos del reactor, correspondientes a la entrada de efluente, punto medio de la etapa 1, punto medio de la etapa 2 y punto medio de la etapa 3. Los parámetros evaluados corresponden a demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos totales (SST), nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrógeno de nitratos (N-NO₃⁻), oxígeno disuelto y temperatura. Se toman muestras dos veces por semana por un periodo de dos meses, por los métodos descritos en la tabla 3.2.

Tabla 3.2 Métodos de análisis utilizados en el estudio

Parámetro	Método	Norma
Temperatura	Termómetro integrado a la sonda de determinación de oxígeno disuelto	NMX-AA-007-SCFI-2000
OD	Medición amperométrica. Sonda de determinación de oxígeno disuelto.	NMX-AA-012-SCFI-2001
DQO	Método de digestión en el reactor	NMX-AA-030-SCFI-2001
NAT	Método de salicilato	
N-NO ₃ ⁻	Método de reducción de cadmio.	NMX-AA-079-SCFI-2001
SST	Método fotométrico	NMX-AA-034-SCFI-2001

En la tabla 3.3 se muestra la caracterización por unidad de área en el filtro y tanto las cargas orgánicas como las cargas amoniacales de trabajo.

Tabla 3.3 Características del operación del biofiltro por etapa (Viveros, 2013)

Etapa del biofiltro	Volumen útil de cada etapa (m ³)	Área superficial (m ²)	Carga orgánica carbonácea (g _{DQO} /m ² ·d)	Carga orgánica amoniacal (mg _{N-NH4} /m ² ·d)
E1	3.86	965	11	37
E2	3.74	937	10	39
E3	1.89	473	23	77

3.1.3 Análisis de biodegradabilidad de sustrato

El segundo paso fue analizar la biodegradabilidad del efluente acuícola (Cázares y Orantes, 2014), con objeto de evaluar las cargas orgánicas más convenientes para la operación del sistema y poder determinar las relaciones C/N, basados en la materia orgánica biodegradable, en las condiciones de operación de los reactores en el laboratorio.

a) Efluente acuícola

Se utilizó el efluente proveniente del sistema externo de la granja acuícola, en el cual se tenía cultivo de tilapia, ubicado en el laboratorio de biología acuática de la UMSNH, mismo que fue descrito en el punto 7.1.

b) Reactores batch

Se utilizaron 3 reactores de forma ovalada de acrílico translúcido (Figura 3.3), con volumen de operación de 10 L, con un orificio que permite la entrada de una manguera difusora de aire, para suministrar el oxígeno necesario para la degradación de la materia orgánica por las bacterias y mantener al menos una concentración de 2mg/L de oxígeno disuelto, y una válvula para la toma de muestras de la suspensión, que se mantenía completamente mezclada.



Figura 3.3 Reactores batch para análisis de biodegradabilidad

c) Ensayos de biodegradabilidad

La experimentación se llevó a cabo para determinar la biodegradabilidad de sustrato por bacterias bajo diferentes condiciones de carga orgánica. Se realizó un ensayo de degradación basado en la demanda química total y de manda química de la fracción soluble (DQO). La muestra de agua se inoculó con una población bacteriana proveniente de la planta de tratamiento de agua residual en funcionamiento denominada “Las garzas” de la ciudad de Pátzcuaro Michoacán. Se seleccionó esta biomasa, para garantizar que la biomasa inoculada se encontraba activa y estabilizada, con posibilidad de degradar sustratos mixtos y heterogéneos. La primera corrida experimental se llevó a cabo alimentando el reactor batch con efluente acuícola, sin la adición de sustrato exógeno. En las siguientes corridas se utilizó sustrato exógeno de acuerdo a la tabla 3.4. A partir de la segunda corrida, se utilizó una fuente de carbono exógena completamente soluble y fácilmente biodegradable (*i.e.* ácido acético), a fin de ajustar las cargas orgánicas.

Cada corrida experimental tuvo una duración de 120 h y en todos los casos se ajustó el pH a 7 ± 0.2 por medio de la adición de ácido sulfúrico 1N. La evaluación de los parámetros indicados se realizó cada hora durante la fase exógena esperada (aproximadamente 6 horas) y en la fase endógena el periodo de muestreo se realizó cada 24 h, hasta el término de cada corrida.

Tabla 3.4. Corridas en reactores batch

Corrida experimental	Relación S_0/X_0 mg_{DQO} / mg_{SSV}	Concentración		Volumen de sustrato exógeno utilizado (mL)
		inicial de biomasa (mg_{SSV}/L)	DQO inicial (mg_{DQO}/L)	
I	0.05	750	84	0
II	0.1	800	75	0.5
III	0.3	825	118	2.95
IV	0.5	1150	101	6.37
V	0.7	1100	115	9.35

Reingeniería del reactor sistema MBBR

El trabajo experimental se llevó a cabo en un reactor de lecho móvil (MBBR), el cual implementado a partir de la modificación del reactor de lecho sumergido, con material de soporte pétreo, para transformarlo en un reactor de lecho móvil, con soporte plástico. Se transformó, dado que se reportan mayores eficiencias para este tipo de reactores y, finalmente se evaluó su desempeño, su cinética de remoción y la actividad de biopelícula.

El sistema de tratamiento consiste en una instalación de concreto con volumen total de 9.12 m³, dividido en cinco etapas con las mismas dimensiones como se especifica en la tabla 3.5.

Tabla 3.5. Dimensiones del sistema de tratamiento de agua en el RAS

Etapa	H (m)	h (m)	L (m)	B (m)	V (m ³)
1	1.05	0.76	1.20	2.00	1.82
2	1.05	0.76	1.20	2.00	1.82
3	1.05	0.76	1.20	2.00	1.82
4	1.05	0.76	1.20	2.00	1.82
5	1.05	0.76	1.20	2.00	1.82

3.1.4 Modificaciones al sistema

Para el rediseño del reactor, se tomaron en cuenta características de la alimentación de peces (porcentaje de proteína y frecuencia de alimentación), las características del efluente del RAS y la cinética bacteriana. La adecuación fue realizada de acuerdo a la metodología de diseño de Timmons (2010); (Los detalles de diseño se presentan en el anexo A).

La reingeniería del sistema de tratamiento incluyó no solo la modificación del proceso biológico, sino de todo el sistema modificando el tren de tratamiento del efluente (Figura 3.4). Se incluyeron los siguientes procesos: (i) una etapa de separación, por medio de filtración con una malla con diámetro de poro de 100 µm, para una remoción parcial de sólidos suspendidos, (ii) el proceso

biológico, donde se adaptó para usarse como reactor de lecho móvil; se colocó material de soporte tipo K1 de Kaldnes® con volumen de material variable, según la carga amoniacal (Tabla 3.8). En el reactor biológico se instaló un sistema de aireación, por medio de cuatro difusores de burbuja fina de 9" de diámetro de la marca FlexAir®, según los requerimientos de diseño. El flujo de aire se determinó considerando (i) suministrar el oxígeno necesario para el crecimiento de los microorganismos, (ii) garantizar una mezcla correcta del material de soporte y evitar zonas muertas y (iii) evitar fuerzas cortantes demasiado altas, que pudieran inducir un desprendimiento de la biopelícula en el material de soporte. Posteriormente se instaló (iii) otra etapa de separación, para realizar la función de un sedimentador secundario y, para finalizar (iv) se instaló un cárcamo de bombeo que envía el efluente tratado al sistema de cultivo (Figura 3.5).

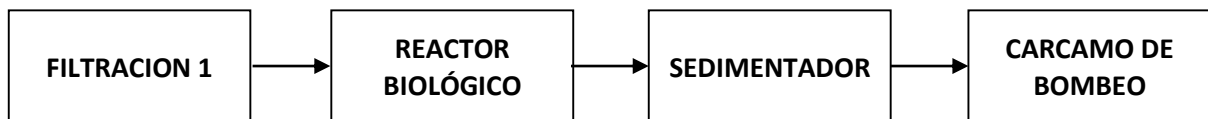


Figura 3.4 Tren de tratamiento

El medio de soporte consiste en elementos de polietileno Kaldnes® K1, con área superficial específica de $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (Tabla 2.6).



Figura 3.5 Fotografía del reactor en la que se aprecia el sistema de tratamiento.

3.1.5 Preinoculación

Con objeto de preparar y permitir un mejor desarrollo de la biopelícula del reactor de lecho móvil se llevo a cabo un proceso de preinoculación, antes de colocar el material de soporte ya colonizado en el reactor biológico. Inicialmente se preinoculó durante un periodo de 13 semanas, un volumen aparente de 0.2 m³ de material de soporte Kaldnes® K1.

Para inocular se alimentó con una solución de sacarosa, nitrógeno como urea y fósforo como fosfato de amonio dibásico, utilizando una relación C/N/P inicial de 150/15/1 suministrando una carga orgánica de 1 g DQO/m²·d (Rusten *et al.*, 2006) ajustando el pH entre 7 y 8 (Hoang *et al.*, 2013) por medio de la adición de HCl 0.1N o NaOH 1N, según el caso. La temperatura no fue controlada durante ésta etapa experimental. Posteriormente se fue modificando la relación C/N en tres etapas: 1) C/N = 10; 2) C/N = 5; 3) C/N = 0. Esta modificación se realizó con el objetivo de colonizar inicialmente con bacterias heterótrofas e ir gradualmente poniendo condiciones para promover el crecimiento de bacterias nitrificantes en la biopelícula formada (Anexo B).

Seguimiento de la operación del MBBR

3.1.6 Cultivo de peces

El cultivo acuícola del sistema interno del Laboratorio de Biología Acuática, consta de 4 tanques con volumen de producción de 5.4 m³ y 3 tanques de 4m³. En este estudio se utilizó el efluente proveniente de un tanque de volumen de 5.4 m³ con cultivos de supermachos tilapia (*Oreochromis niloticus*), con una densidad de peces de 35 kg/m³. El estanque contenía alrededor de 323 peces durante el periodo de estudio, con tallas entre 300 y 800 g. Los peces fueron alimentados 3 veces por día, con un alimento comercial (pellets de 7.5mm, NUTRIPEC®) con un contenido de proteína del 25% (Timmons y Ebeling, 2010). Éstas son consideradas como condiciones de cultivo intensivo. Para minimizar la cantidad de alimento no comido, se alimentó a saciedad, obteniendo una media alimentación de aproximadamente un 1.43% de la biomasa de peces.

Los estanques de cultivo se encuentran a flujo continuo y, dado que la alimentación es intermitente, se consideraron para efecto de los cálculos los valores promedio de contaminantes. Durante el periodo de estudio de 112 días, basadas en condiciones de estado estable definidas como: tasas constantes de alimentación durante por lo menos durante 14d; periodo de estabilización del metabolismo de los peces, de las concentraciones en el sistema y de adaptación

de los microorganismos y, posteriormente se mantuvieron concentraciones relativamente estables de N-NH_4^+ durante por lo menos durante 7d; por lo que la duración de cada corrida abarcó un tiempo de 3 semanas. De forma paralela, el tiempo de retención celular teórico considerado para la duplicación de las bacterias nitrificantes es de 7d (Metcalf y Eddy, 2003), por lo que éste lapso corresponde a 3 tiempos de retención celular. El cambio en condiciones de operación para modificar la siguiente carga amoniacal se llevó a cabo por medio del ajuste del volumen de material de soporte, reduciendo su volumen de llenado, con objeto de evitar tener que esperar mayores tiempos de estabilización de la biopelícula adicionada.

3.1.7 Operación

El tratamiento biológico se realizó con temperatura controlada a 25°C, dado que se acondicionó para tener esta temperatura en los tanques de cultivo y favorecer el desarrollo de los peces. Se suministró aire de forma continua, verificando que siempre se mantuviera en el reactor una concentración mayor a 2 mg/L de oxígeno disuelto.

Diseño experimental

Se llevaron a cabo cinco corridas experimentales, con el objetivo de estudiar el comportamiento biológico en el reactor bajo diferentes condiciones de carga amoniacal. Algunos autores reportan cargas de trabajo que oscilen entre 0 y 0.4 $\text{g}_{\text{N-NH}_4}/\text{m}^2\cdot\text{d}$ debido a la concentración de nitrógeno alcanzada en el tanque de cultivo (Tabla 3.7).

Tabla 3.6 Cargas de trabajo en sistemas MBBR para acuicultura

Autor	Influente ($\text{mg}_{\text{N-NH}_4}/\text{L}$)	Carga ($\text{mg}_{\text{N-NH}_4}/\text{m}^2\cdot\text{d}$)
Drennan <i>et al.</i> (2006)	15	1
Rusten <i>et al.</i> (2006)	0.63	0 – 450
Terjesen <i>et al.</i> (2006)	0.31- 0.62	90 – 180
Guerdat <i>et al.</i> (2010)	0.69	1014
Pfeiffer y Wills (2011)	0.9 - 1.49	480 – 820
Zhang, <i>et al.</i> (2013)	1 - 2	136 - 455

Las cargas de trabajo elegidas (Tabla 3.8), se encuentran cerca de los intervalos reportados, pero adicionalmente, para definir estas cargas, se tomaron en cuenta los resultados de las pruebas de biodegradabilidad de la materia orgánica previamente realizados (Subcapítulo 3.3.3). Las cargas amoniacales se calcularon en función de la densidad de peces en el estanque y la producción de NAT según la metodología de Timmons (Timmons y Ebeling, 2010). La temperatura se mantendrá con una media de 26°C (condición de salida de los estanques). Cabe notar que se trabajará con una densidad de peces constante y el ajuste se realizará modificando la cantidad de material de soporte en la etapa biológica.

Tabla 3.7. Protocolo experimental de corridas en reactor MBBR

Condición experimental	Densidad de cultivo (kg/m ³)	Q (L/s)	Producción N-NH ₄ (g/d)	NAT teórico (mg/L)	Vol de material de soporte (%)	Carga amoniacal (mg /m ² ·d)
1					50%	190
2					45%	210
3	35	1	8.69	1.01	40%	240
4					35%	270
5					30%	320

En todas las condiciones experimentales se trabajó con un volumen útil de estanque de 5.4 m³, densidad de cultivo de peces de 35 kg/m³.

3.1.8 Análisis de las tasas de remoción

Con el objetivo de determinar las tasas de conversión de nutrientes en el reactor modificado, se realizaron las determinaciones de los parámetros de calidad del agua en los puntos de entrada y salida del tratamiento biológico. Se analizó la demanda química de oxígeno total (DQO_{Tot}) y soluble (DQO_{Sol}), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrógeno de nitratos (N-NO₃⁻), nitrógeno de nitritos (N-NO₂⁻), nitrógeno total (N_T), temperatura (T), pH y oxígeno disuelto (OD) (Tabla 3.9). Se tomaron 3 muestras en cada condición estabilizada.

Tabla 3.8 Métodos de análisis de calidad del agua utilizados en este estudio

Parámetro	Método	Normas o procedimientos de referencia
Temperatura	Termómetro integrado a la sonda YSI 125 Modelo 55-25 FT	NMX-AA-007-SCFI-2000
OD	Medición amperométrica. Sonda sonda YSI 125 Modelo 55-25 FT	NMX-AA-012-SCFI-2001
pH	Thermo Scientific, Potenciómetro Orion Star AZ11	
DQO	Método de digestión cerrada ^a	NMX-AA-030-SCFI-2001
NAT	Método de salicilato ^a	
N-NO ₃ ⁻	Método de reducción de cadmio ^a	NMX-AA-079-SCFI-2001
N-NO ₂ ⁻	Método de diazotación ^a	
N _T	Método de digestión con persulfato ^a	
SST	Gravimetría Métodos normalizados	APHA - AWWA – WPCF, 1992
SSV	Gravimetría Métodos normalizados	APHA - AWWA – WPCF, 1992

^a Espectrofotómetro Hach DR 2800

3.1.8.1 Tasas de nitrificación

La tasa volumétrica de nitrificación, definida como la cantidad de NAT convertida a nitritos por unidad de volumen de lecho, se calcula por medio de la diferencia de concentraciones de NAT en la entrada y salida del filtro. Se utilizará la siguiente ecuación (Guerdat et al., 2010):

$$VTR = 1.44(Q_f) \frac{NAT_I - NAT_E}{V_m}$$

Donde:

VTR = Tasa volumétrica de nitrificación ($\text{gr}_{\text{N-NH}_4}/\text{m}^3 \text{ d}$)

Q_f = es el flujo de entrada del efluente al filtro (L min^{-1})

V_m = Volumen total de material de soporte no expandido (m^3)

NAT_I y NAT_E = Concentración de NAT en el influente y efluente respectivamente (g/m^3)

Existe una relación en base al área superficial, denominada tasa de nitrificación por área ATR ($\text{gr}_{\text{N-NH}_4}/\text{m}^2 \cdot \text{d}$) la cual se calcula como sigue:

$$ATR = VTR \left(\frac{1}{\text{Área superficial específica}} \right)$$

Donde el área superficial específica para el material de soporte Kaldnes® k1 es de $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$

3.1.9 Análisis de la composición de la biomasa

La biopelícula fue analizada cuantificando: sólidos totales en biopelícula (ST_{bp}), sólidos volátiles (SV_{bp}), contenido de proteína (PN) y contenido de polisacáridos (PS).

Para el análisis de sólidos totales y volátiles en la biopelícula se desprendió la biomasa del material de soporte, por medio de un baño ultrasónico por 10 minutos (Hamilton *et al.*, 2003), utilizando como medio de dilución agua destilada. Esto fue realizado por medio de un sonicador Branson modelo 2510 (117V, 40kHz), tomando 10 piezas de material y bajo diluciones adecuadas. Posteriormente se determinó el contenido de sólidos totales y volátiles de acuerdo a los métodos normalizados (Tabla 3.9). Se determinó la densidad de biomasa por unidad de área superficial (Characklis y Marshall, 1989).

La determinación de polisacáridos se realizó utilizando la metodología de Dubois (Dubois *et al.*, 1956), y según la adaptación propuesta por Akker *et al.* (2011), utilizando 1ml de muestra obtenida por sonicación, adicionando 1ml de fenol al 5% y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado,

hasta la formación de un color estable. La determinación de polisacáridos se determinó utilizando una curva de calibración utilizando glucosa como estándar.

Para el análisis de proteínas, se extrajeron los sólidos de la biopelícula, de un volumen apropiado (*i.e.* volumen aparente de 100mL) de material de soporte Kaldnes®, con objeto de obtener al menos 0.1g de biomasa, por medio de sonicación. Posteriormente se sometió a secado a una temperatura de 110 ± 5 °C, durante 1h. La biomasa seca fue almacenada en tubos de ensayo a una temperatura de -10°C hasta la realización del análisis. La determinación de proteína se realizó utilizando un autoanalizador LECO® Modelo FP528. Este sistema se basa en la determinación de nitrógeno total por el método de Dumas, para el cual se utilizan 0.1 g de muestra y el contenido de proteína es relacionado por medio de un factor (*i.e.* 6.25) que permite determinar el contenido de nitrógeno, con base en los métodos normalizados (APHA, 1992).

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis preliminares

4.1.1 Evaluación preliminar de biofiltro en operación

La evaluación de la operación del sistema de recirculación se realizó con el objetivo de verificar el funcionamiento del filtro bajo las condiciones previas. La remoción de sólidos alcanza sólo un 23%. La remoción de DQO alcanza un máximo de 23%, sin embargo en algunos casos no se observó ninguna remoción y la media fue de tan sólo 0.72% (Tabla 4.1). Las concentraciones de carbono son muy bajas si son comparadas con un proceso de tratamiento similar en una planta de tratamiento de aguas residuales.

Tabla 4.1 Resultados de la evaluación de parámetros de calidad del agua para efluente acuícola en el filtro sumergido.

Parámetros	Media	Máxima	Mínima	Remoción (%)
DQO _{Tot} (mg/L)	55.60	82	40	0.72
NAT (mg/L)	0.17	0.29	0.12	- 4.52
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	0.72	0.9	0.5	- 3.23
SST (mg/L)	3	6	1	23.83

El nitrógeno amoniacal es el principal contaminante a remover. Se estimó una media de remoción negativa, probablemente debido a acumulación o a una amonificación del nitrógeno orgánico proveniente del alimento de los peces. Las concentraciones en el reactor se encuentran con una media de 0.17 mg/L y 0.18 mg/L en la entrada y salida, respectivamente; cabe notar que a pesar de no tener ninguna remoción, las concentraciones encontradas no resultan tóxicas para los peces en el cultivo. Los niveles de oxígeno disuelto en la entrada encuentran en una media de 7 mg/L y a la salida en un 4.75 mg/L, lo que representa un consumo del 32%. La temperatura tuvo un descenso desde una media de 18.4°C en el inicio del periodo de análisis, hasta una media de 16.08°C al finalizar el tiempo de estudio. Estos resultados muestran que el sistema en general no está removiendo contaminantes y, no obstante que en el sistema original no representaban ningún problema, al momento de implementar la recirculación completa sí podrían alcanzarse concentraciones tóxicas para los peces, por lo que resulta necesario modificar el sistema de tratamiento de agua.

4.1.2 Biodegradabilidad del efluente acuícola

En los resultados de puede observarse que, en todas las condiciones experimentales, las concentraciones de DQO residual, después de la biodegradación, fueron menores a loas 30 mg/L. En todas las cargas orgánicas se presentaron dos etapas: primero, la fase exógena, en la cual la totalidad de sustrato fue degradado y, posteriormente una fase endógena, en la cual se tiene un consumo de productos de reserva de energía, dado que se tenía una suspensión en condiciones de carencia de sustrato (Lobos *et al.*, 2005). También se observó un comportamiento diferenciado entre las $S_0/X_0 < 0.5 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}$. la fase exógena duró menos de 10h, mientras que para $S_0/X_0 > 0.5 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}$ la fase exógena duró hasta 55h.

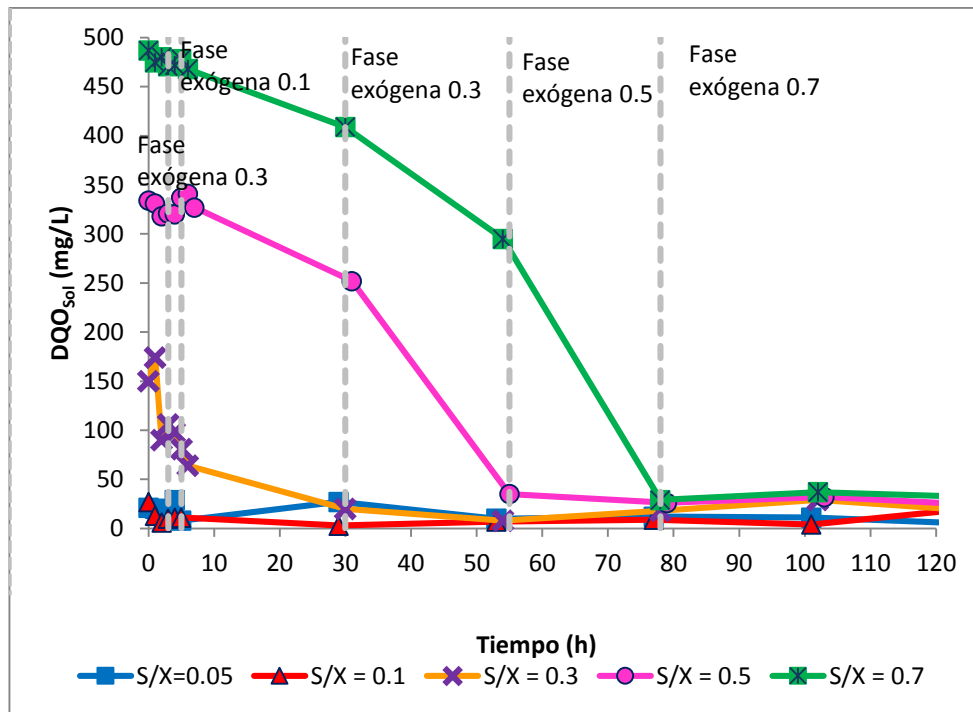


Figura 4.1. Perfil de remoción de DQO

Los resultados muestran que en relaciones S_0/X_0 de 0.05, 0.1 y 0.3, se observa una tendencia lineal en la fase exógena. En estos casos puede observarse un aumento en la velocidad de crecimiento celular (r_s) al aumentar la carga orgánica. Mientras que en las dos cargas mayores se observa que hubo un retardo al inicio de la fase degradativa, que implica que las bacterias tuvieron necesidad de adaptarse a las nuevas condiciones de operación, posteriormente incrementan sus velocidades, aunque nunca alcanzan las velocidades alcanzadas en la carga orgánica $S_0/X_0 = 0.3 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}$ (Figura 4.2).

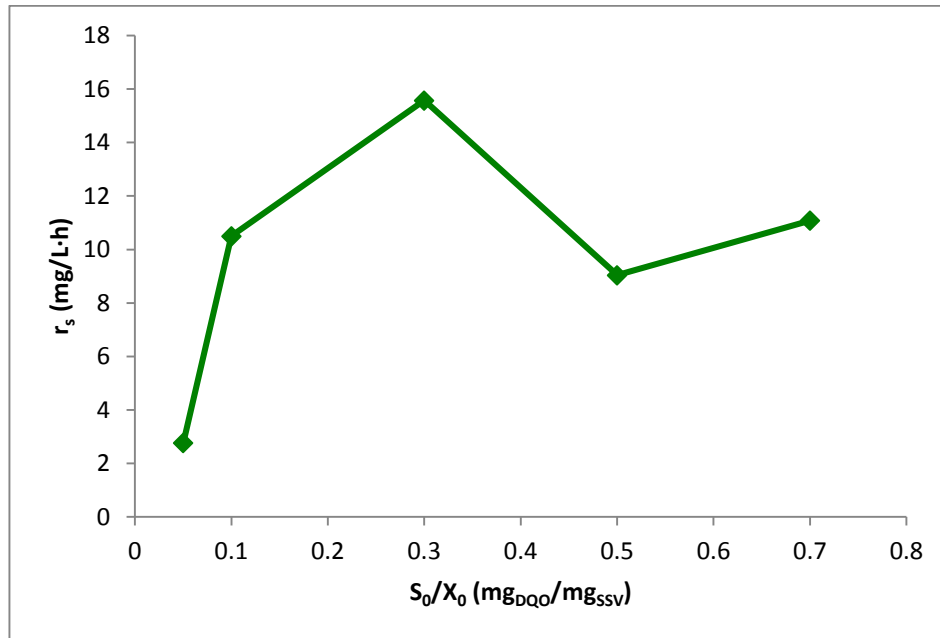


Figura 4.2 Velocidad de consumo de sustrato
en los experimentos de degradabilidad del efluente acuícola

Si analizamos la segunda fase, se puede observar que, en la corrida experimental sin cosustrato $S_0/X_0 = 0.05 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}$, al final de la fase endógena se logra alcanzar una DQO menor que la DQO_0 , lo cual revela que sí es posible degradar el efluente acuícola, sin la necesidad de una adición de una fuente de carbono complementaria, como cosustrato, sin embargo la velocidad de degradación resulta la más baja (Figura 4.2) y, aún en la fase endógena hay una disminución de la concentración de DQO_{sol} , lo cual implica que sigue habiendo una degradación de los compuestos orgánicos solubles lentamente biodegradables, es decir, los productos microbianos solubles (SMP) y la fracción más lentamente biodegradable del efluente acuícola. Con las cargas orgánicas $S_0/X_0 = 0.1$ y $0.3 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}$, también se logran alcanzar DQO_{sol} inferiores a la DQO_0 , lo cual indica que en estas condiciones de operación también es posible degradar el efluente acuícola en la fase exógena y se alcanzan velocidades más altas de degradación (Figura 4.2).

Por el contrario, en las cargas orgánicas más altas, no se alcanzan a obtener concentraciones de DQO_{sol} inferiores a la DQO_0 , lo que implica que los residuos metabólicos de las bacterias persisten en forma soluble en el reactor y por lo tanto no es conveniente usar estas condiciones de operación cuando se va a tratar este efluente acuícola.

El coeficiente de decaimiento k_d se incrementa al aumentar la carga orgánica (Figura 4.3), lo que podría explicarse por la degradación de productos de reserva de energía que fueron sintetizados, durante la fase exógena, en las cargas orgánicas más bajas y que hacen que haya una lenta velocidad de decaimiento. Estas condiciones de operación resultarían más favorables ya que con menores tasas de decaimiento se va a mantener una mayor cantidad de biomasa en el reactor biológico. Además, si se tienen lentas velocidades de degradación el incremento en la DQO_{sol}, podría deberse a un fenómeno de lisis celular que se presenta en condiciones de alta relación C/N (Zielinska *et al.*, 2012).

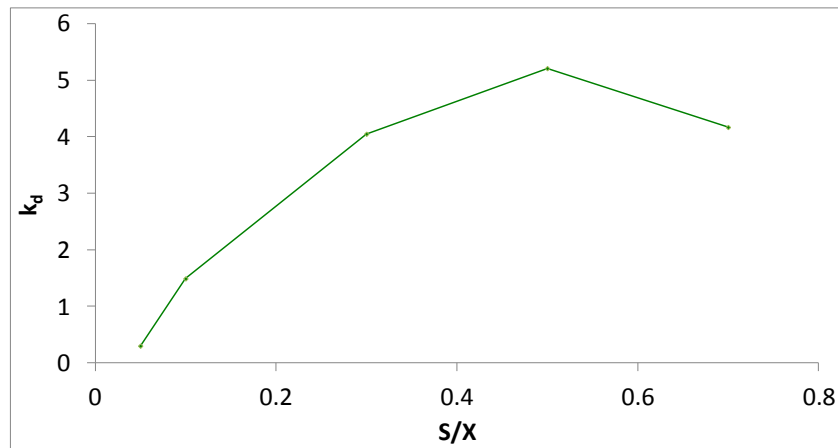


Figura 4.3. Coeficiente de decaimiento en corridas experimentales

4.2 Seguimiento de la operación del MBBR

4.2.1 Cultivo de peces

Para obtener concentraciones de contaminantes iguales al inicio de cada corrida experimental, se hicieron biometrías en cada cambio de condición para ajustar los parámetros de biomasa y densidad de cultivo (Figura 4.4). Se puede observar que el consumo de alimento de los peces se alcanzaba a regularizar antes de la primer semana después de cada biometría, lo cual en principio servía para garantizar la uniformidad de en las concentraciones del efluente acuícola, de acuerdo con las condiciones de diseño planteadas. La alimentación fue realizada a un porcentaje de 1.43% el peso, lo que corresponde a un peso de aproximadamente 3kg/d (Figura 4.4). Este porcentaje corresponde a saciedad y fue reducido, respecto al 2% equivalente al peso del animal considerado inicialmente, según recomendaciones de Timmons, (2010), para evitar la acumulación de alimento no comido.

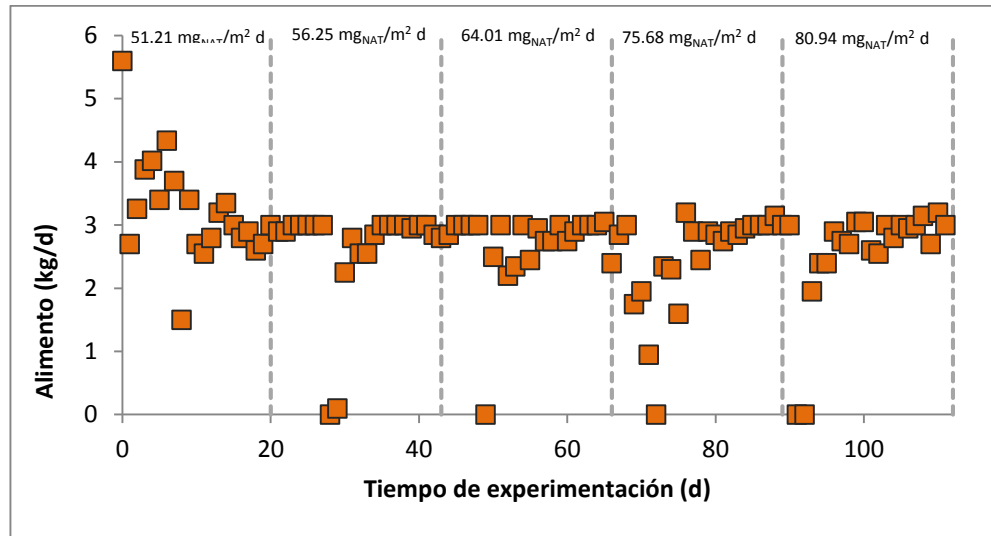


Figura 4.3 Tasa de alimentación proporcionada a los peces durante el periodo de estudio

Por otro lado, los ajustes practicados al cultivo, por biometría, buscaban lograr condiciones iniciales similares en cada corrida experimental, para garantizar la uniformidad en el cultivo. Se puede apreciar que únicamente en la primera carga se tuvo un número ligeramente superior, que se refleja también en un mayor incremento en la densidad alcanzada al final de la corrida experimental, sin embargo en ningún caso se tuvo una variación entre las respectivas densidades superior al 10% (Figura 4.5).

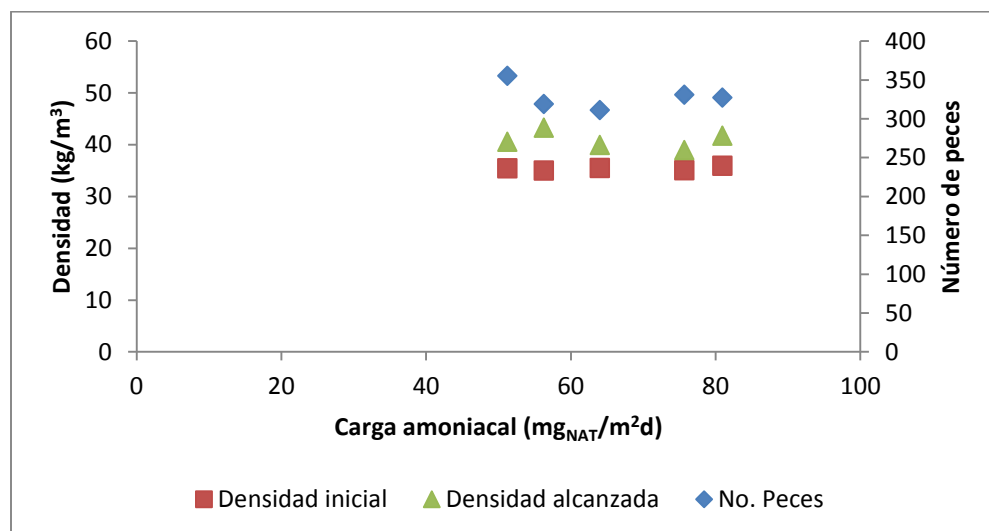


Figura 4.4. Relación de densidad y número de peces por corrida experimental

4.2.2 Seguimiento del reactor

Se operó el reactor para tratamiento del efluente acuícola por un periodo de 112d, durante el cual el sistema fue alimentado de forma continua con el agua residual proveniente del cultivo acuícola en recirculación, cuyas densidades se mantuvieron uniformes (Figura 4.5). También se presentan los valores experimentales de los parámetros fisicoquímicos, con objeto de analizar las condiciones fisicoquímicas en las que se encontraba el reactor biológico.

4.2.2.1 Temperatura y pH

La temperatura del agua de cultivo fue controlada a 26°C. Sin embargo, el sistema de tratamiento se encuentra en la parte del laboratorio que se encuentra a la intemperie, y por lo tanto la temperatura del agua en el reactor es afectada por la temperatura ambiente. Es importante resaltar éste hecho ya que la temperatura afecta solubilidad del oxígeno disuelto en el tanque y ésta a su vez, afecta la actividad biológica. En la nitrificación, una disminución de 10°C resulta en la disminución de la tasa de remoción del 50% (Timmons y Ebeling, 2010). Sin embargo, la temperatura no mostró descensos importantes, se tuvo una temperatura media y desviación estándar respectivamente de 25.3 ± 1.2 °C y en todos los casos se mantuvo la temperatura arriba de los 21 °C (Figura 4.6).

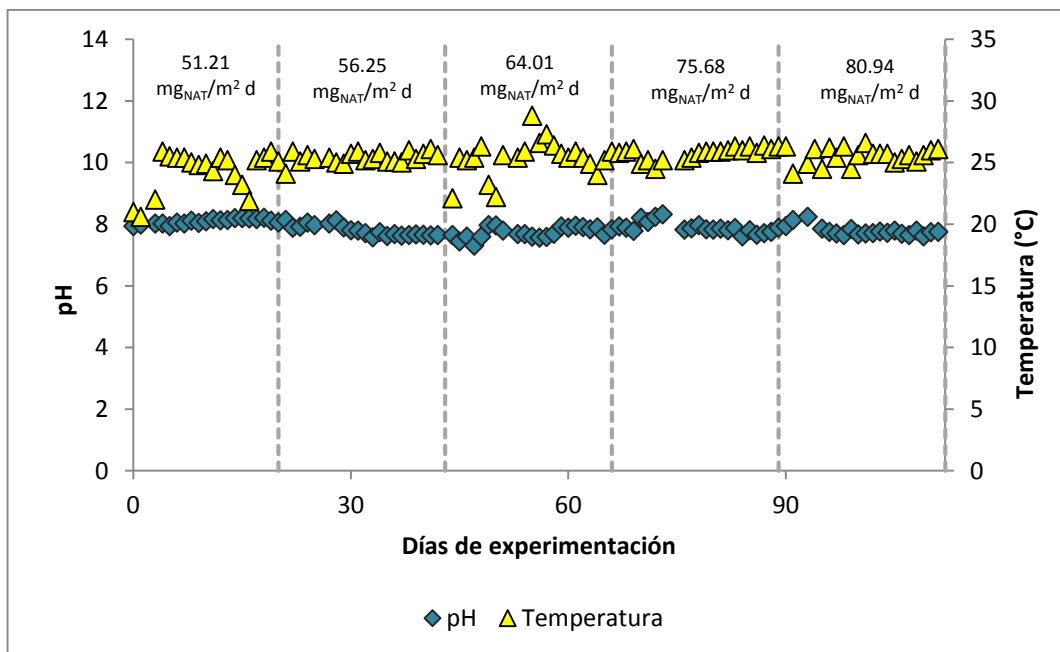


Figura 4.5 pH y temperatura en el reactor de lecho móvil, durante la experimentación

El pH, no obstante que no se controló, siempre se mantuvo muy estable con una media y desviación estándar de 7.9 ± 0.20 y respectivamente (Figura 4.6) y, todos los valores se encontraron en un rango de entre 7.3 y 8.32 en el periodo de estudio. Diversos estudios sugieren que la actividad de bacterias nitrificantes se presenta con valores entre 6 y 9, con un rango óptimo para nitrificación entre 7.2 y 7.8 (Timmons y Ebeling, 2010), que prácticamente coincide con el rango observado en los datos experimentales (Figura 4.6). Por otro lado, el pH cercano a la neutralidad es favorable al cultivo de peces. Cabe destacar que la proporción de nitrógeno amoniacal en forma no ionizada (N-NH_3) depende de este valor. Para éste experimento y bajo las condiciones de operación utilizadas, se estima que el 4.3% del nitrógeno amoniacal se encuentra como N-NH_3 (Timmons y Ebeling, 2010), lo que corresponde a una concentración estimada de 0.012 mg/L, cifra menor al valor tóxico reportado para tilapias (0.02 mg/L) (Beveridge y McAndrew, 2000).

4.2.2.2 Oxígeno disuelto

En este caso, el suministro de aire se relaciona con la turbulencia, y es importante encontrar un equilibrio entre agitación del material de soporte, que debe mantenerse completamente agitado, pero sin someterse a fuerzas cortantes extremas, ya que se podría ocasionar desprendimiento de la biopelícula (Orantes, 2001). En ese sentido, se buscó el flujo de aire mínimo que garantizara la agitación completa del material de soporte. El oxígeno suministrado también aporta el oxígeno necesario para la actividad metabólica de las bacterias, tanto heterótrofa como autótrofa. Por tal motivo, resultaba importante medir el oxígeno disuelto todos los días en el reactor. La media y desviación estándar obtenidas en estas determinaciones fueron de 4.02 ± 0.59 mg/L respectivamente (Figura 4.7). En todos los casos, éste parámetro se mantuvo muy por arriba de los 2mg/L, requeridos para mantener altas tasas de nitrificación (Timmons y Ebeling, 2010; Chen *et al.*, 2006).

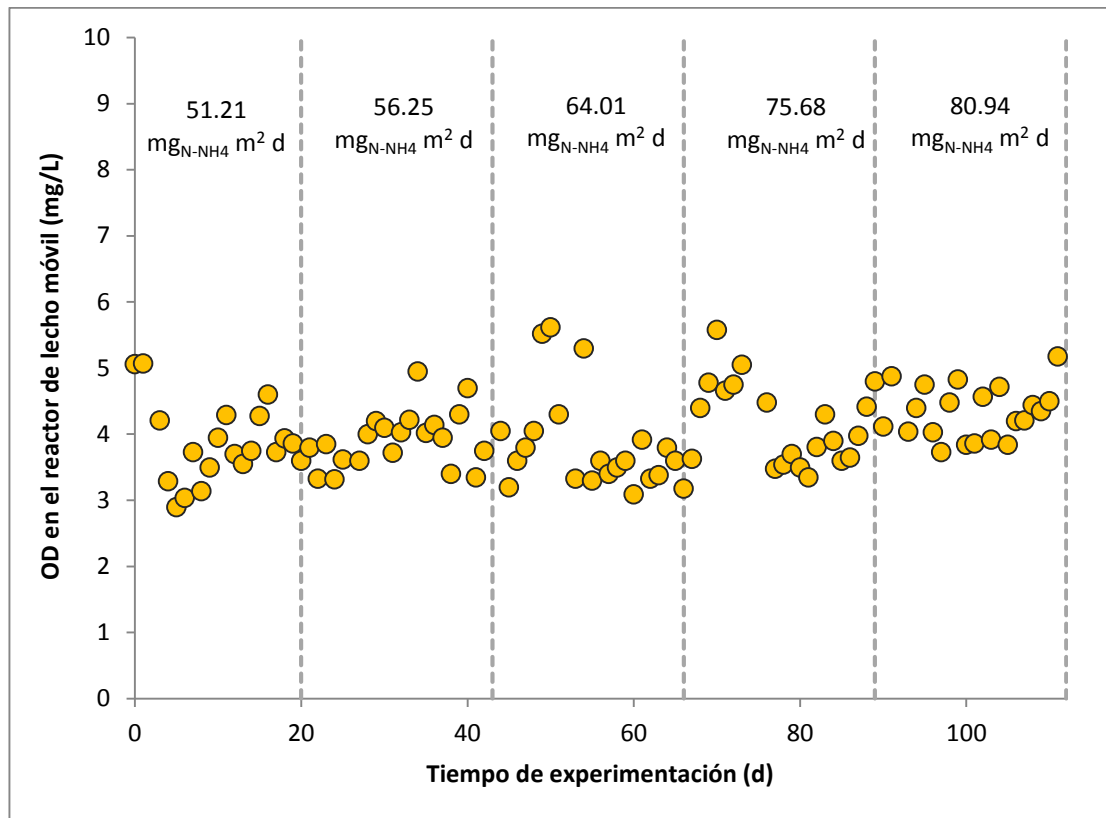


Figura 4.6 Concentraciones de OD en el reactor de lecho móvil durante la experimentación

4.2.3 Remoción de N-NH₄

La concentración de nitrógeno amoniacal en la entrada del sistema, es considerado el factor de diseño más importante para un sistema de tratamiento MBBR. La remoción de nitrógeno amoniacal de un sistema se encuentra relacionada con la presencia de microorganismos capaces de transformarlo en compuestos más oxidados. Durante 112 días, se estudiaron las tasas de remoción de nitrógeno amoniacal total en el sistema MBBR, como ATR, bajo cinco condiciones de carga amoniacal, medidas como $\text{mg}_{\text{N-NH}_4}/\text{m}^2\text{d}$. Estas cargas se estimaron con base en la concentración de NAT alcanzada después del periodo de estabilización de 14 d, correspondiente a dos tiempos de retención celular teóricos para bacterias nitrificantes (Metcalf y Eddy, 2014). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.2. Cabe resaltar la dificultad de conseguir condiciones estables durante la experimentación, debido a diferentes factores como el comportamiento de peces en el cultivo, alimentación después de periodos de estrés, condiciones climáticas, entre otras.

Tabla 4.2 Cargas experimentales probadas en la experimentación

Corrida experimental	Material de soporte de BP en el tanque	Carga amoniacal teórica	Carga amoniacal real
	%	(mg _{N-NH4+} /m ² ·d)	(mg _{N-NH4+} /m ² ·d)
1	50	151	51.21
2	45	168	56.25
3	40	189	64.01
4	35	216	75.68
5	30	252	80.94

Puede observarse que en todos los casos, las cargas amoniales experimentales fueron considerablemente menores a las concentraciones teóricas, estimadas con base en la metodología de diseño recomendada para este tipo de sistemas (Timons, 2010). Lo anterior puede deberse al bajo porcentaje de proteína que contiene el alimento utilizado y a la falta de asimilación por parte de los peces, debido a la edad, talla o condiciones climáticas. De cualquier forma sería importante tomar en consideración posibles correcciones a estas estimaciones, dada la importancia de este parámetro en la operación de los sistemas de tratamiento de agua en los RAS. También se analizaron las concentraciones de las diferentes formas de nitrógeno presentes en el medio para cada corrida experimental (Tabla 5.3).

Tabla 4.3 Concentraciones de compuestos de nitrógeno en la entrada y salida del reactor en las corridas experimentales

	C1 (51.21 mg _{N-NH4+} /m ² d)		C2 (56.25 mg _{N-NH4+} /m ² d)		C3 (64.01 mg _{N-NH4+} /m ² d)		C4 (75.68 mg _{N-NH4+} /m ² d)		C5 (80.94 mg _{N-NH4+} /m ² d)	
	Inf	Efl	Inf	Efl	Inf	Efl	Inf	Efl	Inf	Efl
NAT (mg/L)	0.29	0.08	0.29	0.08	0.29	0.08	0.30	0.05	0.28	0.05
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	0.12	0.05	0.17	0.05	0.14	0.05	0.24	0.07	0.17	0.07
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	6.83	5.83	11.00	12.10	12.97	10.63	9.83	10.40	8.97	9.27
N _{TOT} (mg/L)	16.75	17.20	21.67	16.33	25.57	25.97	29.90	30.93	19.20	20.30
NTK (mg/L)	9.80	11.32	10.50	4.23	12.46	15.32	19.82	20.52	10.06	11.03

Las tasas de remoción de amoníaco obtenidas alcanzan valores de hasta 84%, similares a las reportadas para otros sistemas de tratamientos de efluentes acuícolas (Drennan *et al.*, 2006; Rusten *et al.*, 2006; Terjesen *et al.*, 2013; Guerdat *et al.*, 2010) con lo cual puede afirmarse que los reactores MBBR son útiles para los sistemas de acuicultura.

Las tasas de remoción de nitrógeno amoniacal por unidad de área observadas, oscilan entre 31.8 y 67.7 $\text{mg}_{\text{N-NH}_4}/\text{m}^2\cdot\text{d}$, con valores menores a las observadas por otros autores que trabajaron con efluentes acuícolas (Terjesen *et al.*, 2013; Guerdat *et al.*, 2010; Pfeiffer y Wills, 2011). Puede observarse una relación lineal con el aumento de carga amoniacal, lo cual asemeja a lo reportado por Rusten *et al.* (2006) y Zhang *et al.* (2013) para cargas amoniacales bajas. Esta relación lineal también se aplica al contenido de sólidos acumulada por unidad de área superficial (Figura 4.8). Cabe notar que si bien se considera que la actividad de la biopelícula no es proporcional a la cantidad de biomasa en la biopelícula (Lazarova y Manem, 1995), estos resultados si muestran una correlación entre cantidad de biomasa y tasas de nitrificación, en las condiciones de trabajo experimentales. Estos resultados implican que se tienen tasas de degradación de primer, orden en la remoción de amonio, considerando que esta cinética puede ser linearizada en cargas bajas, dado que la biopelícula en los reactores de lecho móvil presenta una cinética tipo Monod (Orantes-Avalos y González Martínez, 2003).

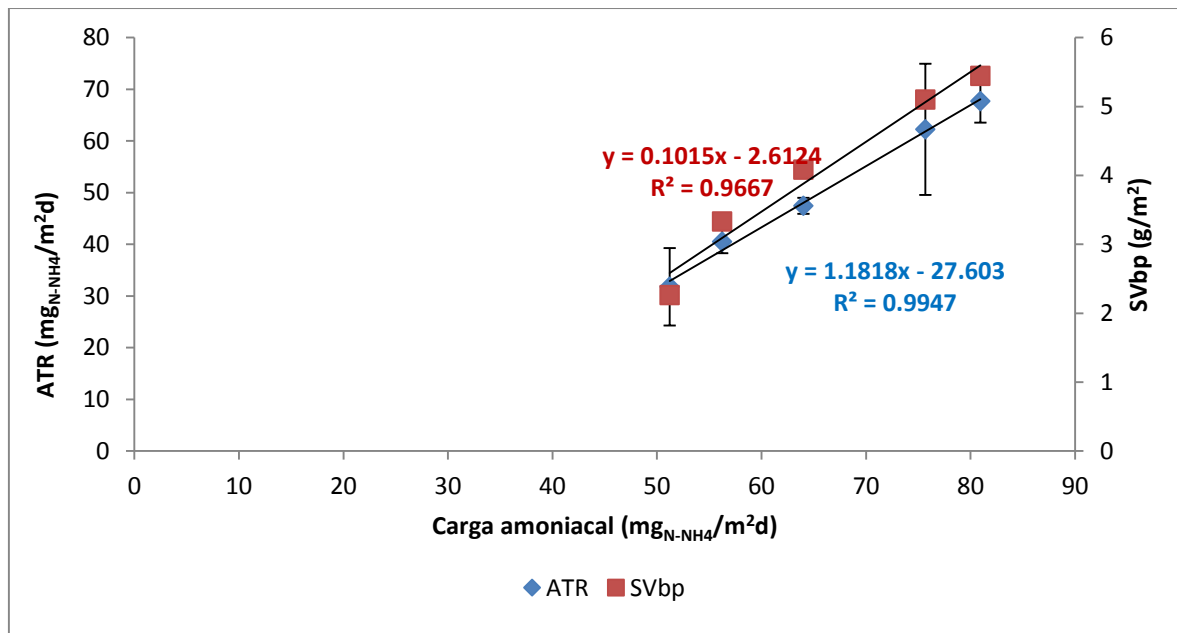


Figura 4.7 Relación de la carga amoniacal con las tasas de remoción de NAT y acumulación de sólidos en biopelícula

Es importante resaltar que no obstante que la relación C/N es considerada determinante para la presencia de bacterias autótrofas nitrificantes, en esta experimentación no fue controlado, con objeto de no incrementar los costos de operación del sistema de tratamiento, derivados de la adición de sustratos exógenos. Los valores de la relación C/N estimados para esta experimentación se mantuvieron entre 1.8 y 3.5, medidos como DQO/NTK, lo cual sugiere que efectivamente se tenía presencia de bacterias nitrificantes en el sistema de tratamiento (Timmons y Ebeling, 2010; Guerdat *et al.*, 2011). También ha sido reportado que las mayores tasas de remoción de amonio se obtienen en reactores operados con relaciones C/N bajas (Zielinska *et al.*, 2012; Suhr *et al.*, 2012; Seixo *et al.*, 2004).

4.2.3.1 *Tiempo de retención celular*

El tiempo de retención celular se define como el tiempo promedio que las células permanecen en el sistema, el cual puede ser calculado como:

$$TRC = \frac{ST_{biopelícula} \cdot A}{ST_{efluente} \cdot Q}$$

Donde

$ST_{biopelícula}$ = Cantidad de sólidos en la biopelícula (mg/m²)

A = Área superficial disponible para el crecimiento microbiano (m²)

$ST_{efluente}$ = Cantidad de sólidos en el efluente (mg/L)

Los TRC altos, que se relacionan con bajas tasas de crecimiento de microorganismos y consecuentemente bajas tasas de producción de lodos (Metcalf y Eddy, 2003). Estos TRC altos permiten además, que se tenga una mayor diversificación de las especies presentes en las poblaciones microbianas. Esto le da mayor estabilidad al sistema y permiten mayores tasas de remoción (Orantes, 2001). En la experimentación se estimaron TRC de que se encuentran entre 1.6d y 7.22d, para las cargas amoniales de 51.21 mg/m²d y 80.94 mg/m².d respectivamente (Figura 4.9). Estos TRC, con excepción del más bajo (i.e. 1.6 mg/m²d, están ligeramente debajo de los óptimos (Metcalf y Eddy, 2003), no obstante, se reportan adecuados para que se lleve a cabo nitrificación (Rusten *et al.*, 1994).

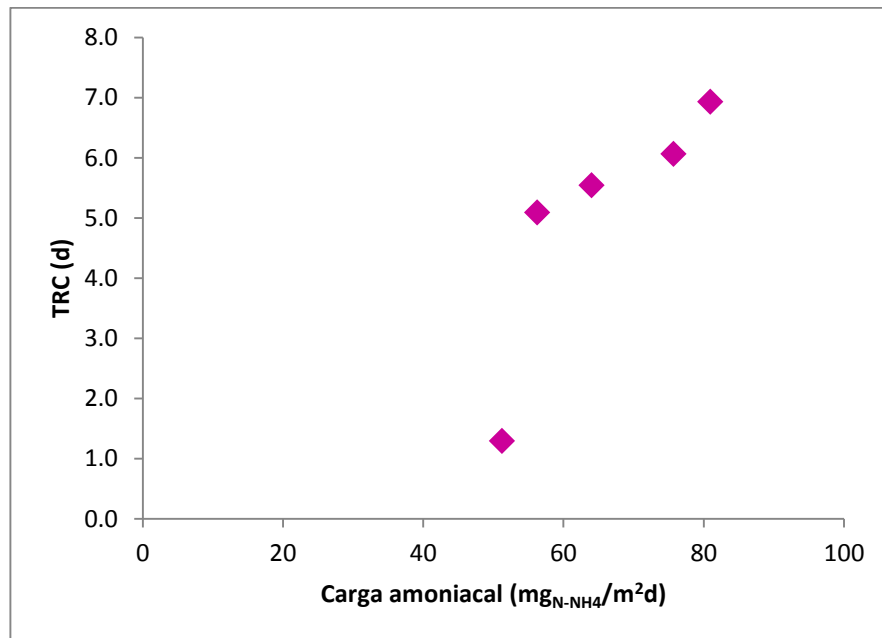


Figura 4.8 Tiempo de retención celular

En las tasas de producción promedio de N-NO_3^- y N-NO_2^- , en cada carga amoniacal, no existe una tendencia marcada. Esto puede deberse a la recirculación en el sistema ya que estos compuestos de nitrógeno son difícilmente utilizados por las bacterias para síntesis celular, dado que por su carga iónica, no resultan tan afines al transporte activo a través de la membrana celular. Se sabe que las formas de nitrógeno menos oxidadas, tienden a oxidarse más fácilmente en presencia de sustrato (nitrógeno amoniacal) y oxígeno disponible (Timmons y Ebeling, 2010). Es por ello que la mayoría de estas especies químicas son transformadas en nitratos. Existe un incremento de 20% en la acumulación de nitritos en las mayores cargas, debido a que existe una mayor cantidad de sólidos en la biopelícula, lo que podría intervenir en la difusión de sustrato a través de la misma, ya que el coeficiente de difusión de nutrientes disminuye a medida que el grosor de la biopelícula, además de que el OD se encuentra menos disponible para las bacterias (Characklis y Marshall, 1989).

4.2.4 Asimilación de nitrógeno

La asimilación de nitrógeno, entendida como la cantidad de nitrógeno que fue eliminada del efluente acuícola y utilizada para la formación de biomasa, se calculó con base en la determinación del porcentaje de nitrógeno en la biomasa sintetizada. Los resultados indican que el porcentaje de nitrógeno en la biomasa sintetizada y las tasas de nitrificación se incrementan

conforme aumenta la carga amoniacal, lo cual concuerda con lo reportado por Zhang *et al.* (2013), quienes relacionan el contenido de proteínas en la biomasa, con el aumento en las tasas de nitrificación.

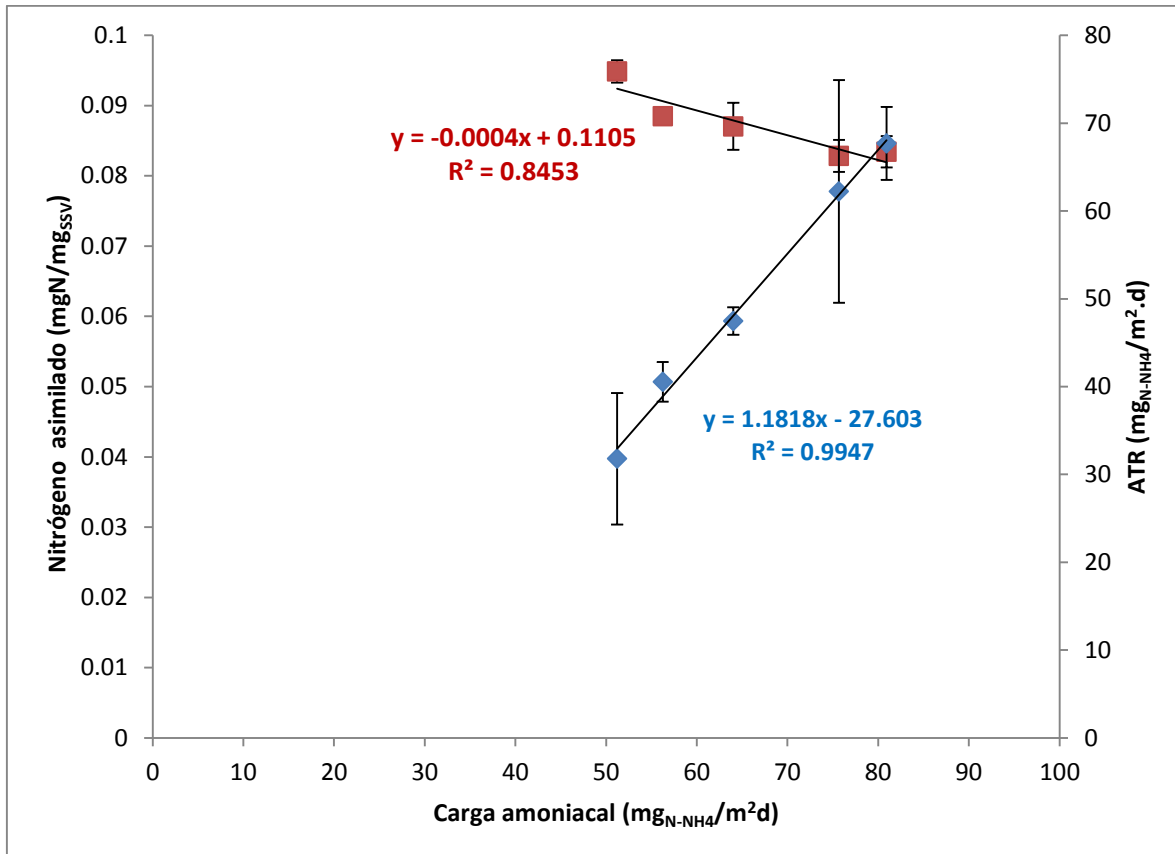


Figura 4.9 Relación de nitrógeno asimilado y tasas de nitrificación en la biomasa formada

Este análisis fue comparado con la composición de carbohidratos en la biomasa (Figura 4.11), lo cual muestra que se tiene una relación directamente proporcional entre el contenido de polisacáridos y la cantidad de biomasa en el reactor y, una relación inversamente proporcional del contenido de proteínas en la biomasa. Esto último difiere de los resultados reportados por Zhang *et al.* (2013), quien encuentra una relación directamente proporcional del contenido de proteína en la biomasa. El aumento en la concentración de carbohidratos puede explicarse como una acumulación de polímeros (*i.e.* PHA, polisacáridos) que sintetizan las bacterias como productos de almacenamiento de reservas de energía, en cargas orgánicas bajas (Lobos *et al.*, 2005). La síntesis de productos de reserva es más simple y necesita una energía mucho menor que la síntesis de los compuestos celulares. La síntesis de estos compuestos es relativamente simple y necesita de

energía mucho menor que los compuestos celulares, por ello esta respuesta es mucho más rápida que el crecimiento (Orantes, 2005).

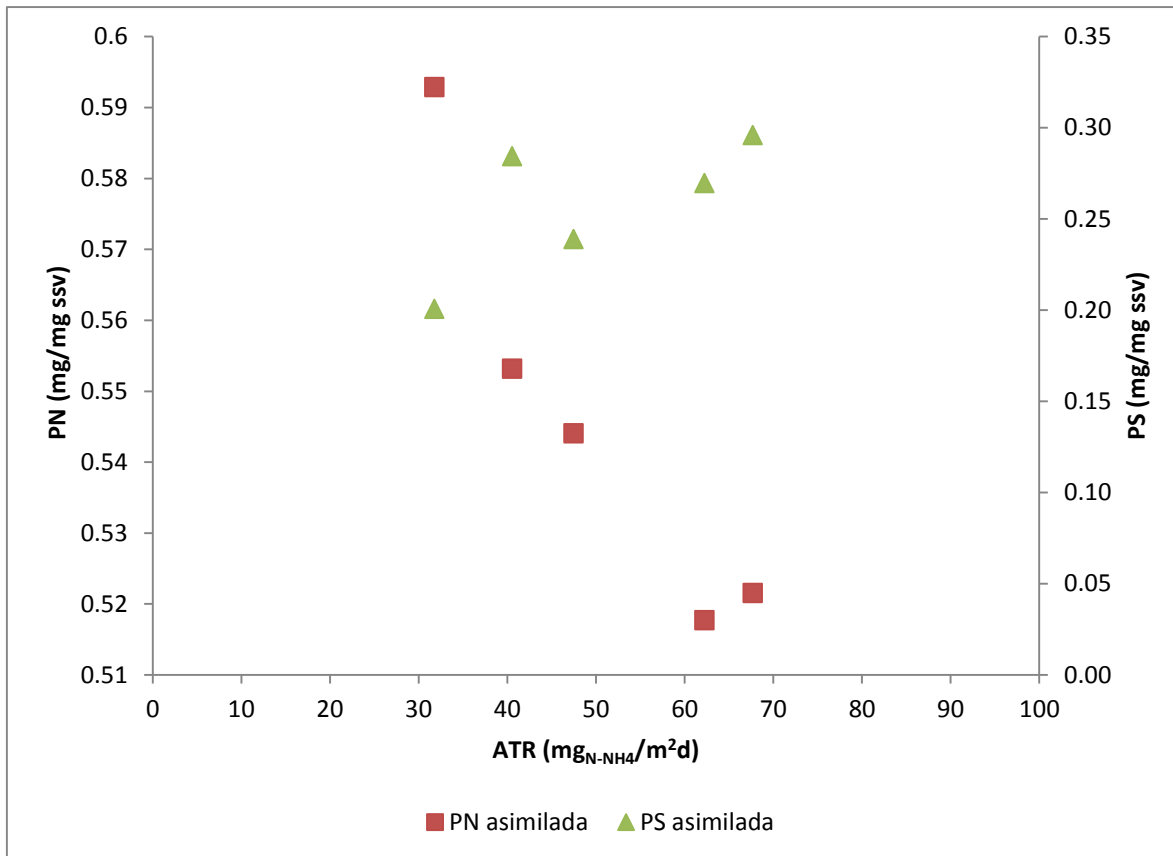


Figura 4.10 Composición de la biomasa formada

Dentro de las características de biopelículas nitrificantes, cabe destacar la presencia de bacterias heterótrofas y autótrofas nitrificantes. Los polisacáridos se forman por bacterias heterótrofas, las cuales utilizan los productos solubles microbianos (SMP) que producen las bacterias nitrificantes, tanto en su actividad metabólica como por el propio decaimiento de la biomasa. De la misma forma, las proteínas son constituyentes de biopelícula formados a través del catabolismo de compuestos nitrogenados (Zhang *et al.*, 2013).

4.2.5 Remoción de materia orgánica

Las concentraciones medias de DQO total y soluble medidas durante la experimentación se encuentran reportadas en las tablas 4.4 y 4.5, respectivamente. Los valores de DQO total y soluble se muestran muy parecidos tanto en el influente como en el efluente.

Tabla 4.4 Concentraciones de DQO total en la entrada y salida del reactor

	C1 (0.051 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C2 (0.056 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C3 (0.064 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C4 (0.075 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C5 (0.081 g _{N-NH4+} /m ² .d)
DQO _{TOT} inf (mg/L)	67	54	39	46	34
DQO _{TOT} efl (mg/L)	55	43	37	34	27
Remoción (%)	18	20	7	27	21
E (g _{DQO} /m ² .d)	2.12	2.16	0.59	3.11	2.16

Tabla 4.5. Concentraciones de DQO soluble en la entrada y salida del reactor

	C1 (0.051 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C2 (0.056 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C3 (0.064 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C4 (0.075 g _{N-NH4+} /m ² .d)	C5 (0.081 g _{N-NH4+} /m ² .d)
DQO _{SOL} inf (mg/L)	56	44	36	36	24
DQO _{SOL} efl (mg/L)	53	38	30	29	21
Remoción (%)	5	14	17	19	14
E (g _{DQO} /m ² .d)	0.53	1.24	1.32	1.77	0.98

La eficiencia de remoción de DQO (g_{DQO}/m².d) definida como la rapidez con la cual se degrada la materia orgánica por los microorganismos por unidad de tiempo, puede calcularse de acuerdo a la ecuación:

$$E = \frac{Q \cdot (DQO_{inf} - DQO_{ef})}{A}$$

Donde:

E = Eficiencia de eliminación de materia orgánica (g_{DQO}/m².d)

Q = Caudal de alimentación (m³/d)

DQO_{inf} = Concentración de sustrato en el influente (g_{DQO}/m³)

DQO_{ef} = Concentración de sustrato en el efluente (g_{DQO}/m³)

A = Área de crecimiento de los microorganismos (m²)

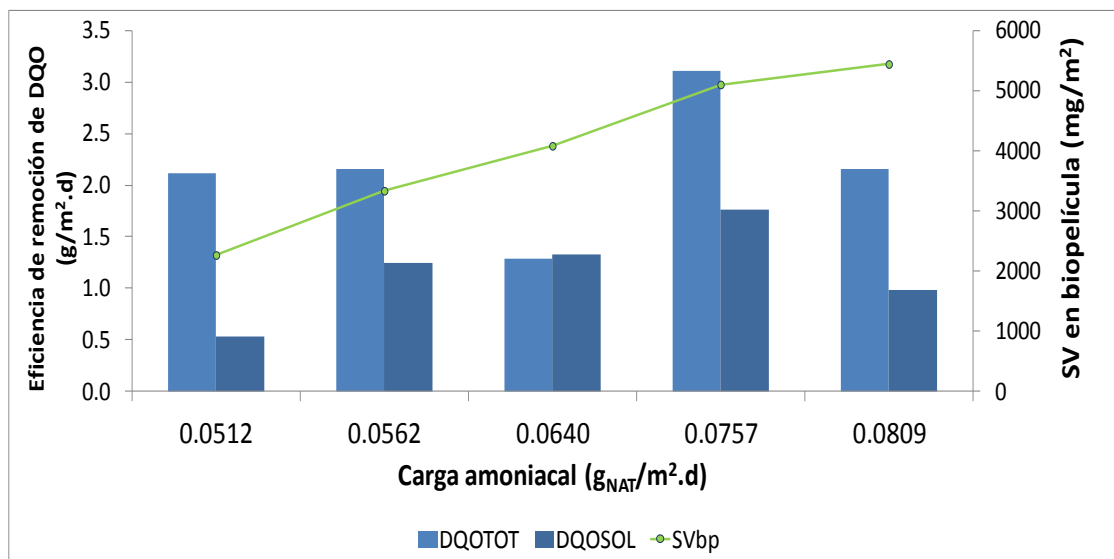


Figura 4.11. Relación de tasas de remoción de DQO con sólidos volátiles en biopelícula

En cuanto a las tasas de remoción de DQO total tuvo un máximo de 27% en la corrida 4 y un mínimo de 7% en la corrida 3. De la misma forma, en cuanto al DQO soluble tuvo un máximo en la corrida 4 con 18% y un mínimo en la corrida 1 con 5%. La remoción de DQO soluble si muestra una relación directamente proporcional al contenido de sólidos volátiles en biopelícula, ya que la DQO soluble es la que constituye directamente el sustrato para los microorganismos. La DQO total no muestra esta relación, dado que los TRH que no llegan a las 2h seguramente limitan la hidrólisis de los compuestos particulados y consecuentemente su degradación en la biopelícula.

Los resultados también muestran que el valor de DQO no se mantuvo constante, como se esperaba, ésta fue disminuyendo a lo largo de las corridas experimentales. Esta disminución podría atribuirse a la etapa de filtración al inicio del tren de tratamiento del efluente acuícola, además de que durante la experimentación se presentaron eventos de lluvia, lo que diluyó tanto el influente, como las concentraciones en general en todo el sistema de tratamiento que se encontraba a la intemperie. Esto resulta muy importante ya que la relación C/N modifica las tasas de nitrificación (Timmons & Ebeling, 2010; Seixo *et al.*, 2004; Guerdat *et al.*, 2011; Suhr *et al.*, 2012).

5 CONCLUSIONES

1. El reactor MBBR constituye un sistema de tratamiento de efluentes acuícolas con recirculación eficiente, al remover hasta el 84% de NAT en condiciones de operación para un cultivo de peces con densidades altas (35 kg/m^3), por lo tanto se concluye que es factible emplear un reactor de lecho móvil para el tratamiento de este tipo de efluentes.
2. El sustrato es biodegradable en condiciones de baja CO ($S_0/X_0 < 0.5 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}\cdot\text{d}$). Por lo que se concluye que es importante controlar tanto el contenido de materia orgánica, como la relación C/N, para garantizar cargas orgánicas aplicadas a los reactores de lecho móvil que permitan buenas tasas de remoción de materia orgánica y efluentes con bajas concentraciones de materia orgánica.
3. La tasa de nitrificación aumenta a medida que lo hace la carga orgánica amoniacal, estableciendo una cinética de primer orden, bajo las condiciones experimentales aplicadas.
4. La asimilación de nitrógeno en el sistema se redujo a mayores CA y, existe una relación inversamente proporcional de las tasas de remoción de NAT, con el contenido de proteínas, debido a la acumulación de productos de reserva de energía. Consecuentemente se concluye que lo más recomendable sería operar los reactores de lecho móvil con altas CA, pero bajas CO, con objeto de orientar la síntesis de biomasa hacia la producción de productos de reserva de energía y baja producción de lodos residuales.

6 REFERENCIAS

- Ahimou, F., Semmens, M., Haugstad, G. y Novak, P., (2007). Effect of protein, polysaccharide and oxygen concentration profiles on biofilm cohesiveness. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(9); 2905-2910
- Akker, B., Holmes, M., Pearce, P., Cromar, N. y Fallowfield, H., (2011). Structure of nitrifying biofilms in a high-rate trickling filter designed for potable water pre-treatment. *Water Research*, 45(11); 3489–3498
- Alves, C.F., Melo, L.F. y Vieira, M.J., (2002). Influence of medium composition on the characteristics of a denitrifying biofilm formed by *Alcaligenes denitrificans* in a fluidised bed reactor. *Process Biochemistry*. 37; 837–845.
- Arredondo, J.L. y Lozano, S.D., (2003). *La acuicultura en México*. Primera edición, México D.F. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Badiola, M., Mendiola, D. y Bostock, J., (2012). Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*. 51; 26–35.
- Bassin, J. P., Kleerebezem, R. Rosado, A. S., M. van Loosdrecht, M. C., Dezotti, M., (2012). Effect of different operational conditions on biofilm development, nitrification, and nitrifying microbial population in moving-bed biofilm reactors. *Environmental science & technology*. 46(3); 1546–55.
- Beveridge M.C.M. y McAndrew B.J. (2000). *Tilapias: Biology and exploitation* Primera edición. Dordrecht, Boston y London: Kluwer Academic Publishers
- Bocek, A., (2000). *Introducción a la acuicultura*. Primera edición. Universidad de Auburn. Alabama, USA.
- Cázarez Chávez, Denisse y Orantes Avalos, Julio César, (2014). Análisis de la biodegradabilidad de la material orgánica de un efluente de tilapia. *Memorias del 9º Congreso estatal de ciencia, tecnología e innovación*. Morelia, México.
- Characklis, W.G. y Marshall, K.C., (1989). *Biofilms*. New York. Wiley.
- Chen, S., Ling, J. y Blancheton, J., (2006). Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. 34; 179–197.
- Colt, J., Lamoureux, J., Patterson, R., Rogers, G., (2006). Reporting standards for biofilter performance studies. *Aquacultural Engineering*, 34(3); 377–388.

- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*. 270(1-4); 1–14.
- Drennan, D.G., Hosler K.C., Francis, M., Weaver, D., Aneshansley, E., Beckman, G., Johnson C. H., Cristina, C. M., Standardized evaluation and rating of biofilters. *Aquacultural Engineering*. 34(3); 403-416
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*. 350–356
- El-Hage, N. y Hattam, C., (2003). *Agricultura Orgánica, Ambiente Y Seguridad Alimentaria*. Primera edición. Roma. FAO.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura), (2012). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. FAO. Roma.
- Froese, R. y D. Pauly, Eds., (1999). *Fishbase*. Actualizada: Septiembre 2012. Fecha de consulta 01 de febrero del 2015. Disponible en www.fishbase.org
- Gerardi, M.I., (2006). *Wastewater Bacteria*. Primera edición. USA. Wiley.
- Gonzalez, M. y Lopez, F., (2008). Membrane-attached biofilm reactor behavior under different flow rate conditions in the treatment of a synthetic wastewater. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 7(3); 183–193
- Guerdat, T. C., Losordo, T. M., Classen, J. Osborne, J., DeLong, D., (2010). An evaluation of commercially available biological filters for recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*. 42(1); 38–49.
- Guerdat, T. C., Losordo, T. M., Classen, J. Osborne, J., DeLong, D., (2011). Evaluating the effects of organic carbon on biological filtration performance in a large scale recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*. 44(1); 10–18
- Hamilton, M., Heersink J., Buckingham-Meyer K., Goeres D., (2003). *The biofilm laboratory: Step by step protocols for experimental design, analysis and data interpretation*. Primera edición. CYT-RG. Montana.
- Henry, J.G. y Heike G.W., (1999). *Ingeniería ambiental*. Segunda edición. Naucalpan, Estado de México. Pearson education.
- Hoang, V., Delatolla, R., Abujamel, T., Mottawea, W., Gadbois, A. y Laflamme, E., (2013). Nitrifying Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) biofilm and biomass response to long term exposure to 1°C. *Water Research*. 49; 215-224.

- Van Hulle, S. W. Vandeweyer, H. J.P., Meesschaert, B. D., Vanrolleghem, P. A., Dejans, P., Dumoulin, A. (2010). Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal*. 162; 1-20.
- Lazarova, V. y Manem, J., (1995). Biofilm characterization in water and wastewater treatment. Pergamon. 29(10); 2227-2245.
- Liu, Y., Liu, Q. S. y J-H., T., (2005). Initial conditions-dependent growth kinetics in microbial batch culture. *Process biochemistry*. 40; 155–160.
- Lobos, J., Wisniewski, C., Heran, M., Grasmick, A., (2005). Investigation du comportement biologique aérobie en réacteur ferme pour une minimisation de la production de boues en Bioreacteur a membranes. *Récents Progrès en Génie des Procédés*. 92.
- Losordo, T.M., Masser, M.P. y Rakocy, J., (1998). Recirculating Aquaculture Tank Production Systems An Overview of Critical Considerations. SRAC Publication. 451
- Matigan, M.T., Martinko, J.M. y Parker, J., (2004). Brock: Biología de los microorganismos. Décima edición, Madrid. Pearson Education.
- Meng, Q., Yang, F., Liu, L., Meng, F., (2008). Effects of COD/N ratio and DO concentration on simultaneous nitrification and denitrification in an airlift internal circulation membrane bioreactor. *Journal of environmental sciences (China)*. 20(8) 933–939.
- Metcalf y Eddy, (2003). Wastewater engineering. Treatment and reuse. Cuarta edición. México. McGraw Hill.
- Metcalf y Eddy, M., (2014). Wastewater engineering treatment and resource recovery. Quinta edición. New York. McGraw Hill.
- Michaud, L., Blancheton J.P., Bruni V., Piedrahita R., (2006) Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacultural Engineering*. 34(3); 24–233.
- Nora'aini, A., Wahab M., Jusoh, A., Hasan, M.R., Ghazali, N., Kamaruzaman, K., (2005). Treatment of aquaculture wastewater using ultra-low pressure asymmetric polyethersulfone (PES) membrane. *Desalination*. 185 (1-3); 317–326.
- Ødegaard, H., Gisvold, B. y Strickland, J., (2000). The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process. *Water Science and Technology*. 41(4-5); 383–391.
- Orantes, J.C., (2005). Cinetiques reactionnelles et performances de filtration en bioreacteur a membranes immergees sous retention totale de biomasse. Tesis de doctorado. Universite Montpellier II.

- Orantes, J.C., (2001). Reactor de lecho móvil para tratar aguas residuales usando un nuevo material de soporte. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pfeiffer, T.J. y Wills, P.S. (2011). Evaluation of three types of structured floating plastic media in moving bed biofilters for total ammonia nitrogen removal in a low salinity hatchery recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*. 45(2); 51–59.
- Pollard, P.C. (2006). A quantitative measure of nitrifying bacterial growth. *Water research*, 40(8); 1569–1576.
- Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenes, Y., Lygren, E., (2006). Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Engineering*. 34(3); 322–331.
- Rusten, B., Siljudalen, J.G. y Nordeidet, B., (1994). Upgrading to nitrogen removal with the KMT Moving Bed Biofilm Process. *Water Science and Technology*, 29(12), pp.185–195.
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H. y Verreth, J.A.J, (2005). Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*. 32(3-4), 379–401.
- Schreier, H.J., Mirzoyan, N. y Saito, K., (2010). Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems. *Current opinion in biotechnology*. 21(3), 318–25.
- Seixo, J., Varela, M.H., Coutinho, J.A.P., Coelho, M.A.Z., (2004). Influence of C/N ratio on autotrophic biomass development in a sequencing batch reactor. *Biochemical Engineering Journal*; 21(2); 131–139.
- Stephenson, T., Reid, E., Avery, L.M. y Jefferson, B., (2013). Media surface properties and the development of nitrifying biofilms in mixed cultures for wastewater treatment. *Process Safety and Environmental Protection*. 91(4); 321–324.
- Suhr, K.I. y Pedersen, P.B., (2010). Nitrification in moving bed and fixed bed biofilters treating effluent water from a large commercial outdoor rainbow trout RAS. *Aquacultural Engineering*. 42(1); 31–37.
- Suhr, K.I., Pedersen, P.B. y Arvin, E., (2012). End-of-pipe denitrification using RAS effluent waste streams: Effect of C/N-ratio and hydraulic retention time. *Aquacultural Engineering*. 53; 57-64.
- Terjesen, B., Summerfelt, S., Nerland, S., Ulgenes, Y., Fjæra, S., Megård R., Britt K., Selset, R., Kolarevic, J., Brunsvik, P., Bæverfjord, G., Takle, H., Kittelsen, A., Åsgård, T., (2013). Design, dimensioning, and performance of a research facility for studies on the requirements of fish in RAS environments. *Aquacultural Engineering*. 54(2); 49–63.

- Terjesen, B., Summerfelt, S., Nerland, S., Ulgenes, Y., Fjæra, S., Megård R., Britt K., Selset, R., Kolarevic, J., Brunsvik, P., Bæverfjord, G., Takle, H., Kittelsen, A., H., Åsgård, T., (2013). Design, dimensioning, and performance of a research facility for studies on the requirements of fish in RAS environments. *Aquacultural Engineering*. 54(2), 49–63.
- Timmons, M. y Ebeling, J. M. (2010). *Recirculating aquaculture systems*. Segunda edición., Ithaca, NY. Cayuga Aqua Venture.
- Viveros-Viveros, Fernando, Soria-Leal, Lizeth, Negra-Jiménez, Isaías, Rueda-Jasso, Rebeca, Campos-Mendoza, Antonio y Orantes, Julio. (2013) Evaluación preliminar de un biofiltro para el tratamiento de un efluente acuícola. Memorias del 3er Congreso Young Water Professionals de la International Water Association. San Luis Potosí, México
- Wik, T.E.I., Lindén, B.T. y Wramner, P.I., (2009). Integrated dynamic aquaculture and wastewater treatment modelling for recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*. 287(3-4); 361–37.
- Zhang, S., Wang, Y., He, W., Xing, M., Wu, M., Yang, J., Gao, N., Sheng, G., Yin, D., Liu, S., (2013). Linking nitrifying biofilm characteristics and nitrification performance in moving-bed biofilm reactors for polluted raw water pretreatment. *Bioresource technology*. 146; 416–25.
- Zhu, S. y Chen, S., (1999). An experimental study on nitrification biofilm performances using a series reactor system. *Aquacultural Engineering*. 20, 245–259.
- Zielinska, M., Bernat, K., Cydzik-Kwiatkowska, A., Sobolewska, J., Wojnowska-Baryla, I., (2012). Nitrogen removal from wastewater and bacterial diversity in activated sludge at different COD/N ratios and dissolved oxygen concentrations. *Journal of Environmental Sciences*. 24(6); 990–998.

Anexos

Anexo A1 .- Diseño de MBBR

Tabla A.1 Condiciones de diseño para MBBR (Timmons y Ebeling, 2010)

PARAMETROS LIMITE (EN TANQUE)	
OD =	5 mg/L
NAT =	2 mg/L
CO ₂ =	20 mg/L
TSS =	10 mg/L
EFICIENCIAS IDEAL	
Transferencia de oxígeno =	90%
Remoción de NAT =	80%
Remoción de CO ₂ =	60%
Remoción de TSS =	90%
IMPACTO DEL TRATAMIENTO IDEAL	
OD _{,ideal} =	16 mg/L
NAT _{,ideal} =	0 mg/L
CO _{2,ideal} =	0.5 mg/L
TSS _{,ideal} =	0 mg/L
PARAMETROS SALIDA IDEAL	
OD _{,Sal} =	14.9 mg/L
NAT _{,Sal} =	0.4 mg/L
CO _{2,Sal} =	8.3 mg/L
TSS _{,Sal} =	1 mg/L
TANQUES ACUÍCOLAS	
Volumen por tanque =	5.4 m ³
No. Tanques =	1
Alimentación por peso =	2 %
Alimento necesario =	4.32 kg/d
Densidad de peces =	40 kg/m ³
TÉRMINOS DE PRODUCCIÓN CALCULADOS	
Sólidos =	1.8 mg/d
NAT =	99360 mg/d
REACTOR BIOLÓGICO	
Volumen de reactor =	1.82 m ³
VTR (diseño) =	0.65 kg _{N-NH₄} /m ³ .d
Volumen de Kaldnes mínimo =	0.15 m ³

Anexo A2.- Modificaciones del filtro

La red de drenaje en el momento del estudio cuenta con la capacidad de drenaje de 3.5 L/s, lo cual no garantiza el desalojo de contaminantes en condiciones de alta productividad de peces, > 4 L/s, considerando una productividad de 40 kg/m³, según la metodología de Timmons (Timmons y Ebeling, 2010). Es por ello que se modificó la red de tuberías que colecta el agua y la envía al sistema de tratamiento, colocando un sifón por estanque de cultivo (Figura A.1).



Figura A.1. Sifones en estanque

Los sólidos grandes provenientes principalmente de la alimentación y excretas de los peces, fueron retenidos por medio de un filtro de malla (Figura A.2a), que consiste en una rejilla de acero inoxidable con diámetro de malla de 40 μ m. Para retener los sólidos menores a este tamaño de partícula se colocó una trampa de tezontle en la parte inferior del tanque de llegada del efluente acuícola (Figura A.2b).

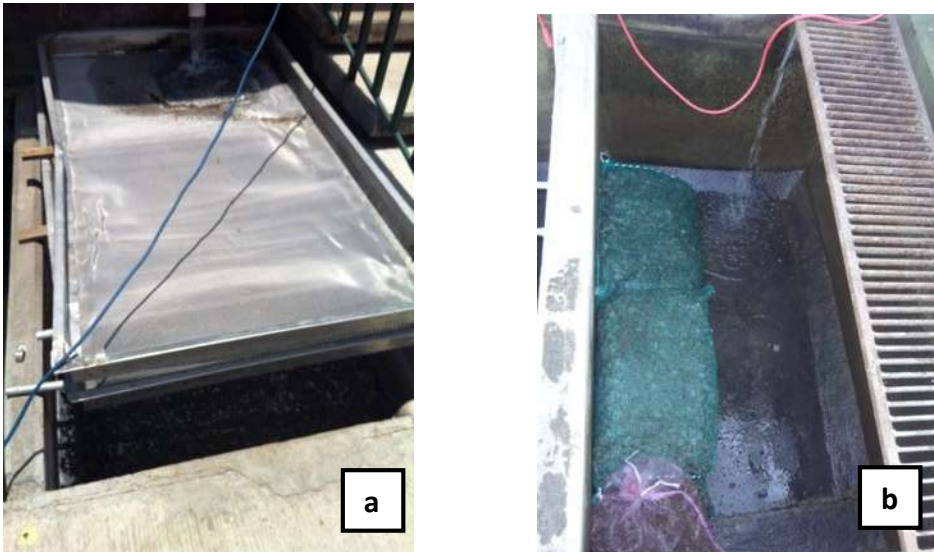


Figura A.2. Filtración de sólidos grandes a) Malla 40 μ m; b) Trampa de arena

En el reactor de lecho móvil se instalaron 4 difusores, utilizando tubería PBC y manipulando la concentración de oxígeno por medio de válvulas, obteniendo una concentración de oxígeno promedio de 6 mg/L (Figura A.3).

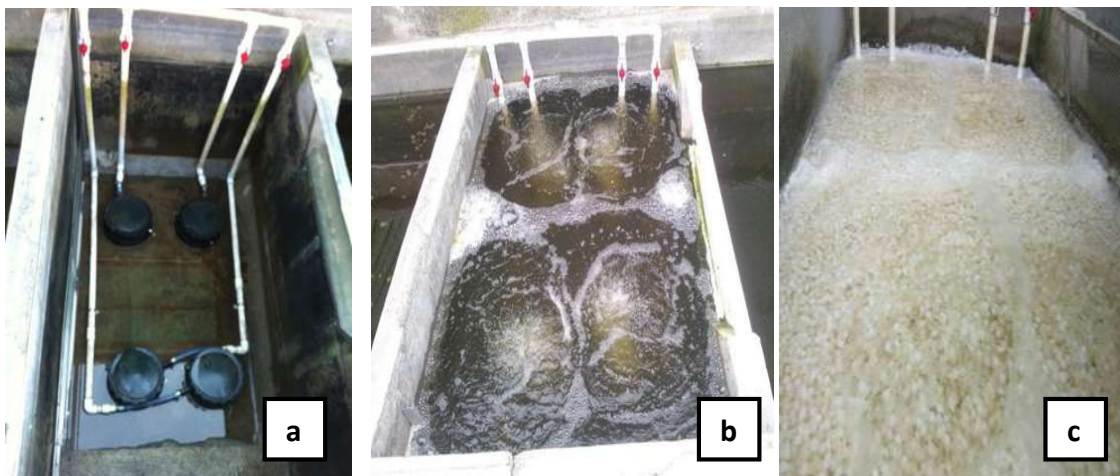


Figura A.3 Instalación de tubería y aireación en el reactor: a) Instalación de difusores; b) Pruebas de concentración de oxígeno y movimiento; c) Adaptación con material de soporte Kaldnes

Anexo A3.- Preinoculación

El material de soporte ha sido preinoculado durante 12 semanas, al estar en contacto 0.2 m³ de material de soporte Kaldnes® K1 (Figura A.4), con un volumen igual de sedimento obtenido del estanque R1 del filtro, que recibe el efluente en la etapa de tratamiento, suplementando a una relación C/N/P inicial de 150/15/1 (C/N = 10). En la Figura A.4 se muestra el inóculo obtenido en diferentes instantes.

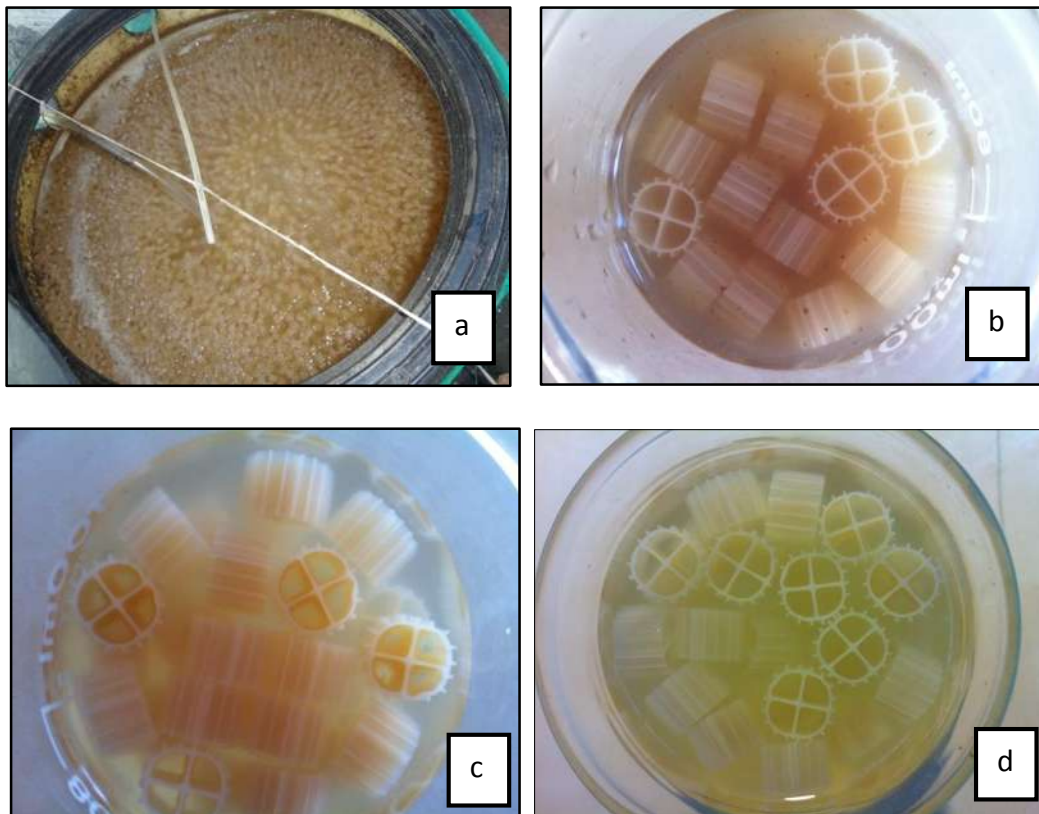


Figura A.4 Inóculo a) Preinóculo; b) Día cero; c) Día 40 y d) Día 81

Se ajustó el pH a unidades 7 y 8. Durante el periodo de aclimatación, se modificó la relación C/N a 5, para promover el crecimiento de bacterias nitrificantes, tras el día 40 y hasta el día 81, teniendo una considerable pérdida de biomasa. A los 81 días de inoculación, se tiene un consumo de NAT del 85%, de la cual el 15.47% representa la formación de nitratos. El carbono es consumido en un 27%.