

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN
SUPERIOR DE ENSENADA, BAJA CALIFORNIA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ACUICULTURA**

**Diseño y evaluación de un sistema de recirculación para
el lenguado de California (*Paralichthys californicus*)**

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Jorge Enrique Hernández Martínez

Ensenada, Baja California, México
2014

Tesis defendida por

Jorge Enrique Hernández Martínez

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Benjamín Barón Sevilla
Codirector

M. en C. José Guadalupe Espinoza Ibarria
Codirector

Dr. Manuel Alberto Segovia Quintero
Miembro del Comité

Dra. María Isabel Ramírez Aguilar
Miembro del Comité

Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Coordinador del Posgrado en
Acuicultura

Dr. Jesús Favela Vara
Director de Estudios de Posgrado

Noviembre, 2014

Resumen de la tesis que presenta **Jorge Enrique Hernández Martínez** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura

Diseño y evaluación de un sistema de recirculación para el lenguado de California (*Paralichthys californicus*)

Resumen elaborado por:

Jorge Enrique Hernández Martínez

Los sistemas de recirculación acuícola (SRA) son una herramienta muy importante para el desarrollo de la acuicultura en México, ya que permiten el cultivo de organismos en lugares con limitaciones de agua y espacio, proporcionando además, la calidad de agua necesaria según la especie, el estadio y el objetivo del cultivo. Sin embargo, los costos de inversión, mantenimiento y de operación son elevados en comparación con los sistemas de flujo abierto. El objetivo de este estudio fue diseñar y evaluar un sistema de recirculación para el mantenimiento de reproductores de lenguado de California, con un diseño simple y de bajo costo, en el que se incluyeron el menor número de elementos de patente o de manufactura extranjera. Los filtros mecánico y biológico se constituyeron con partículas de polietileno de baja densidad. Para la circulación del agua se utilizó un sistema de bombeo agua/aire.

Para evaluar la capacidad del filtro, en una primera etapa se estudió el efecto de 10, 20 y 30 recambios de agua del tanque de cultivo por día (equivalentes a 4.5, 6.5 y 9 L min⁻¹), sobre la capacidad del sistema de filtración, con una densidad de cultivo de 22.2 kg m⁻³. Las concentraciones de NAT fueron 0.82 ± 0.04, 0.77 ± 0.04 y 0.59 ± 0.01 mg L⁻¹; las de NO₂ 0.58 ± 0.04, 0.72 ± 0.05 y 0.33 ± 0.04 para 4.5, 6.5 y 9 L min⁻¹ respectivamente. Las TVCA observadas para el filtro de cama fija fueron de 64 ± 20.73, 62.89 ± 23.35 y 12.71 ± 23.28 g m⁻³ día⁻¹, mientras que para el filtro de cama fluidizada fueron de 54.76 ± 43.21, 16.75 ± 38.24 y 74.04 ± 61.24 respectivamente. En una segunda etapa se evaluó el efecto de la densidad de cultivo (22.2, 28.9 y 35.6 kg m⁻³) sobre la capacidad del SRA, utilizando la mejor tasa de recambio de agua resultante de la primera etapa del estudio. Se obtuvieron concentraciones de NAT cercanas a 0.25 mg L⁻¹ en todos los tratamientos, así como valores de NO₂ alrededor de 1 mg L⁻¹. Con los tratamientos de 22.2, 28.9 y 35.6 kg m⁻³ la TVCA para el filtro de cama fija fue de 82.52 ± 13.28, 89.08 ± 13.36 y 46.48 ± 13.56 g m⁻³ día⁻¹ de NAT removido, respectivamente; para la cama de filtro fluidizado fueron de 92.97 ± 46.59, 69.86 ± 54.89 y 60.91 ± 33.63 para los mismos tratamientos.

En ambos experimentos los sólidos suspendidos totales (SST) se mantuvieron en 17.5 ± 2.8 mg L⁻¹ en el tanque de cultivo y fueron removidos con una eficiencia promedio de 15% por pasada.

Se recomienda un recambio diario de 30 veces el tanque de cultivo, para generar la velocidad de arrastre suficiente para la remoción de sólidos del tanque. Bajo estas condiciones de carga, el sistema de filtración de 0.04m³ puede mantener fácilmente 16 kg de organismos con valores de NAT y NO₂ relativamente bajos.

Palabras clave: **recirculación, lenguado de California**

Abstract of the thesis presented by Jorge Enrique Hernández Martínez as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture

Design and evaluation of a recirculation aquaculture system for the California halibut (*Paralichthys californicus*)

Abstract by:

Jorge Enrique Hernández Martínez

The recirculating aquaculture systems (RAS) are very important tool for the development of aquaculture in Mexico, allowing the cultivation of organisms in areas with limited water and space, also providing, water quality required by species, life stage and the target crop. However, investment costs, maintenance and operation are high compared with open flow systems. The aim of this study was to design and evaluate a recirculating system for the maintenance of California halibut brood stock, with a simple and inexpensive design with fewer patented or foreign manufactured elements. The mechanical and biological filters are formed with particles of low density polyethylene. A pumping system air / water was used for water circulation. To assess the capacity of the filter, in a first step studied the effect of 10, 20 and 30 changes of the culture tank water per day (equivalent to 4.5, 6.5 and 9 L min⁻¹) on the system capacity filtration, using a culture density of 22.2 kg m⁻³. NAT concentrations were 0.82 ± 0.04, 0.77 ± 0.04 and 0.59 ± 0.01 mg L⁻¹; NO₂ concentrations were 0.58 ± 0.04, 0.72 ± 0.05 and 0.33 ± 0.04 to 4.5 0. 6.5 and 9 L min⁻¹ respectively. The TVCA observed for fixed bed filter were 64 ± 20.73, 62.89 ± 23.35 and 12.71 ± 23.28 g m⁻³ d⁻¹, while for the fluidized bed filter were 54.76 ± 43.21, 16.75 ± 38.24 and 74.04 ± 61.24 respectively. In a second step the effect of crop density (22.2, 28.9 and 35.6 kg m⁻³) on the ability of the SRA was assessed using the best water exchange rate resulting from the first stage of the study. NAT concentrations close to 0.25 mg L⁻¹ were obtained in all treatments and NO₂ values of about 1 mg L⁻¹. With treatments of 22.2, 28.9 and 35.6 kg m⁻³ TVCA for fixed bed filter was 82.52 ± 13.28, 89.08 ± 13.36 and 46.48 ± 13.56 g m⁻³ d⁻¹ NAT removed, respectively; for fluidized bed filter were of 92.97 ± 46.59, 69.86 ± 54.89 and 60.91 ± 33.63 for the same treatments.

In both experiments, the total suspended solids (SST) were maintained at 17.5 ± 2.8 mg L⁻¹ in the culture tank and were removed with an average efficiency of 15% per pass.

It is recommended a rate exchange water of 30 volume tank culture for day, for a better solid removal. Under these condition, 0.04 m³ of filter media can maintain easily 16 kg of organisms with low NAT and NO₂ values.

Keywords: **recirculation, California halibut**

Dedicatoria

A mi papá Francisco Javier Hernández Carrillo y a mi mamá Herminia:

“Lo que une la virtud, no lo separa la muerte”

Agradecimientos

A CONACYT por la beca de manutención recibida por dos años y a CICESE por permitirme trabajar en su posgrado.

A mis directores Benjamín Barón y José Ibarria, y a mis sinodales Isabel Ramírez y Manuel Segovia por su apoyo y guía.

A Norberto Flores por su apoyo técnico en el desarrollo del proyecto.

A Juan Pablo González por enseñarme a medir calidad del agua, y por hacerme reír de vez en cuando.

A los técnicos Jesús, Uvi y Chepo por su ayuda.

A todos mis amigos de Acuicultura (Vincent, Miguel, Paty, Anaid, Edgar, Melisa, Bernardo, Montse)

A mis Maestros Bety, Marisabel, José, Mónica, Juan Pablo, Benjamín, Eugenio, Segovia por los conocimientos transmitidos.

A todo el personal institucional.

A Brenda, mi compañera desde hace ya algún tiempo.

Y por supuesto a mi familia que me apoyó aún en los momentos más difíciles.

Tabla de contenido

	Página
Resumen español	iii
Resumen inglés	iv
Dedicatorias	v
Agradecimientos	vi
Lista de Figuras	ix
Lista de Tablas	xii
Capítulo 1. Introducción	
1.1 La acuicultura.....	1
1.1.1 Acuicultura de peces planos.....	3
1.2 Lenguado de California.....	3
1.3 Sistemas de cultivo.....	6
1.3.1 Sistemas Abiertos.....	6
1.3.2 Sistemas de recirculación.....	6
1.4 Componentes de un SRA.....	8
1.4.1 Sistema de bombeo (circulación).....	9
1.4.2 Remoción de sólidos.....	10
1.4.3 Biofiltración.....	12
1.4.4 Desgasificación.....	13
1.4.5 Aireación u Oxigenación.....	14
1.5 Calidad del agua.....	14
1.6 Nitrificación.....	17
1.6.1 Factores que afectan la nitrificación.....	18
1.7 Justificación.....	21
Capítulo 2. Hipótesis y Objetivos	
2.1 Hipótesis.....	22
2.2 Objetivos.....	22
2.2.1 Objetivo general.....	22
2.2.2 Objetivo particulares.....	22
Capítulo 3. Materiales y métodos	
3.1 Obtención de los organismos.....	23
3.2 Diseño del sistema.....	23
3.2.1 Cálculos del biofiltro.....	24
3.3 Maduración del biofiltro.....	25
3.4 Diseño experimental.....	25
3.4.1 Efecto de la velocidad de flujo.....	26
3.4.2 Efecto de la densidad de cultivo.....	26
3.5 Medición de la calidad del agua.....	26
3.5.1 Nitrógeno amoniacal total.....	26
3.5.2 Nitritos.....	27

Contenido (continuación)

3.5.3 Nitratos	27
3.5.4 Oxígeno disuelto y pH.....	27
3.5.5 Sólidos suspendidos totales	27
3.5.6 Flujos de Agua y Aire.....	28
3.5.7 Alcalinidad.....	28
3.6 Retrolavado y recambio de agua.....	28
3.7 Biometrías.....	29
3.8 Cálculos de eficiencias del sistema.....	29
3.9 Análisis estadístico.....	30
Capítulo 4. Resultados	
4.1 Maduración de biofiltro.....	31
4.2 Evaluación de los flujos.....	31
4.3 Efecto de la densidad de cultivo.....	38
Capítulo 5. Discusión	
5.1 Maduración del medio filtrante.....	46
5.2 Evaluación de los flujos.....	47
5.2.1 Filtro de cama fluidizada.....	49
5.2.2 Filtro de cama fija.....	49
5.3 Evaluación de biomasas.....	50
5.3.1 Filtro de cama fija.....	51
5.2.2 Filtro de cama fluidizada.....	53
Conclusiones.....	55
Recomendaciones.....	56
Lista de referencia.....	57

Lista de figuras

Figura		Página
1	Expectativa de consumo global de peces y su proporción de producción.....	1
2	Producción mundial de pesca y acuicultura desde 1950 hasta 2012.....	2
3	Ejemplar de lenguado de California de 3 años de edad aproximadamente.....	4
4	Operaciones básicas a realizar en un SRA.....	9
5	Rango de partículas filtrables con diferentes procesos.....	11
6	Plano superior de la distribución de los SRA y la disposición de los componentes en el laboratorio (Dónde: TC= tanque de cultivo, FCF= filtro de cama fija y FCM= filtro de cama fluidizada; las flechas rojas indican la dirección del agua).....	24
7	Maduración del medio que se usó tanto en el filtro de cama fija como en el de cama fluidizada.....	31
8	Concentración del nitrógeno amoniacal total (NAT) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min ⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.....	32
9	Concentración de los nitritos (NO ₂) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min ⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.....	33
10	Concentración de NO ₃ de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min ⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.	34

Lista de figuras (Continuación)

Figura		Página
11	Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min ⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.....	35
12	Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min ⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.....	35
13	Tasa volumétrica de conversión de nitritos (TVCN) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min ⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.....	36
14	Tasa volumétrica de conversión de nitrito (TVCN) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min ⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.....	37
15	Concentración del nitrógeno amoniacal total (NAT) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m ⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).....	39
16	Concentración del nitrito (NO ₂) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m ⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).....	40
17	Concentración del nitrato (NO ₃) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m ⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).....	41

Lista de figuras (Continuación)

Figura		Página
18	Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m ⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente) durante la evaluación de la biomasa.....	42
19	Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m ⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente) durante la evaluación de la biomasa.....	42
20	Tasa volumétrica de conversión de nitrito (TVCN) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m ⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente) durante la evaluación de la biomasa.....	43
21	Tasa volumétrica de conversión de nitrito (TVCN) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m ⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).durante la evaluación de la biomasa.....	44

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Ubicación filogénica del lenguado de California.....	5
2	Criterios de las variables ambientales de algunos organismos acuáticos, para el rendimiento en el crecimiento.....	16
3	Parámetros de calidad ambiental para los sistemas de recirculación sujetos a tres velocidades de flujo (4.5, 6.5 y 9 L min ⁻¹).....	32
4	Valores promedio de las concentraciones de compuestos nitrogenados así como de las tasas volumétricas de remoción de TAN y de Nitritos (\pm error estándar).....	36
5	Valores promedio con su desviación estándar de algunas variables ambientales durante el experimento de la densidad de biomasa.....	39
6	Análisis estadístico del experimento de carga orgánica sobre la capacidad de nitrificación del sistema de recirculación acuícola. M= filtro mecánico; B= filtro biológico.....	45

Capítulo 1. Introducción

1.1 La Acuicultura

La acuicultura se puede definir como la actividad de cultivar organismos acuáticos en áreas continentales o costeras, implica por un lado la intervención en el proceso de crianza para mejorar la producción, y por el otro, la propiedad individual o empresarial de los organismos cultivado y de las artes de cultivo utilizadas (FAO, 2012). Como actividad comercial, el objetivo de la acuicultura es maximizar las utilidades; se practica a pequeña y gran escala, participando activamente en el mercado, comprando insumos (incluyendo capital y mano de obra) e involucra también la venta fuera de la granja.

En la figura 1 se muestra la expectativa de consumo global de peces a escala mundial del año 2009 y la esperada para 2030. Se observa que en el año 2009, del total de la producción, el 45% fue producto de la acuicultura, y se prevé que para el 2030 crezca de tal manera la población que la producción pesquera no pueda abastecer la demanda y por ende la acuicultura satisfaga esta demanda.

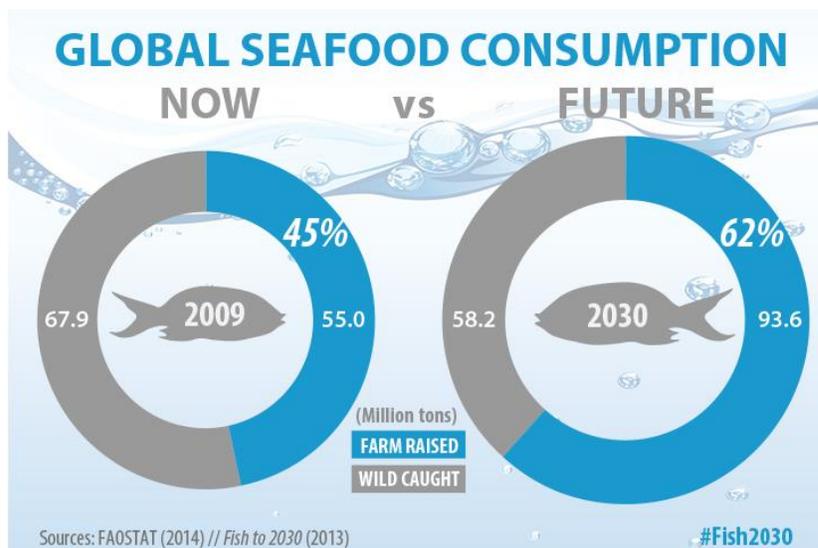


Figura 1. Expectativa de consumo global de peces y su proporción de producción.

A partir de los años 50, la contribución de la acuicultura a la producción de organismos acuáticos ha mantenido un ritmo creciente de alrededor del 10%, en comparación con la

pesca, que a partir de los años 80 fue limitada y a partir de la década de los años 90 no se ha incrementado sustancialmente (Figura 2). En el 2009 la proporción entre la acuicultura y la pesca por captura fue de 45% y 55% respectivamente, pero se espera que para el 2030 se invierta la proporción con 62% y 38% de acuicultura y pesca, respectivamente.

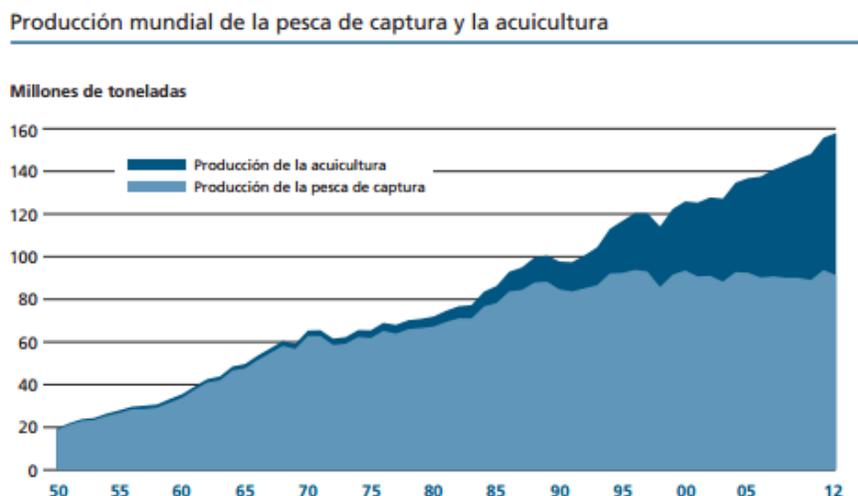


Figura 2. Producción mundial de pesca y acuicultura desde 1950 hasta 2012.

Respecto al crecimiento de la acuicultura la FAO (2014) declara que:

“La tendencia mundial según la cual el desarrollo de la acuicultura adquiere importancia en el suministro total de pescado se ha mantenido de forma ininterrumpida.”

De acuerdo con las evaluaciones de la FAO, actualmente un 29% de las poblaciones de peces marinos de importancia comercial están sobreexplotadas o agotadas, lo que significa que son biológicamente insostenibles. Aunque se considera que la acuicultura puede ser una buena parte de la solución a la demanda de proteína para la alimentación de la creciente población mundial, cuando la actividad acuícola no se maneja de manera adecuada, puede ocasionar serias consecuencias para el medio ambiente. Por ejemplo, grandes encierros de peces en cuerpos de agua lénticos, como los lagos y embalses artificiales pueden causar una considerable reducción de los niveles de oxígeno, eutrofización del ambiente e introducción de especies exógenas a un ecosistema (Kautsky *et al.* 1997). Chile, segundo exportador de salmón cultivado a nivel mundial, ha

tenido que pagar las consecuencias de la alteración de los ecosistemas naturales donde se cultivan estos organismos, por el desarrollo de enfermedades y con la pérdida de la flora y la fauna nativa (Buschamann *et al.* 2009). En los criaderos intensivos, es común que con frecuencia se abuse del uso de antibióticos o vacunas que pueden impactar el ambiente (Buschamann *et al.* 2009). En años recientes Chile experimentó la pérdida de gran parte de la producción de salmón debido a un parásito que causaba septicemia rickettsial salmonídea y que ocasionó pérdidas económicas por diez mil millones de dólares.

1.1.1 Acuicultura de peces planos

La acuicultura de peces planos comenzó en la década de los años 70 en países como Japón y Francia (Furusawa, 1997). Por su volumen de producción, el rodaballo es una de las especies más importantes de peces planos que se cultivan en el mundo, tiene gran importancia en España, Francia y Portugal, en donde se cultiva desde la década de los años 80 (Villata, *et al.* 2005). En América también se produce rodaballo, principalmente en Chile, que en 1982 desarrolló un programa para el desarrollo de su cultivo.

El cultivo del lenguado japonés se ha desarrollado en Corea y Japón desde la década de los años 80. En el año 2010 La producción acuícola fue de 45,000 toneladas con un valor aproximado de 485 millones de dólares (Howell y Yamashita, 2005; FAO, 2013). En Noruega se produjo alrededor del 80% de toda la producción del lenguado del Atlántico del 2004, que se calcula en 1400 toneladas (Suquet, *et al.* 2009).

La mayoría de los peces planos son cultivados en instalaciones terrestres en altas densidades, por lo que se requieren grandes volúmenes de agua para mantener condiciones adecuadas para su crecimiento (Merino, *et al.* 2007).

1.2 Lenguado de California

El lenguado de California (*Paralichthys californicus*) es una especie de pez plano que se distribuye desde las costas de Washington, EUA, hasta Bahía Magdalena en Baja California, México, puede llegar a pesar 33 kg y medir 150 cm de longitud (Eschmeyer, *et al.* 1983).

Se han desarrollado cultivos de ciclo cerrado del lenguado de California en centros de investigación como el CICESE y en la Universidad de California, y a escala comercial en Baja California, México. Los lenguados actualmente se alimentan con alimento formulado para peces marinos en forma de pellet y con alimento húmedo (como sardinas). La tasa de conversión alimenticia para organismos de 3.2 g y 6.6 cm varía de 1.3 a 1.6:1, hasta los 60 días de cultivo.

Fisiológicamente se sabe que por cada kg de biomasa cultivada se consumen 4 g de oxígeno (O_2), para peces de 110 g y un poco menos para organismos de mayor tamaño a una temperatura de 20°C (Merino *et. al.* 2011). En condiciones de cultivo, ejemplares de 200 g y alimentados con una dieta comercial con 43-45% de proteína cruda producen 7.9 ± 0.5 mg de nitrógeno amoniacal total (NAT) por cada gramo de alimento, en (Merino *et. al.* 2007).

No hay información que sugiera que alguna densidad de cultivo afecte el crecimiento de los juveniles de lenguado de California, sin embargo de manera general, para cualquier pez plano se recomiendan densidades de cultivo menores al 150% de cobertura de la superficie del tanque (Merino *et. al.* 2007). En la figura 3 se muestra un ejemplar de lenguado de California, así como su taxonomía en la tabla 1.



Figura 3. Ejemplar de lenguado de California de 3 años de edad aproximadamente.

Tabla 1. Ubicación filogénica del lenguado de California.

Superclase: Gnathostomata

Clase: Actinopterygii

Superorden: Acanthopterygii

Orden: Pleuronectiformes

Familia: Paralichthyidae

Género: *Paralichys*

Especie: *Californicus*

Esta especie tiene un alto valor comercial, en comparación con otros peces; es apreciado por su tamaño y por la calidad de su carne. Sin embargo su captura implica una proporción alta de especies asociadas y las pesquerías de este grupo están siendo aprovechadas al máximo sustentable. De acuerdo con el Departamento de Pesca y Caza de EUA, 239,558 kg de lenguado de California fueron capturados en 2010, con un valor total de más de 2 millones de dólares. Se estima que las reservas de esta especie en el sur de California, EUA, se han reducido en 14%. Es por esto que en años recientes se ha generado un gran interés en la comunidad científica para realizar investigaciones que hagan posible su cultivo intensivo en cautiverio a escala comercial (Conklin, *et al.* 2003; Herzka, *et al.* 2003).

El cultivo y comercialización exitosos del lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*) en Asia y del rodaballo (*Scophthalmus maximus*) en Europa, son un modelo de referencia para el desarrollo del cultivo del lenguado de California. Por ejemplo, existen diversos estudios que han contribuido al desarrollo de esas industrias, como aquellos en los que se ha evaluado cual es el mejor tanque para el cultivo de rodaballo y en los que concluyen que los tanques de flujo rápido (raceways) no son convenientes para los peces planos ya que cuentan con poca área superficial y gran flujo de agua (Merino *et. al* 2007c). Los peces planos requieren una mayor área superficial ya que generalmente están en el fondo. En general, los tanques circulares con salida central son los mejores para su cultivo, por la distribución de los organismos y por el efecto de autolimpieza, comparado con otros tanques como los rectangulares (Cripps y Poxton 1992).

1.3 Sistemas de cultivo

1.3.1 Sistemas Abiertos

Las principales características de estos sistemas de cultivo son que usan el agua y la descargan al medio. Estos sistemas dependen de la calidad del agua del medio natural, lo que conlleva la exposición a depredadores o patógenos. Desde el punto de vista productivo, tienen bajos costos de producción en comparación con los sistemas de recirculación.

Los sistemas de cultivo en los que los organismos no están a aguas abiertas o no reciben un caudal de agua de forma continua de una fuente natural (lagos o ríos), se les denomina sistemas de recirculación. Existen sistemas semicerrados, que se construyen en plataformas terrestres y en los que el agua es intercambiada entre el sistema de cultivo y el agua del medio según se requiera. La cantidad de agua que se usa para producir trucha en los sistemas abiertos es de 9 m³ de agua por kg de organismo producido, mientras que en sistemas de recirculación puede ser de tan solo 0.45 m³ de agua kg⁻¹ de organismo (Blancheton y Belaud 2009). Algunos ejemplos de sistemas abiertos de cultivo son los encierros marinos, que utilizan jaulas en donde se engordan peces; otro son las jaulas y corrales que se utilizan para el cultivo de moluscos, crustáceos en aguas abiertas y que generalmente se alimentan de lo que filtran en la columna de agua.

1.3.2 Sistemas de recirculación

Los sistemas de recirculación (SRA) se pueden definir como aquellos en los que el agua usada en el cultivo del organismo es reacondicionada continuamente para que sea apta para cultivar al organismo. El reacondicionamiento se lleva a cabo con una serie de filtros y de manera continua, es posible que hasta un 100% del agua en la que se cultiva el organismo sea reacondicionada. Algunos autores mencionan que para que sea un sistema de recirculación como tal, el recambio de agua debe ser menor al 10% diario.

Los sistemas de recirculación son costosos, debido a la inversión que se requiere en equipo, energía y personal. Blancheton y Belaud (2009) calculan que el costo eléctrico para producir un kg de trucha es de 3.56 kWh equivalente a 0.107 € kg⁻¹ en Dinamarca.

Lo mencionado anteriormente es una aproximación ya que el costo depende de los elementos que se utilicen para la recirculación así como el manejo del sistema y el costo de la energía.

Los SRA se caracterizan por utilizar un 90% menos de agua (o incluso menos) en comparación con los sistemas de cultivo de organismos de flujo abierto, además, hacen posible el control de las variables ambientales que afectan la fisiología de los organismos cultivados. Estas variables pueden ser la temperatura, la turbiedad del agua, la salinidad, la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT), los nitritos (NO_2), los nitratos (NO_3), la luz, el oxígeno (O_2), la alcalinidad, los fosfatos, los sólidos (disueltos, suspendidos y sedimentables), los fosfatos y los metales pesados (Timmons *et al.* 2002).

Algunas ventajas de los SRA son:

- ▶ Ahorro de agua
- ▶ Permiten el cultivo de organismos en altas densidades
- ▶ Se pueden desarrollar en lugares con limitaciones de agua o espacio.
- ▶ Minimizan el volumen del efluente, facilitando la recuperación de deshechos.
- ▶ Permiten incrementar el control de las variables ambientales.
- ▶ Proveen bioseguridad.
- ▶ Son ambientalmente sustentable

Estos sistemas son ideales para el cultivo de organismos de alto valor, como los reproductores, ya que se pueden tener las condiciones ideales para su acondicionamiento reproductivo en cualquier época del año y sin el peligro de ser afectados por variables externas como afloramientos fitoplactónicos. Los SRA son excelentes para el cultivo de larvas de organismos acuáticos, ya que generalmente (y dependiendo de la especie) necesitan condiciones de buena calidad ambiental para su desarrollo (Timmons *et al.* 2002). En países de Europa, donde la legislación ambiental no permite el cultivo en los cuerpos de agua naturales, ya sean marinos o continentales, los SRA se están implementando para la producción de peces para consumo humano (D'orbcastel *et al.* 2009). En el ámbito de la investigación, estos sistemas son muy útiles debido a que se pueden mantener condiciones homogéneas y constantes durante el

desarrollo de algún experimento, de manera que permiten evaluar el efecto a alguna variable (e.g., temperatura) sobre el desempeño de un organismo.

En el cultivo de organismos acuáticos, las condiciones fisicoquímicas y biológicas del medio se modifican en relación a la cantidad de alimento que se suministra al sistema, lo que además de resultar en el crecimiento de los organismos, produce residuos metabólicos (amonio-amoniaco, urea, CO_2 , y otras sustancias solubles como mucoproteínas) y consumen el oxígeno disuelto en el agua. El objetivo del reacondicionamiento del agua en un SRA es mantener una baja concentración de sólidos totales, bajos niveles NAT, de CO_2 y concentraciones elevadas de O_2 disuelto.

Las principales aplicaciones de los SRA son en el acondicionamiento reproductivo, crianza de estadios larvarios, producción de juveniles para la engorda (semilla), en investigaciones sobre salud y nutrición, para aislar a organismos en cuarentena, en aplicaciones ornamentales y crecimiento de organismos en altas densidades. Cada una de las aplicaciones de los SRA, viene acompañada de una serie de condiciones de diseño, como la velocidad de flujo y las concentraciones de NAT y NO_2 máximas permisibles para la salud de los organismos cultivados (e. g., las larvas de peces requieren valores inferiores de NAT y NO_2 que los que toleran los estadios juveniles en un sistema de engorda). Estas limitaciones de diseño vienen acompañadas de diferentes requerimientos de equipo, como sistemas de UV y ozono en el cultivo de larvas, reproductores y peces de ornato. En los sistemas de engorda se observan grandes diferencias en relación con el nivel de control de la calidad ambiental, por lo que la capacidad y requerimientos de un SRA son especie-estadio específico.

1.4 Componentes de un SRA

Las cinco operaciones básicas de un SRA son: la circulación del agua, la remoción de sólidos, la biofiltración, la desgasificación y la aireación u oxigenación. Estas operaciones se realizan con la ayuda de diferentes equipos de bombeo de agua y aire, filtros mecánicos y biológicos con sus diferentes comunidades bacterianas asociadas (Figura 4).



Figura 4. Operaciones básicas en un sistema de recirculación acuícola (SRA).

1.4.1 Circulación del agua (Sistema de bombeo)

Para impulsar el agua en un sistema de recirculación, generalmente se usan dos tipos de equipos y/o arreglos:

- a) Bombas centrífugas. son bombas rotatorias que transforman la energía mecánica de un impulsor para elevar la presión de un fluido ocasionando su desplazamiento a través de un conducto. Su principio de funcionamiento es la energía centrífuga que produce la rotación de un eje acoplado a unos álabes por donde es conducida el agua. Son las más ampliamente usadas en acuicultura. Y existen de tipo magnéticas o de transmisión directa.
- b) Elevadores de aire. Su principio de funcionamiento es el resultado de una mezcla de aire-agua. La mezcla de aire-agua es menos densa que el agua y por lo tanto es desplazada en forma ascendente por el agua circundante de mayor densidad. Diferentes estudios indican que este tipo de bombas son energéticamente más eficientes para mover agua bajo condiciones de baja elevación, que las bombas centrífugas (Reinemann, 1987). Las variables a tomar en cuenta al diseñar un sistema de bombeo por elevadores de aire son la sumergencia, la elevación, el diámetro de la tubería y los flujos de aire y agua.

Los beneficios económicos de los elevadores de aire se incrementan cuando se consideran los requerimientos para la aireación, remoción de dióxido de carbono y fraccionamiento de espuma para la eliminación de materia orgánica disuelta. Los elevadores de aire resuelven estos tres procesos de manera simultánea, mientras que cuando se utilizan bombas centrífugas estándar, estos procesos se hacen de manera independiente y se requieren componentes adicionales. La energía usada para el bombeo y la aireación es aproximadamente un tercio del costo en un sistema de bombeo convencional (Reinemann, *et al.* 1989).

Además los elevadores de aire tienen otro importante beneficio para la acuicultura, los costos de capital son significativamente menores que aquellos asociados a las bombas estándar (e. i. centrífugas). La simplicidad en su diseño también significa que los costos de mantenimiento son muy bajos, debido a que no tiene partes móviles.

1.4.2 Remoción de sólidos

En un cultivo de organismos acuáticos, el origen de los sólidos son las excreciones fecales, urinarias y branquiales, además de los residuos de alimento no consumido y la producción de compuestos solubles como glicoproteínas, así como los organismos muertos. La acumulación de sólidos suspendidos en el agua pueden ocasionar daño en el tejido branquial de los peces, también pueden obstruir los filtros mecánicos y fomentar el crecimiento de patógenos, así como contribuir a la demanda biológica de oxígeno y proveer sustrato para el crecimiento de bacterias heterotróficas que utilizan la materia orgánica y que pueden producir amoníaco como resultado de su actividad metabólica (microorganismos que desplazan a las bacterias nitrificantes del biofiltro).

Los criterios para elegir la forma en que se debe tratar un efluente acuícola difieren de un cultivo a otro, dependiendo de la especie, la intensidad del cultivo o el nivel de reuso del agua.

De acuerdo con el mecanismo de separación de los sólidos, los filtros se pueden dividir en las siguientes categorías:

- a) Separadores por gravedad (clarificadores, tubos de sedimentación e hidrociclones), que funcionan con el principio de la sedimentación y por lo tanto de la velocidad de sedimentación de las partículas. Esta forma de separación, generalmente se acopla con otra que pueda remover sólidos más finos, que no pueden ser retirados por sedimentación.
- b) Filtros de medio granular (medio poroso), Este tipo de filtros consisten en una fase fija de medio granular sólido, generalmente arena o partículas plásticas de pequeño diámetro ($\leq 5\text{mm}$). El medio granular se estructura en una capa porosa y el agua pasa a través, mientras los sólidos son retenidos en los intersticios del medio granular. El medio tiene que lavarse con frecuencia para evitar que se ocluya por la acumulación de los sólidos.
- c) Filtros de pantalla (filtro de tambor rotatorio, filtros triangulares), utilizan una serie de mallas por las que pasa el efluente, interceptando las partículas mayores al tamaño de la luz de la malla.
- d) Unidades de flotación (fraccionador de espuma). Estas unidades remueven sustancias surfactantes del agua o sólidos finos. La carga positiva que tienen estas moléculas se adhiere a las burbujas de la espuma generada por un inyector de aire y la carga negativa que queda en el otro extremo de la molécula arrastra las partículas de carga positiva también.

La principal ventaja de utilizar filtros de medio granular en los sistemas acuícolas, es que también se pueden utilizar como biofiltros, ya que proveen una superficie para el crecimiento de las bacterias nitrificantes. Sin embargo, tienen como desventajas el alto costo energético que implica vencer la resistencia al flujo, ocasionada por el paso del agua a través de los intersticios del medio filtrante y la pérdida de volúmenes de agua utilizados en la limpieza del medio filtrante (retrolavados).

En la Figura 5 se puede observar el intervalo de tamaños de las partículas que se pueden separar con cada tipo de filtro (modificado de Timmons, *et al.* 2002).

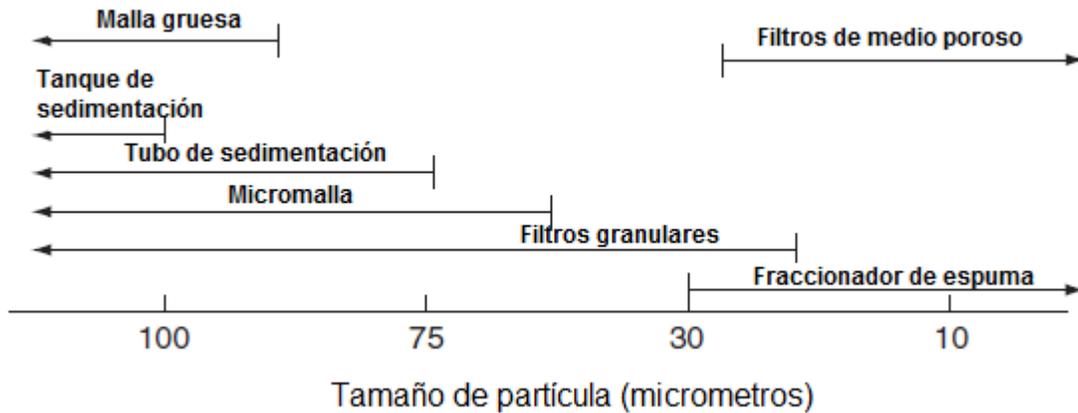


Figura (5). Rango de partículas filtrables con diferentes procesos (Timmons, *et al.* 2002).

1.4.3 Biofiltración

Un elemento esencial para la vida, es el nitrógeno (N), está presente en las proteínas, ácidos nucleicos y pigmentos; este elemento está sujeto a un proceso continuo de reciclaje en el organismo, que se relaciona con la degradación y síntesis de proteínas en el organismo (Hochachka y Somero 2002), así, por ejemplo, en un salmón, aproximadamente el 10% de su masa se convierte en deshechos nitrogenados.

El amoníaco es el principal producto del metabolismo de las proteínas y es excretado por las branquias de los organismos acuáticos. Este compuesto es tóxico para los organismos acuáticos y cobra vital importancia en un sistema que recircula el agua de cultivo, ya que si no se elimina por algún medio, se concentrará hasta alcanzar valores letales para los organismos cultivados. Entre los peces, existen cuatro formas principales de deshechos nitrogenados: amoníaco-amonio, urea, ácido úrico, y aminoácidos (excretados por los peces a través de sus heces o del alimento no ingerido) y nitrógeno gaseoso de la atmósfera que se puede disolver a través del bombeo o la aireación (Timmons, *et al.* 2002).

Existen dos especies químicas del nitrógeno amoniacal, en su forma ionizada (amonio, NH_4^+) y no-ionizada (amoníaco, NH_3), siendo el amoníaco extremadamente tóxico para la mayoría de los peces. La proporción en la que se encuentran estos compuestos depende del pH, la temperatura y la salinidad (Anthonisen, *et al.* 1976). La suma de las

concentraciones de las dos especies amoniacales se expresa como Nitrógeno Amoniacal Total (NAT) y en forma común se expresa como mg/l de NAT.

El biofiltro es una parte esencial del SRA, ya que como resultado de la actividad bacteriana, se encarga de convertir el NAT en nitritos y nitratos, compuestos que resultan menos tóxicos para los organismos.

1.4.4 Desgasificación

En un SRA, el CO₂ derivado de la respiración de los organismos puede acumularse si no existe un dispositivo para evitar que esto ocurra, ya que su transferencia de este gas hacia la atmosfera depende de su velocidad de difusión en el agua, que es muy inferior a su velocidad de difusión en el aire (Timmons *et al.*, 2002). Las concentraciones elevadas de CO₂ en el agua pueden activar respuestas de estrés en los organismos, causando problemas fisiológicos que pueden resultar en la reducción del crecimiento, conversión alimenticia deficiente, nefrocalcinosis o hipercalcinosis (Harrison y Richards, 1979). Para desgasificar el agua se usan columnas empacadas con medios que facilitan el contacto entre el aire atmosférico y el agua, agitadores, difusores de aire o la adición de agentes que reaccionan con el CO₂ como el hidróxido de sodio o cal viva (Pfeiffer, *et al.* 2011).

Debido a que el aire tiene una concentración muy baja de CO₂ (0.048% de la masa total del aire seco), el hecho de incrementar la relación agua/aire del efluente acuícola, hace que el CO₂ del agua se libere a la atmósfera a favor de su gradiente de concentración, así, la difusión será desde el agua del cultivo donde los niveles de saturación son altos (debido a la alta solubilidad del CO₂ en el agua) al aire donde su concentración es baja. En algunos casos el hecho de usar piedras difusoras para airear el agua es suficiente para mantener los niveles de CO₂ óptimos; pero cuando se cultivan peces en altas densidades, es necesario utilizar columnas empacadas que incrementan la superficie de contacto aire-agua para desgasificar el agua sobresaturada.

1.4.5 Aireación u Oxigenación

La capacidad de disolver oxígeno en el agua es una de las principales limitaciones en el momento de cultivar organismos acuáticos en altas densidades (e.g. usando aire se pueden tener densidades de organismos hasta de 40 kg m^{-3} y usando oxígeno puro de 120 kg m^{-3}). El oxígeno puro se utiliza desde los años 70 como un medio para crear condiciones de supersaturación de oxígeno en el agua de los SRA, con la intención de intensificar la producción de peces (Summerfelt, *et al.* 2000).

Los dispositivos estándar para abastecer el aire en los sistemas de cultivo son los sopladores, bombas de aire o compresores; su diferencia radica en la presión y el volumen de aire que generan, mientras que los sopladores producen grandes volúmenes de aire a baja presión los compresores producen bajos volúmenes de aire a alta presión.

Las piedras difusoras son ampliamente usadas en la acuicultura, sin embargo son muy ineficientes para transferir el oxígeno (3-7% de eficiencia) pero son baratas en términos de costos de operación. Una desventaja es el mantenimiento que requieren, debido a la obstrucción por biofilm o microalgas, o al depósito de sales, principalmente en aguas duras. (Timmons, *et al.* 2002).

En lo referente a oxígeno puro, las principales fuentes son el gas comprimido a alta presión o licuado a muy baja temperatura (ambos obtenidos de la atmósfera por procesos de filtración) y los generadores de oxígeno en el sitio. Debido al costo y a su limitada capacidad, los cilindros de alta presión generalmente se usan como reserva en caso de emergencia. La disponibilidad de oxígeno líquido está restringida a las áreas urbanas y en muchos casos no está disponible en las instalaciones acuícolas, que se ubican lejos de los asentamientos humanos, con la intención de reducir los impactos potenciales de la contaminación de los cuerpos de agua.

1.5 Calidad del agua

La capacidad de mantener las condiciones sanitarias adecuadas para determinada especie acuícola, se relaciona con la calidad del agua y se mide como el conjunto de variables ambientales (temperatura, turbiedad del agua, salinidad, concentración de

nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (NO_2), nitratos (NO_3), luz, oxígeno (O_2), alcalinidad) en las que un organismo se puede desarrollar adecuadamente.

La calidad del agua es crítica en cualquier cultivo acuícola y toma especial importancia cuando se habla de SRA, debido a que se utiliza la misma agua una y otra vez, y compuestos como el NAT y el CO_2 tienden a acumularse, mientras que otros como el oxígeno tienden a agotarse (Timmons, *et al.* 2002). Al acumularse el NAT en el agua, y en particular el amoniaco, provoca que las branquias de los organismos no puedan excretar el amonio debido a que lo hacen por intercambio iónico a favor del gradiente de concentración (ya que en condiciones normales, la concentración de TAN en el agua es muy baja) y al existir una concentración tan alta en el medio, este mecanismo de transferencia no puede llevarse a cabo, causando una acumulación en el organismo, que causa un cambio en su pH interno y afecta las reacciones químicas de la célula. El exceso de CO_2 actúa como anestésico y en altas concentraciones evita que la hemoglobina que pasa por las branquias se sature de oxígeno y libere la fracción del CO_2 que transporta la sangre (Randall *et al.*, 2002)

El objetivo de cualquier sistema de cultivo es mantener la calidad de agua en condiciones óptimas para la fisiología de los organismos, entendido como óptimo el rango de valores de las variables ambientales del agua en donde el organismo tiene el mejor desempeño ya sea en crecimiento o producción de gametos.

En la tabla 2 se muestran los criterios que se deben considerar al momento de definir las variables de calidad del agua, óptimas para el cultivo de algunos organismos acuáticos.

Tabla 2. Concentraciones tolerables y óptimas de las variables ambientales para algunos organismos acuáticos. $C_{\min t}$ = concentración mínima tolerable, $C_{\min o}$ = concentración mínima óptima, $C_{\max o}$ = concentración máxima óptima, $C_{\max t}$ = concentración máxima tolerable. (Modificada de Stickney, 2000)

Variable	Criterio				
Temperatura (°C)	Organismo	$C_{\min t}$	$C_{\min o}$	$C_{\max o}$	$C_{\max t}$
	Trucha de arrollo	3	8	13	19
	Salmon del pacífico	3	9	14	22
	Trucha arcoiris	3	11	17	23
	Perca amarilla	8	18	22	27
	Lobina rayada	7	20	25	31
	Camarón marino	10	20	30	36
	Carpa común	5	24	30	35
	Bagre de canal	12	25	30	34
Tilapia	15	28	33	37	
Salinidad (ppm)	Los valores para especies eurialinas van de 0 a 35.0				
pH	Tiene un impacto sobre otras variables de calidad de agua (e. g., proporción amonio/amoniaco) y sobre procesos como la biofiltración. Los valores son $C_{\min t}$ - $C_{\max t}$ de 6.5-8 para trucha y 6.0-9.5 para bagre y tilapia.				
Alcalinidad (mgCaCO ₃ L ⁻¹)	Está muy relacionado con el pH y la dureza del agua, se usa para medir la capacidad buffer del agua. Importante en el funcionamiento del biofiltro. Los valores que se recomiendan son de ≥ 20 para un sistema de flujo abierto, y ≥ 100 para sistemas de recirculación, pero ≤ 500 para todos los sistemas.				
Dureza (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	El calcio y el magnesio forman parte de los requerimientos nutricionales para la composición del cuerpo y la osmoregulación. Los valores recomendados son de $C_{\min t}$ - $C_{\max t}$ 50-350.				
Oxígeno disuelto (mg O ₂ L ⁻¹)	Organismo	$C_{\min t}$	$C_{\min o}$	$C_{\max o}$	$C_{\max t}$
	Salmónidos	5	7		
	Lobina	4	6	(Se usa el porcentaje de saturación)	(Se usa el porcentaje de saturación)
	Bagre	3	6		
	Carpa	2	6		
	Tilapia	2	5		
Especie-Específico	30	50-70	200		
Dióxido de carbono disuelto (mgCO ₂ L ⁻¹)	Los valores recomendados son mínimos de 0 y $C_{\max t}$ de 20-50 aunque algunas especies pueden tolerar ≥ 100				
Presión total de gas (% de saturación)	Este valor depende de la altura y la temperatura. Los valores aproximados recomendados son de $C_{\max t}$ 105-110% de saturación y para especies sensibles y estadios de vida iniciales (e. g. huevos) son de $C_{\max t}$ 102-103 %				
Amoníaco (mg NH ₃ -N)	Organismo	$C_{\min t}$	$C_{\min o}$	$C_{\max o}$	$C_{\max t}$
	Salmónidos	0	0	0.01	0.2

	Lobina	0	0	0.02	0.3
	Carpa	0	0	0.02	0.5
	Crustaceos	0	0	0.05	0.7
	Bagre	0	0	0.05	0.9
	Tilapia	0	0	0.10	1.0
Nitrito (mg NO ₂ -N L ⁻¹)	Valor mínimo recomendado es 0 y el valor máximo es dependiente de la especie, el estadio del organismo, la salinidad del agua, la dureza y el oxígeno disuelto. Para la trucha C _{maxt} es 0.1, para el bagre 2.0 y para la tilapia 4.0.				
Nitrato (mg NO ₃ -N L ⁻¹)	Interviene en la osmoregulación a altas concentraciones. Los valores recomendados para todas las especies son de ≤50-300.				
Sólidos particulados (mg L ⁻¹)	Puede causar deterioro de las branquias. Los valores son dependientes de la especie. C _{maxt} 10-80 y para especies con baja tolerancia como los salmónidos es de 25.				

1.6 Nitrificación

La nitrificación es el proceso por el cual las bacterias oxidan el amoníaco y lo transforman en nitritos y nitratos, es un proceso complejo en el que la actividad de las bacterias nitrificantes depende de las variables ambientales, que determinan su comportamiento y capacidad para metabolizar los nutrientes del medio. La tasa metabólica de las bacterias, el tipo de bacteria presente así como su densidad, determinan que tan rápido el nitrógeno amoniacal (NA) es convertido en nitritos y los nitritos a nitratos. A pesar de que los nitritos son relativamente tóxicos para los organismos acuáticos (Tabla 2), el nitrato lo es en mucha menor proporción y es tolerado en concentraciones relativamente altas si se compara con el NAT y los nitritos. Aproximadamente un 60-90% del N excretado por las branquias es amoníaco, mientras que el porcentaje restante es mayoritariamente excretado como urea, la proporción depende de la especie.

Una estimación de la cantidad de NAT producido por los peces se puede calcular con la siguiente ecuación:

$$P_{\text{NAT}} = A * PP * 0.092 \quad (1)$$

Dónde:

P_{NAT}: Tasa de producción de NAT (kg/día)

A: Tasa de alimentación (kg/día)

PP: Porcentaje de proteína en la dieta (%)

La constante 0.092 en la ecuación 1 deriva de la suposición que las proteínas contienen un 16% de nitrógeno, de éste 80% es asimilado y de la fracción asimilada el 80% es excretado. Además, del total excretado, hasta el 90% es NAT y hasta el 40% es urea (Timmons, *et al.* 2002).

Existen dos tipos de bacterias que llevan a cabo la nitrificación, las bacterias oxidantes de amoníaco (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*) y las bacterias oxidantes de nitritos (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* y *Nitrospina*); ambos grupos son quimioautótrofos, esto quiere decir que generan su energía a partir de compuestos inorgánicos, a diferencia de las bacterias heterótrofas que lo hacen a partir de compuestos orgánicos (Hagopian y Riley, 1998)

Los factores químicos que determinan las tasas de nitrificación ($\text{NA} \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO}_3$) son las concentraciones de amonio/nitritos, el pH, alcalinidad, oxígeno disuelto, la salinidad y los sólidos totales. Las variables físicas que influyen en las tasas de nitrificación incluyen a la temperatura, la luz, las características y configuración del medio en el que se adsorben las bacterias, la turbulencia (número de Reynolds) y la tasa de carga hidráulica, que es la cantidad de tiempo que el agua está en contacto con el medio del biofiltro y en consecuencia con las bacterias.

1.6.1 Factores que afectan la nitrificación

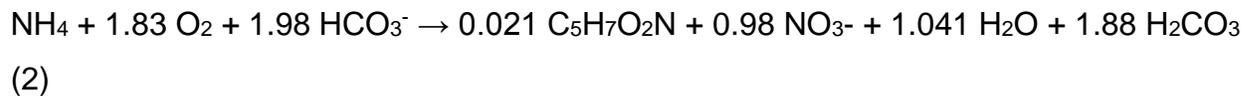
1.6.1.1 pH

El pH está íntimamente ligado al metabolismo de las bacterias, ya que en muchos casos la obtención de energía metabólica se debe a la existencia de una diferencia entre la concentración de protones a ambos lados de la membrana citoplasmática. El pH óptimo para la nitrificación está entre 7.2 y 7.8, sin embargo, a medida que aumenta el pH también lo hace la proporción de amoníaco/amonio por lo que es una buena práctica mantener el pH cerca del valor superior, en dónde se tiene una buena nitrificación, para minimizar el estrés que los organismos cultivados puedan experimentar por concentraciones altas de NAT (Wheaton, *et al.* 1994).

Los cambios rápidos en el pH (de 0.5 a 1.0 unidad en pocos minutos) reduce drásticamente la capacidad de nitrificación del biofiltro. La tasa a la que las bacterias se pueden aclimatar a estos cambios depende de muchas variables, como la temperatura, la magnitud del cambio de pH y la concentración de amonio, entre otras.

1.6.1.2 Alcalinidad

La alcalinidad del agua es la capacidad que tiene para amortiguar cambios de pH ocasionados por la adición de ácidos, y se mide en equivalentes de mg de carbonato de calcio (CaCO₃). La conversión de NH₄ a NO₃ reduce la alcalinidad del agua (Malone y Burden 1988), y el proceso químico se puede explicar mediante la siguiente relación estequiométrica:



Debido a esto, la alcalinidad por bicarbonato es crítica para el crecimiento de las bacterias nitrificantes. La alcalinidad es necesaria también para prevenir los cambios en el pH debido a la producción de ácidos durante la nitrificación (Wheaton, *et al.* 1994).

1.6.1.3 Oxígeno

De la relación estequiométrica anterior (ecuación 2), se deduce que cuando hay insuficiencia de oxígeno, las bacterias nitrificantes reducen sus tasas de nitrificación. En los filtros biológicos se tienen poblaciones de bacterias heterotróficas y nitrificantes, por lo que el consumo de oxígeno también es producto del metabolismo de las bacterias heterótrofas. El valor mínimo para que se pueda llevar a cabo la nitrificación de manera óptima es de 2 mg/l de oxígeno disuelto (Timmons, *et al.* 2002).

1.6.1.4 Concentración de Nitrógeno amoniacal total y Nitritos

Las concentraciones altas de NAT y NO_2 pueden ser tóxicas para las bacterias nitrificantes. Los ácidos nitrosos y el amoniaco pueden ser agentes inhibidores de la nitrificación. La disponibilidad de NAT o NO_2 puede determinar la tasa de nitrificación si hay la suficiente cantidad de oxígeno. (Hagppian y Riley, 1998). A concentraciones de 7 mg L^{-1} se ha observado inhibición de los procesos de nitrificación, así como una inhibición total a los 20 mg L^{-1} , aunque depende de la adaptación de la población bacteriana (Abeling y Seyfried, 1992).

1.6.1.5 Carga orgánica

En un sistema de cultivo, el origen de la materia orgánica es el producto del alimento no ingerido por los organismos cultivados, así como de las heces, los organismos muertos y la pérdida de tejidos (e.g., escamas) y otras sustancias (mucus, feromonas). La materia orgánica es el sustrato para el crecimiento de las bacterias heterotróficas, las cuales compiten por espacio y oxígeno con las bacterias nitrificantes. Las bacterias heterotróficas tienen una tasa de crecimiento máxima de 5/día mientras que las nitrificantes de 1/día, por lo que en los sistemas de biofiltración con gran carga orgánica se puede inhibir la nitrificación. Cuando se tiene una proporción carbono/nitrógeno (C/N) de 1.0 a 2.0, hay una reducción de la capacidad de nitrificación del 70%, comprada con la relación de cero, cuando no hay carbono. Esto sugiere que la eficiencia de nitrificación decrece cuando aumenta la concentración de materia orgánica (Zhu y Chen, 2001).

1.6.1.6 Salinidad y Temperatura

Las bacterias nitrificantes pueden prosperar en ambientes con una salinidad entre 0 y 40 ppm. Sin embargo, cambios rápidos mayores a 5 ppm en la salinidad pueden disminuir las tasas de nitrificación. Estas bacterias pueden aclimatarse a una gran variedad de temperaturas cuando el cambio es gradual (Wortman, 1990). Son organismos mesófilos y los estudios del efecto de la temperatura en la actividad de nitrificación a temperaturas de 7 a 35°C indican una relación lineal, como puede observarse en la ecuación b. En

temperaturas inferiores a 5°C y superiores a 42°C se inhibe la nitrificación (Hagopian y Riley, 1998).

$$\text{TRA} = 140 + 8.5T \quad (\text{b})$$

Dónde:

TRA= tasa de remoción de amonio

T= temperatura

1.7 Justificación

El desarrollo de la acuicultura de peces marinos en México está limitada en gran medida por la disponibilidad de organismos juveniles (semilla). Una de limitaciones técnicas para la producción de semilla está relacionado con la estabulación de reproductores en condiciones controladas. El mantenimiento de estos organismos es muy costoso ya que entre otras cosas requieren condiciones ambientales muy específicas y estables en el tiempo para propiciar su reproducción. El cumplimiento de estos requisitos implica sistemas de cultivo en los que se mantenga una calidad del agua homogénea a través del tiempo y que permanezcan aislados de contaminantes ambientales y agentes patógenos (virus, bacterias o parásitos). Los SRA pueden proporcionar estas condiciones de cultivo, siempre y cuando su diseño considere los requerimientos de la especie a cultivar y la carga orgánica máxima establecida para las unidades de biofiltración. Sin embargo, en la actualidad los costos de inversión para la construcción de un SRA son muy elevados, en forma particular en México, debido en parte a que los elementos constitutivos como los necesarios para la remoción de sólidos suspendidos, son de manufactura y patente extranjeras.

El objetivo de este trabajo de investigación fue el de desarrollar y evaluar un sistema de recirculación acuícola constituido por un biofiltro y un filtro mecánico diseñados con materiales disponibles en la región, de fácil construcción y operación.

Capítulo 2. Hipótesis y Objetivos

2.1 Hipótesis

Las tasas de nitrificación (TVCA y TVCN) del SRA se incrementarán en relación directa con la velocidad de flujo de 4.5, 7 y 9 L min⁻¹.

Las tasas de nitrificación (TVCA y TVCN) de los SRA son directamente proporcional a la densidad de cultivo de los organismos.

En ambos experimentos las tasas de nitrificación serán superiores en el filtro de cama fluidizada que en el de cama fija.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo General

Evaluar el efecto del flujo de agua y la carga orgánica sobre el funcionamiento de un sistema de recirculación acuícola diseñado para mantener en condiciones óptimas un cultivo de juveniles de lenguado (*Paralichthys californicus*)

2.2.2 Objetivos particulares

- Diseñar y construir un sistema de recirculación acuícola
- Evaluar el efecto de la velocidad de flujo del agua de mar sobre la capacidad de retención de sólidos y nitrificación de un sistema de recirculación integrado secuencialmente por un filtro de cama fija y otro de cama fluidizada.
- Evaluar el efecto de la densidad de cultivo sobre la capacidad de remoción de sólidos suspendidos
- Evaluar la tasa nitrificación de un sistema de recirculación integrado secuencialmente por un filtro de cama fija y otro de cama fluidizada.

Capítulo 3. Materiales y métodos

3.1 Origen de los organismos

Los organismos se obtuvieron del laboratorio de Cultivo de Peces Marinos del CICESE, y se cultivaron en un tanque de lámina geotextil (liner) de 5 m³ y de 1.2 m de profundidad, de fondo circular y color negro, hasta el momento de comenzar los bioensayos.

Se tomaron 50 organismos al azar del tanque de cultivo y se determinó el peso (328 ± 121 g) y longitud (32 ± 3 cm) y se contaba con un total de 120 organismos y una biomasa total 39.96 kg para la realización de los experimentos. Para el primer experimento en el que se evaluó la velocidad de flujo la biomasa fue de 10 kg por sistema y para el segundo experimento en el que se evaluó la carga orgánica, las biomasas fueron 10, 13 y 16 kg en cada sistema.

3.2 Diseño del sistema

Los sistemas de recirculación se diseñaron con los materiales que se tenían disponibles de tal manera que su construcción fue lo más homogénea posible. Cada unidad experimental consistió de un estanque de cultivo (450 l de volumen útil, de forma elíptica, de 90 cm de ancho, 150 cm de largo y 40 cm de altura de color negro y forma ovalada). Los filtros, consistieron de dos estanques con una inclinación de 20° aproximadamente (150 l de volumen, 50 cm de diámetro promedio y 70 cm de profundidad de color rojo). La circulación del agua por cada una de estas unidades se hizo mediante un elevador de agua-aire, que bombeaba el agua desde el filtro de cama fluidizada al tanque de cultivo, y como las tres unidades estaban conectadas como vasos comunicantes, el desnivel entre el tanque de cultivo y el biofiltro era compensado por el paso de agua a través del sistema y de esa manera circulaba el agua por cada una de las unidades: tanque de cultivo, filtro de cama fija, filtro de cama fluidizada y de nuevo al tanque de cultivo.

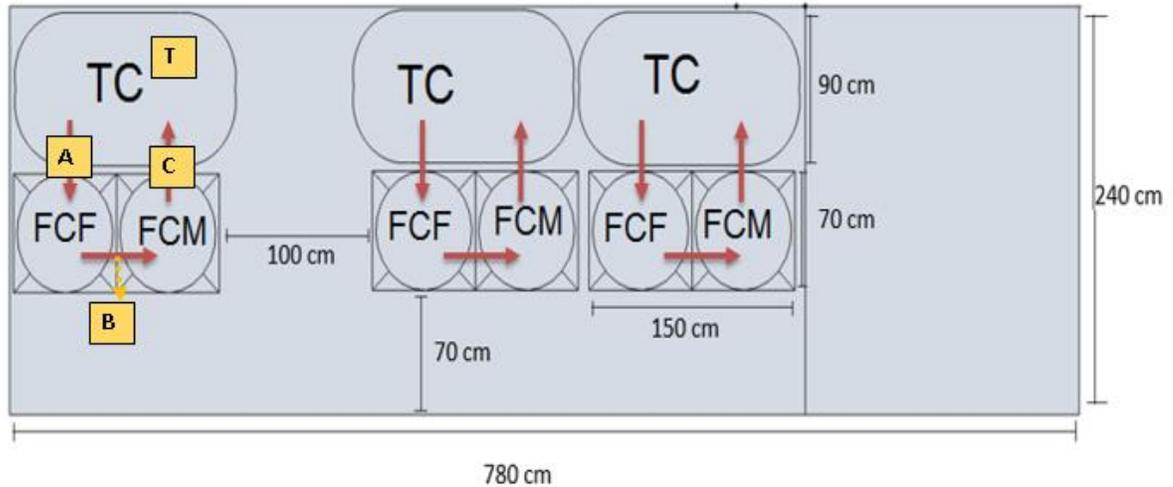


Figura 6. Plano superior de la distribución de los SRA y la disposición de los componentes en el laboratorio (TC= tanque de cultivo, FCF= filtro de cama fija y FCM= filtro de cama fluidizada; las flechas rojas indican la dirección del agua; los recuadros amarillos muestran los puntos de muestreo).

Los filtros de cama fija y de cama dinámica se constituyeron de partículas de polietileno de baja densidad (4 mm de diámetro). Su área superficial específica se calculó como si se tratara de una esfera y el valor fue de $580 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$. Se contó la cantidad de partículas que ocupaban un volumen conocido (25 ml) y posteriormente se hizo la conversión de unidades.

3.2.1 Cálculos del biofiltro

Para calcular la capacidad de biofiltración del sistema, expresada como la cantidad de partículas de plástico necesarias para la nitrificación del NAT se utilizaron las ecuaciones propuestas por Timmons *et al.* (2010) considerando una biomasa de 10 kg de lenguado y una tasa de recirculación del agua de 7 l min^{-1} (equivalente a 20 veces el volumen del tanque de cultivo por día). La eficiencia de nitrificación para este medio se estimó como $100 \text{ gNAT / m}^3 \text{ día}$, de acuerdo con Malone y Beecher, 2000.

$$NAT = \left(\frac{10 \text{ kg-O}}{\text{día}}\right) \left(\frac{0.01 \text{ kg-A}}{\text{kg-O}}\right) \left(\frac{0.05 \text{ kg-P}}{\text{kg-A}}\right) \left(\frac{0.092 \text{ kg-NAT}}{\text{kg-P}}\right) \left(\frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ kg}}\right) = \frac{4.6 \text{ g NAT}}{\text{día}}$$

Dónde:

NAT: Nitrógeno amoniacal total

O: organismos

A: alimento

P: proteína

$$VM = \left(\frac{\frac{4.6 \text{ g NAT}}{\text{día}}}{\frac{100 \text{ g NAT}}{\text{m}^3 * \text{día}}} \right) \left(\frac{1000 \text{ l}}{1 \text{ m}^3} \right) = 46 \text{ l} \quad (\text{d})$$

Dónde:

VM: volumen de medio

Con base en los cálculos anteriores se decidió distribuir 40 l de partículas de polietileno de la siguiente manera: 30 l en la cama filtrante que actuó como filtro mecánico y 10 l en el tanque que funcionó como filtro biológico.

3.3 Maduración del biofiltro

Se llevó una maduración orgánica de todo el medio disponible en 2 tanques de fibra de vidrio de 300 L de fondo cónico a una temperatura de 28 °C y se agregó 1 g de harina de pescado por cada 28 L de medio día⁻¹ durante 45 días. Posteriormente el medio filtrante de colocó en los estanques correspondientes y los SRA se aclimataron durante 40 días a una temperatura de 18 °C, ya con 10 kg de organismos por sistema.

3.4 Diseño experimental

El estudio de la capacidad de retención de sólidos suspendidos y de nitrificación de los filtros se dividió en dos etapas. En la primera etapa se estudió el efecto del flujo (l min⁻¹) y en la segunda etapa el efecto de la densidad de cultivo en kg m⁻³. En cada etapa se utilizó un diseño en bloques al azar con repeticiones a través del tiempo, ya que solo se disponía de tres unidades experimentales, de esta forma, cada una de las tres repeticiones de un tratamiento se evaluaron en tres momentos consecutivos, alternando las repeticiones de un tratamiento en cada una de las tres unidades experimentales, esto significó que el proceso se repitió tres veces para cada etapa.

3.4.1 Efecto de la velocidad de flujo.

Para evaluar el efecto del flujo del agua se utilizaron tasas de recambio de 4, 6.5 y 9.5 l min⁻¹, equivalentes a 10, 20 y 30 recambios del volumen del tanque de cultivo por día, respectivamente. En cada estanque de cultivo se colocaron lenguados en una biomasa equivalente a 10 kg. Durante el periodo de 14 días que duró el ensayo, diariamente se midieron el nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (NO₂) y nitratos (NO₃) en cuatro puntos de control del sistema: en el tanque de cultivo (punto de muestreo T), antes de pasar por la cama de cuentas plásticas (punto de muestreo A), luego de pasar por la cama (punto de muestreo B) y por último, a la salida del biofiltro fluidizado de cuentas plásticas, desde donde se entregaba el agua al tanque de cultivo mediante un elevador de aire (punto de muestreo C), como se muestra en el primer sistema de la figura 6.

3.4.2 Efecto de la densidad de cultivo

Para evaluar el efecto de la carga, se tomó en consideración el flujo que en el ensayo de velocidad resultó más adecuado y se utilizaron biomاسas de 10, 13 y 16 kg, para evaluar los sistemas, equivalentes a 22.2, 28.9 y 35.6 kg m⁻³, respectivamente. De manera similar al ensayo de velocidad, diariamente se midieron el NAT, NO₂ y NO₃ en los cuatro puntos control del sistema. De la misma manera se midieron la alcalinidad y el pH.

3.5 Medición de la calidad del agua

La cuantificación de las concentraciones de NAT, NO₂, NO₃ y alcalinidad se hicieron diariamente a las 10 am. Las mediciones de pH, oxígeno disuelto y temperatura a las 12 pm. La alimentación de los peces y el retrolavado del sistema se hicieron diariamente entre 12:30-1:30 pm. El alimento (Súper, Guadalajara Jalisco, con 45% de proteína, 12.7% de lípidos y 4.3% de cenizas) se suministró en una ración equivalente al 1.5% de la biomasa una vez al día.

3.5.1 Nitrógeno amoniacal total

El NAT se cuantificó mediante la técnica del fenato (Parsons, *et al.* 1984), en la que todo el nitrógeno amoniacal (NH₃ + NH₄⁺) es convertido en amoniaco (NH₃) en un medio alcalino y reacciona con el fenol en presencia de hipoclorito, en una reacción catalizada

por el nitroprusiato y que produce un color azul intenso. Se utilizaron microvolúmenes y las mediciones se hicieron en una microplaca a una longitud de onda 640 nm en un espectrofotómetro.

3.5.2 Nitritos

Se utilizó la técnica basada en la reacción Griess-Ilosvay (APHA, 1995) en la que los iones nitrito reaccionan con la sulfanilamida a un pH ácido (1 a 3) produciendo un compuesto “azo” que reacciona con el NED (N-1 naftaliendiamina dihidrocloruro), para formar un tinte rosa intenso o púrpura. Se utilizaron microvolúmenes para medir las muestras en una microplaca a una longitud de onda de 543 nm en un espectrofotómetro Epoch (Biotec Instruments, Winooski, EUA).

3.5.3 Nitratos

Se utilizó el método ultravioleta selectivo, en el que una muestra (100 µl) se coloca en una microplaca de cuarzo y se lee a 220 nm, a esta longitud, los nitratos absorben la radiación, sin embargo, también la materia orgánica puede absorber la radiación UV a esa longitud de onda, por lo que se hace una segunda medición a 275 nm para obtener la medida correspondiente solo a los nitratos.

3.5.4 Oxígeno disuelto y pH

El oxígeno disuelto se midió con un analizador multiparamétrico YSI modelo 85 equipado con un sensor polarográfico. El pH se midió con un analizador Orion 290A+ (Thermo Electron Corporation).

3.5.5 Sólidos suspendidos totales

Para cuantificar la concentración de los sólidos suspendidos totales en el segundo experimento, al finalizar cada periodo experimental (bloque), se tomaron dos muestras de los cuatro puntos de muestreo (T, A, B y C) de cada unidad experimental, las muestras de agua se filtraron en filtros de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro y 1.2 µm de tamaño de poro. De acuerdo con la velocidad de colmatación del filtro, se filtraron volúmenes de 100 a 500 ml de agua. Los filtros se incineraron previamente a 450 °C y se llevaron a peso seco constante. Después de concentrar los sólidos, se secaron a 110 °C durante 4

h y 18 h más a 70 °C. Se llevaron a peso constante y con la diferencia de pesos se cuantificó la cantidad de sólidos suspendidos totales por cada litro (mg SST l⁻¹).

3.5.6 Flujos de Agua y Aire

Los flujos de agua se midieron usando un recipiente previamente calibrado con una probeta graduada y utilizando un cronómetro digital. Las medidas se hicieron al principio de cada experimento, de cada bloque, y aproximadamente cada 3 días durante el experimento, para hacer las correcciones del flujo del aire si era necesario, ya que el flujo de aire varió en función del número de usuarios que tenía el sistema de suministro de aire del Departamento de Acuicultura.

3.5.7 Alcalinidad

Se cuantificó mediante la titulación química de una muestra, siguiendo el procedimiento colorimétrico descrito por la APHA (1995). Se vertieron 10 ml de la muestra problema en un vaso de precipitados de polietileno, se adicionaron 15 µl del indicador verde de bromocresol para producir un color azul. Luego se agregaron consecutivamente alícuotas de 100 µl de ácido sulfúrico al 0.02 N, hasta que se llegó al punto de equivalencia en donde el color de la mezcla de reacción viró hasta que se extinguió el color azul y se tornó transparente. Para el cálculo de la alcalinidad se consideró que cada 100 µl de ácido sulfúrico equivale a 10 mg l⁻¹ de CaCO₃.

3.6 Retrolavado y recambio de agua

Para retirar la materia orgánica retenida en el filtro mecánico, cada 24 h se hizo un retrolavado, Como primer paso, se interrumpió, la circulación del agua del sistema para evitar que la materia orgánica resuspendida por efecto de la turbulencia pasara al tanque del medio dinámico y de ahí al tanque de cultivo. A continuación se abrió la llave de aire que alimentaba la parrilla colocada en la parte inferior del filtro durante 90 s aproximadamente, las burbujas de aire generaron la turbulencia necesaria para que la cama de partículas se fluidice y gran parte de la materia orgánica se desprendiera de ella. Después se cerró la llave de aire y se esperó un periodo de 4 a 5 min para que la materia se sedimentara y por último, se procedió a retirarla con la ayuda de un sifón. El volumen

de agua sustraído del sistema con este procedimiento fue el equivalente al 5% del volumen total del sistema (30 l aproximadamente).

3.7 Biometrías

Con la intención de distribuir la biomasa en los tanques de cultivo de manera homogénea entre las tres unidades experimentales, antes de iniciar cada experimento se midieron la longitud total (0.1 cm) con un ictiómetro y el peso total (0.01 g) con la ayuda de una balanza electrónica (AND, Modelo SK-2000WP). Para reducir el estrés de los lenguados, ocasionado por la manipulación durante el proceso de medición, se anestesiaron con aceite de clavo a una concentración de 0.5-0.7 gotas/litro.

3.8 Cálculos de eficiencias del sistema

Los cálculos de la eficacia de remoción de NAT y NO₂ se hicieron con base en las siguientes fórmulas (Malone y Beecher, 2000):

$$TVCA = \frac{Q (NATe - NATs)}{Vm} \quad (e)$$

Dónde:

TVCA= tasa volumétrica de conversión de amonio

Q= flujo

NATe= nitrógeno amoniacal total a la entrada del filtro

NATs= nitrógeno amoniacal total a la salida del filtro

$$TVCN = TVCA + \frac{Q(NO2e - NO2s)}{Vm} \quad (f)$$

Dónde:

TVCN: tasa volumétrica de conversión de nitrito

NO₂e: nitrito a la entrada

NO₂s: nitrito salida

3.9 Análisis estadístico

Para la evaluación de los flujos, solo se hizo una comparación entre la tendencia de los datos.

Para la segunda evaluación se siguió el diseño experimental de bloques al azar con repeticiones a través del tiempo en que se prueba tanto las variables (NAT, NO₂, NO₃, TVCA, TVCN, pH, alcalinidad, SST, temperatura, oxígeno disuelto) como las unidades experimentales a través del tiempo (bloques). Se evaluó la normalidad de los datos y se aplicó un análisis de varianza de dos vías. A los valores de las mediciones de los últimos 4 días de cada bloque (tiempo) para cada una de las variables: NAT, NO₂, NO₃, TVCA y TVCN con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. En los casos en que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se hizo una prueba a posteriori tipo de comparación de medias Tukey. Se utilizó el programa estadístico SigmaPlot 11.0

Capítulo 4. Resultados

4.1 Maduración de biofiltro

En la figura 7 se muestra la fase final de la maduración del medio. En los primeros días se observó un incremento del NAT producto del metabolismo de las bacterias heterotróficas y que a partir del día 5 las concentraciones se mantienen en valores cercanos a 0, por acción de las bacterias nitrificantes. Los días 7 y 11 se observó un incremento en la producción de nitritos. A partir del día 15 se mantienen los niveles de nitritos en valores de 0 - 1 mg L⁻¹ debido a que las bacterias nitrificantes que oxidan el nitrito ya se establecieron. Los nitratos se mantienen entre 2-4 mg/l, debido probablemente a los recambios de agua que se hacían, aunque se observa un pico de antes del día 25.

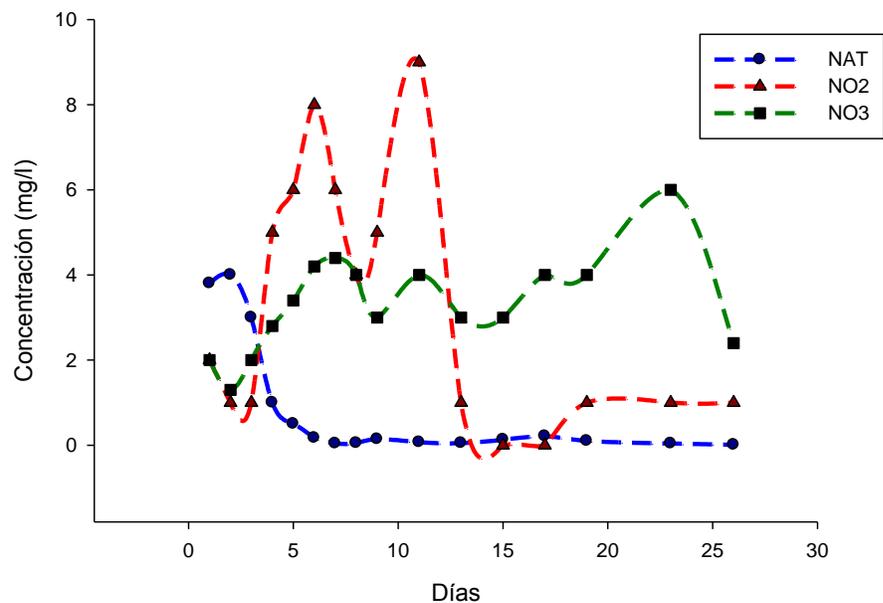


Figura 7. Maduración del medio que se usó tanto en el filtro de cama fija como en el de cama fluidizada.

4.2 Evaluación de los flujos

Las principales variables ambientales del cultivo de lenguados con diferentes velocidades de flujo de agua se mantuvieron estables durante el periodo experimental y dentro de los

límites de tolerancia para peces marinos y para el funcionamiento adecuado de los filtros biológicos (Tabla 2).

Tabla 3. Parámetros de calidad ambiental para los sistemas de recirculación sujetos a tres velocidades de flujo (4.5, 6.5 y 9 L min⁻¹).

	Velocidad de flujo (l/min)		
	4.5	6.5	9.0
Temperatura (°C)	18.1 ± 0.3	18.3 ± 0.9	18.0 ± 0.3
pH	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1	8.0 ± 0.1
Alcalinidad (mgCaCO ₃)	277 ± 44	262 ± 50	274 ± 42
Oxígeno Disuelto (mg l ⁻¹)	6.6 ± 0.3	6.6 ± 0.5	6.7 ± 0.3

La figura 8 muestra el efecto de las velocidades de flujo sobre las concentraciones del NAT durante el periodo de trece días de duración del experimento. Se observa que los valores máximos corresponden a las velocidades de flujo de 4.5 y 6.5 l/min (tratamientos 1 y 2 respectivamente). Salvo por 4 eventos, los valores se mantuvieron por debajo de 1 mg/l. La velocidad de 9 L min⁻¹ arrojó los mejores resultados, con un promedio de 0.59 ± 0.01 mg L⁻¹ de NAT.

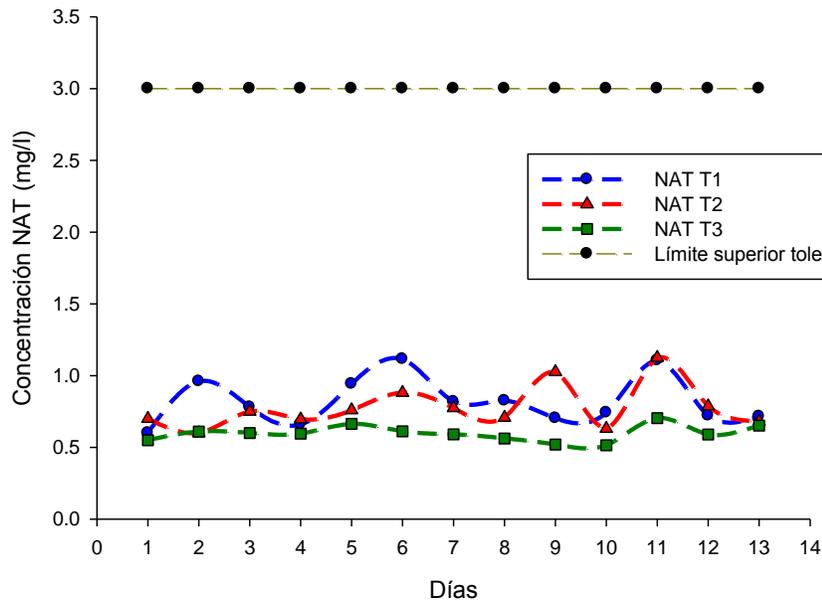


Figura 8. Concentración del nitrógeno amoniacal total (NAT) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min⁻¹ (tratamientos 1,2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.

Los valores de nitritos tuvieron una menor variación que el NAT, la diferencia entre los máximos y mínimos fue de 0.55, 0.50 y 0.50 para las velocidades de flujo de 4.5, 6.5 y 9.5 L min⁻¹. Los valores más bajos se registraron con la velocidad de 9.5 L min⁻¹ (tratamiento 3), los más altos con las velocidades más bajas se mantuvieron en el intervalo de 0.1 a 1.0 mg/l. (Fig. 9)

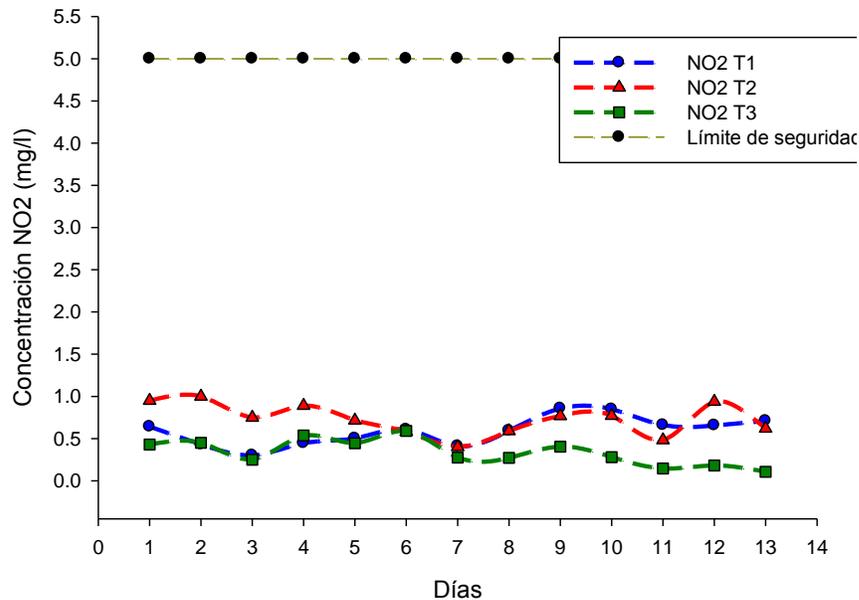


Figura 9. Concentración de los nitritos (NO₂) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min⁻¹ (tratamientos 1,2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.

La figura 10 indica que los valores más bajos de nitratos se registraron con la velocidad más alta, sin embargo, las diferencias solo se observan hacia el final del periodo experimental. Considerando que el proceso de dilución del sistema asociado con la reposición del agua retirada durante el retrolavado es similar para cada unidad experimental y que la carga también es la misma, no existe una razón aparente que explique las diferencias en la concentración de nitratos, ya que todo el NAT producido se oxida por el proceso de nitrificación y se acumula en forma de nitratos.

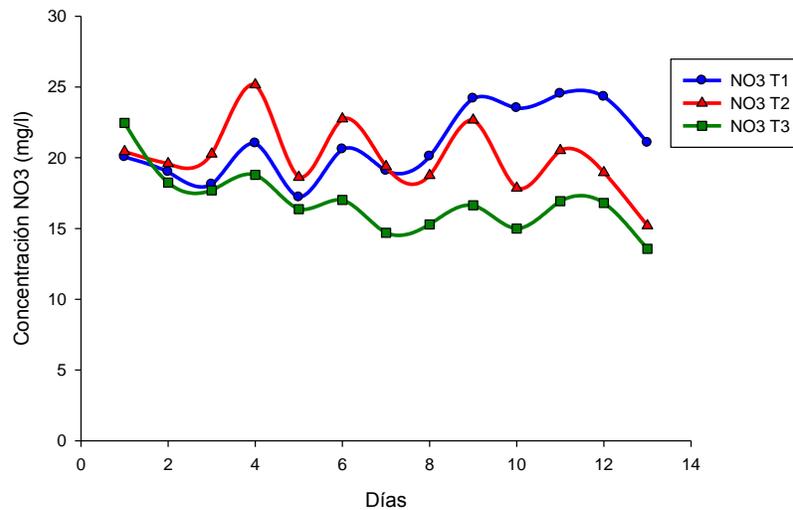


Figura 10. Concentración de NO_3 de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min^{-1} (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.

La capacidad de nitrificación por unidad de volumen de medio filtrante se mide en g de NAT removido por m^3 de medio por día y es denominada tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA). Esta tasa permite hacer una comparación de la eficiencia de la nitrificación entre biofiltros y medios filtrantes (sustrato para la adsorción de bacterias), además es una herramienta para calcular la cantidad de medio necesario para dimensionar el biofiltro de un SRA.

La TVCA de los filtros de cama fija y de cama dinámica alcanzaron valores máximos de $213 \text{ g m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ y los mínimos de $-226 \text{ g m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ (un valor negativo significa producción de NAT en lugar de remoción), para el flujo de 6.5 L min^{-1} (Tratamiento 2) (Figura 11).

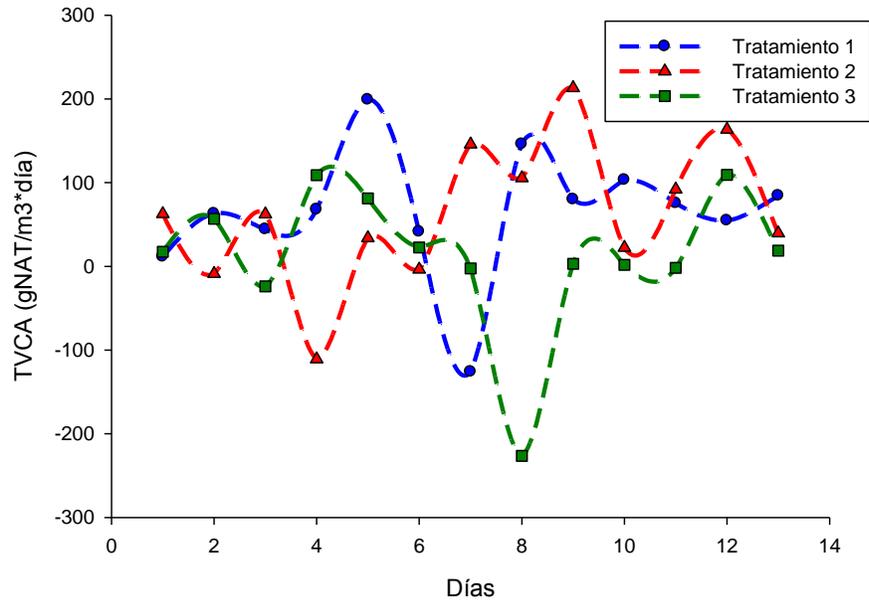


Figura 11. Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.

La figura 12 muestra los valores de la TVCA correspondientes al filtro con medio dinámico, con valores máximos de 580 g m³ día⁻¹ y mínimos de -172 g m³ día⁻¹ correspondientes a las velocidades de 4.5 y 7 l min⁻¹. (Tratamientos 1 y 2 respectivamente).

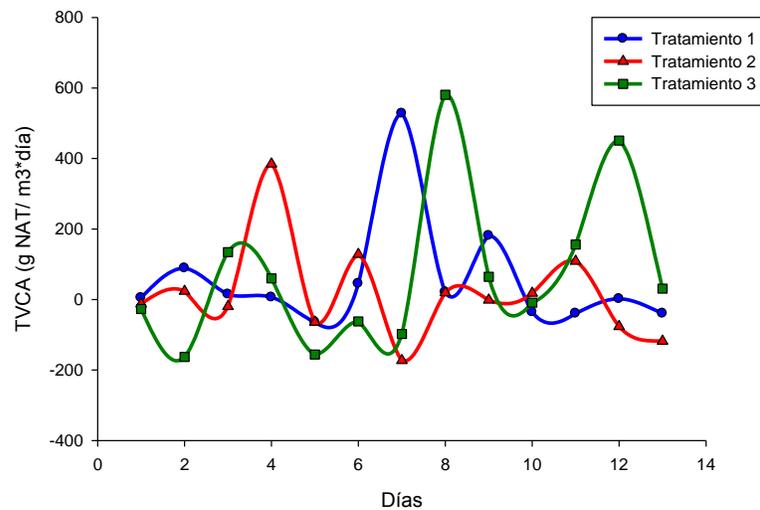


Figura 12. Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min⁻¹ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.

La tasa volumétrica de conversión de nitritos se mantuvo en promedios de 60.41 ± 20.78 , 90.61 ± 25.13 y 85.11 ± 23.61 g de NO_2 oxidado por $\text{m}^{-3} \text{ día}^{-1}$. Los valores más altos se presentaron con las velocidades de 7 y 9.5 l min^{-1} (Figura 13).

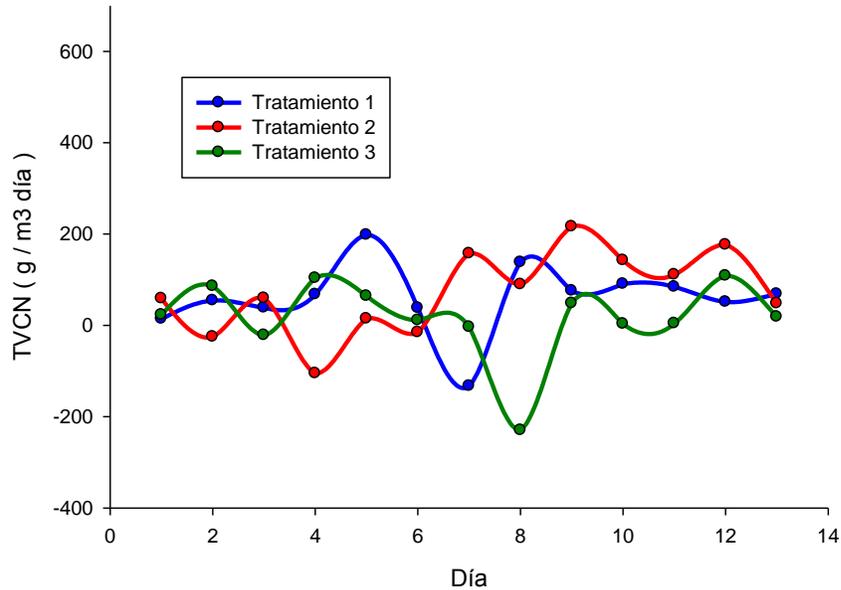


Figura 13. Tasa volumétrica de conversión de nitritos (TVCN) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5 , 6.5 y 9.5 l min^{-1} (tratamientos 1,2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.

Los valores promedio de la TVCN en los filtros dinámicos fueron de 76 ± 152 , 37 ± 142 , 61 ± 225 para los tratamientos de 10, 20 y 30 recambios al día, respectivamente (figura 14). Los picos observados en el día 4 del tratamiento 3, los días 7 y 8 de los tratamientos 1 y 2, se deben a un decremento en la concentración de nitritos y NAT, debido a una previa acumulación.

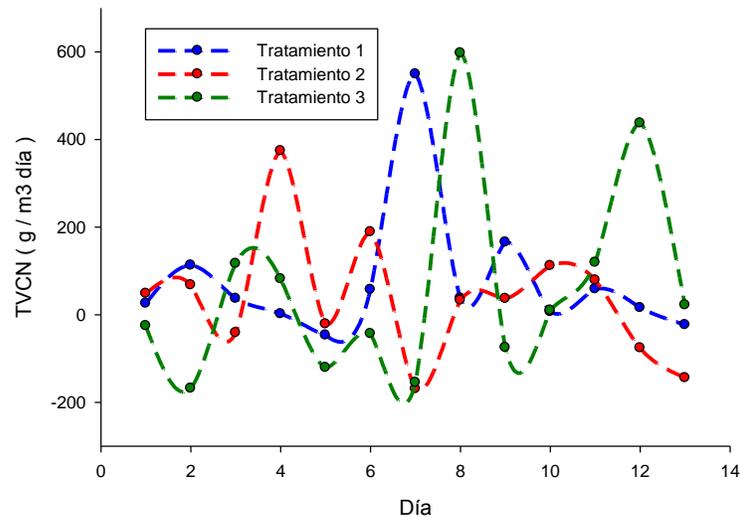


Figura 14. Tasa volumétrica de conversión de nitrito (TVCN) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres velocidades de flujo de 4.5, 7 y 9.5 l min⁻¹ (tratamientos 1,2 y 3 respectivamente), equivalente a 10, 20 y 30 recambios por día.

En la tabla 3 se muestra un resumen con los valores promedio y su desviación estándar de el NAT, nitritos, nitratos, las TVCA del filtro de cama fija y del filtro de cama fluidizada. Se observa que en promedio el tratamiento correspondiente al flujo de 9 L min⁻¹ presentó el valor más bajo tanto de NAT como de NO₂. La razón por la que se presentaron estos valores en el tratamiento con el flujo más alto es que probablemente los nutrientes (NAT y NO₂) se hayan puesto a disposición de las bacterias nitrificantes a una mayor tasa en comparación a los otros tratamientos. En cuanto al nitrato la explicación posible puede ser una equivocación al momento de hacer el recambio de agua, y en lugar de utilizar el agua del sistema de recirculación como normalmente se hacía, se haya usado agua del sistema oceánico que tiene una concentración ≤ 1 mg L⁻¹ y no ≥ 10 mg L⁻¹ como usualmente está la del sistema de recirculación. En cuanto a las tasas de nitrificación para el filtro de cama fija se observó un valor inferior en la TVCA para el tratamiento de 9 L min⁻¹, y un valor muy similar para la TVCN.

En el filtro de cama fluidizada se encuentra una tendencia inversa, al presentarse valores superiores para éste tratamiento en ambas tasas. La explicación podría ser que a una mayor velocidad de flujo se arrastre de mejor manera los sólidos hasta la recámara donde está el filtro de cama fija y se retirarían más eficientemente, lo que aunque generaría tasas de nitrificación más bajas en ese filtro por contener más materia orgánica, sin

embrago, cuando pasa al filtro de cama fluidizada aumentaría las tasas de nitrificación en esta sección del SRA ya la carga orgánica sería menor.

Tabla 4. Valores promedio de las concentraciones de compuestos nitrogenados así como de las tasas volumétricas de remoción de TAN y de Nitritos (\pm error estándar)

	Velocidad de flujo (l/min)		
	4.5	6.5	9.0
NAT (mg L ⁻¹)	0.82 \pm 0.04	0.77 \pm 0.04	0.59 \pm 0.01
NO ₂ (mg L ⁻¹)	0.58 \pm 0.04	0.72 \pm 0.05	0.33 \pm 0.04
NO ₃ (mg L ⁻¹)	20.98 \pm 0.68	20.01 \pm 0.69	16.88 \pm 0.61
TVCA fija (g m ⁻³ día ⁻¹)	64.84 \pm 20.73	62.89 \pm 23.35	12.71 \pm 23.28
TVCA fluidizada (g m ⁻³ día ⁻¹)	54.76 \pm 43.21	16.75 \pm 38.24	74.04 \pm 61.24
TVCN fija (g m ⁻³ día ⁻¹)	60.41 \pm 20.78	90.61 \pm 25.13	85.11 \pm 23.61
TVCN fluidizada (g m ⁻³ día ⁻¹)	81.97 \pm 41.16	70.51 \pm 29.86	106.33 \pm 52.81

A pesar de que el tratamiento de 9 L min⁻¹ presentó valores más bajos de NAT y NO₂, se optó por utilizar para la evaluación de la densidad de cultivo, la velocidad de 6.5 L min⁻¹ ya que las variaciones fueron tan grandes que no importa cuál se utilizara.

4.3 Efecto de la densidad de cultivo

Las principales variables ambientales se mantuvieron dentro de los rangos recomendados para el cultivo de lenguado de California (tabla 4), durante el experimento en donde se evaluó el efecto de tres densidades de cultivo en SRA con las mismas características.

Tabla 5. Valores promedio con su desviación estándar de algunas variables ambientales durante el experimento de la densidad de biomasa

	Densidad de cultivo (kg m ⁻³)		
	22.2	28.9	35.6
Temperatura (°C)	18.5 ±0.6	18.6 ±.9	18.2 ±0.4
pH	7.5 ±0.1	7.5 ±0.1	7.6 ±0.1
Alcalinidad (mgCaCO ₃)	185 ±34	195 ±46	149 ±28
Oxígeno Disuelto (mg l ⁻¹)	6.0 ± 0.3	6.5 ± 0.5	7.0 ± 0.3

Las concentraciones de NAT fueron menores a 0.5 mg L⁻¹ durante la mayoría de los días (Figura 15). Se observan valores máximos de 0.7 mg l⁻¹ (tratamiento 2) y mínimos de 0 mg l⁻¹, en los tratamientos 2 y 3. El análisis estadístico (Tabla 5) se realizó con los datos de los últimos 5 días del experimento y los resultado indican que la carga orgánica no influyó en la capacidad de filtración del sistema, y considerando que el experimento se hizo en tres etapas consecutivas (bloques), el análisis también indicó que no hubieron diferencias entre las repeticiones para una misma carga.

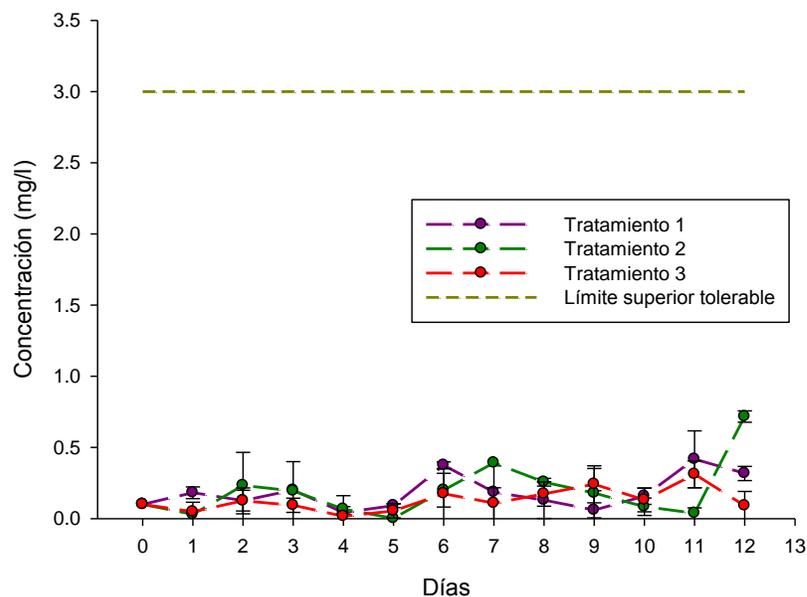


Figura 15. Concentración del nitrógeno amoniacal total (NAT) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).

No se encontraron diferencias significativas ($P= 0.70$) en la concentración de NO_2 entre los tratamientos, ni entre los tiempos que se hicieron las corridas ($P= 0.14$). Se observan valores máximos de 1.7 mg l^{-1} y mínimos de 0 mg l^{-1} , correspondientes a los tratamientos 2 y 3 respectivamente (Figura 16).

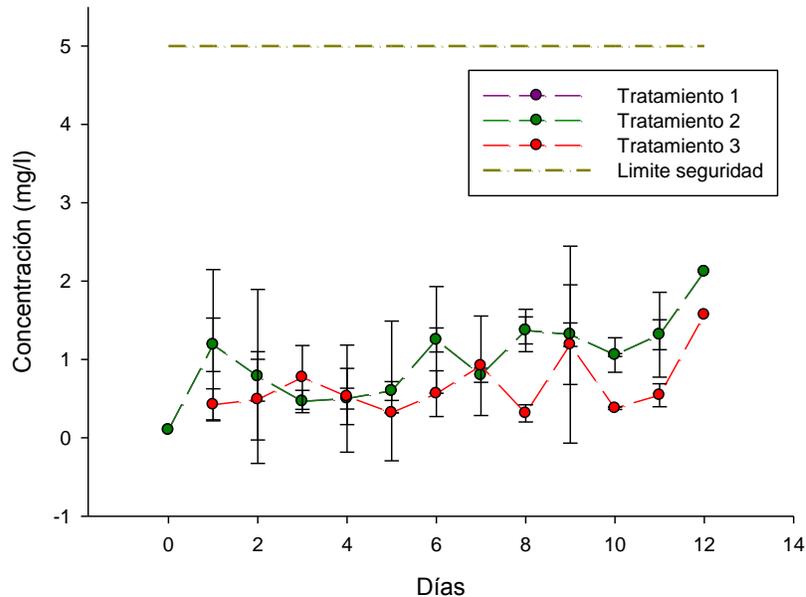


Figura 16. Concentración del nitrito (NO_2) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6 , 28.9 y 22.2 kg m^{-3} (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).

No se encontraron diferencias significativas en los nitratos entre los tratamientos ($P=0.71$). Los nitratos, producto final de la nitrificación en el SRA, presentaron una acumulación progresiva y las concentraciones estuvieron dentro de los rangos recomendables para peces marinos. Como se observa en la figura 17, la concentración inicial nunca fue 0, ya que se utilizó agua del sistema de recirculación del departamento de acuicultura para reponer el agua cuando se hacían los retrolavados, y como previamente ya había pasado por algún filtro biológico, contenía una concentración que generalmente rondaba los 10 mg L^{-1} . Se presentaron valores máximos de 21 mg l^{-1} , y mínimos de 7.6 mg l^{-1} , correspondientes a los tratamientos 1 y 2 respectivamente.

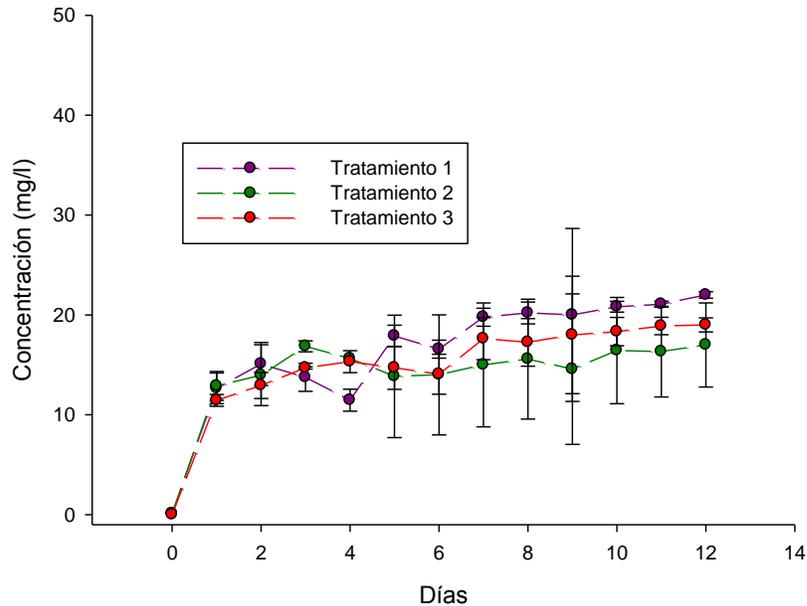


Figura 17. Concentración del nitrato (NO_3) de los tanques de cultivo de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6 , 28.9 y 22.2 kg m^{-3} (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).

En la figura 18 correspondiente al filtro de cama fija se observaron valores máximos de NAT removido de 201 g m^{-3} de medio por día y mínimos de $-53 \text{ g NAT m}^{-3} \text{ día}^{-1}$, correspondientes a los tratamientos 2 y 1 respectivamente. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P=0.02$) donde los tratamientos 2 - 3 y 1 - 3 eran diferentes y los tratamientos 2 y 1 eran iguales.

Se encontraron diferencias significativas ($P=0.02$) en las tasas de conversión de amonio de la cama filtrante. La prueba Tukey indicó que los tres tratamientos eran diferentes, y el tratamiento 2 (28.9 kg m^{-3}) resultó con la mejor tasa de conversión volumétrica de amonio.

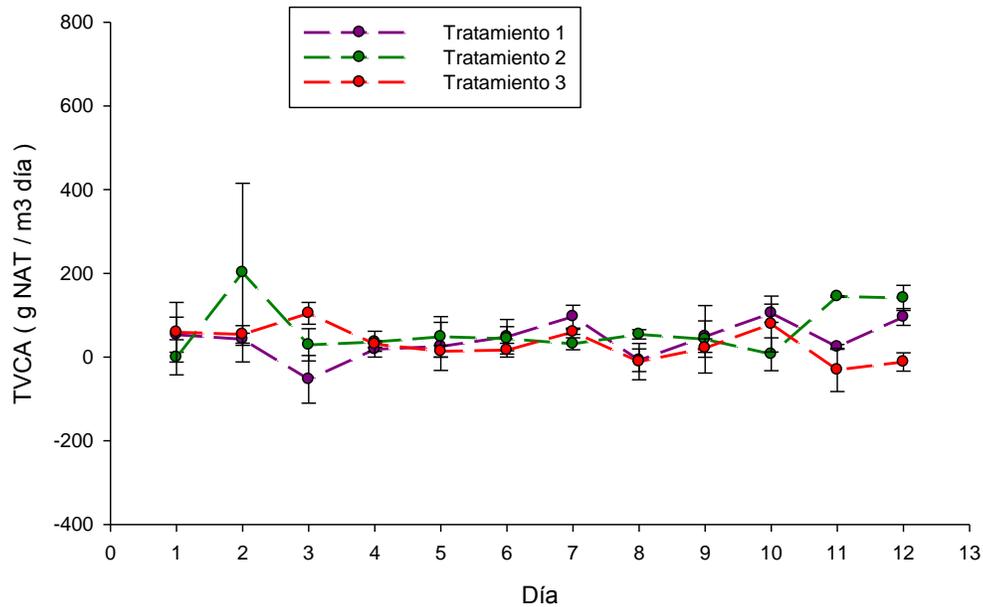


Figura 18. Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).

Los valores máximos TVCA fueron de 341 g NAT m⁻³ día⁻¹ y mínimos de -133 g NAT m⁻³ día⁻¹ en el tratamiento 3 ambos. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (P=0.7) ni entre los sistemas en que se hicieron las repeticiones (P=0.5).

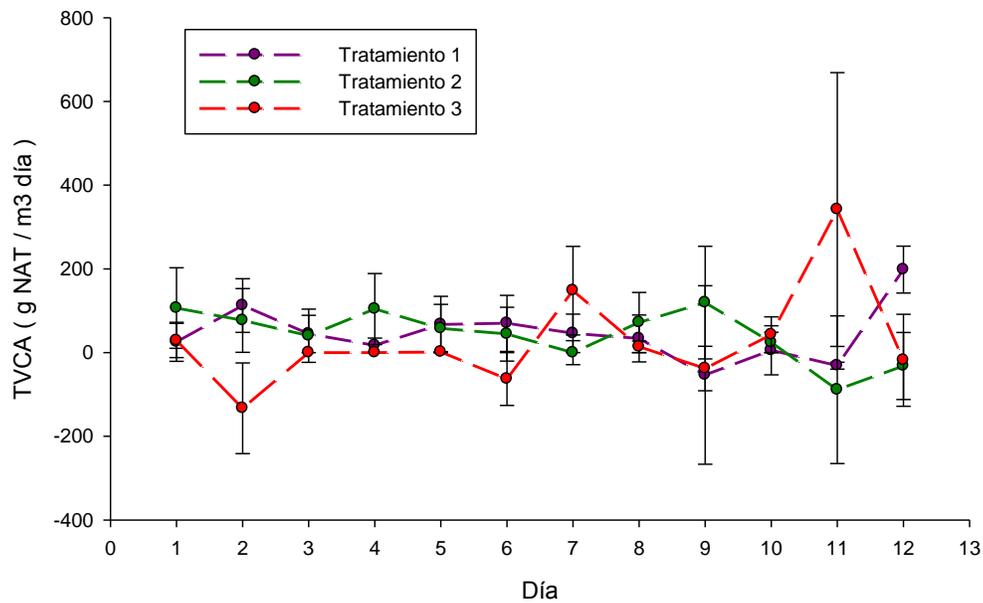


Figura 19. Tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente). durante la evaluación de la biomasa.

La capacidad de remoción de nitritos está íntimamente relacionada con la TCVA y con la concentración de nitritos antes y después de pasar por el filtro. En la figura 20 se observa la gran variación de la TVCN al principio del experimento debido probablemente al reajuste en la población bacteriana debido al cambio de carga que experimentó el sistema en cada corrida.

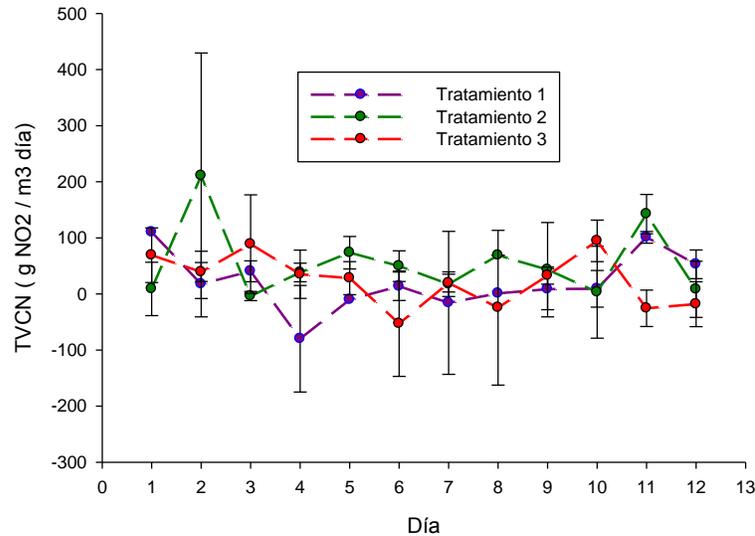


Figura 20. Tasa volumétrica de conversión de nitrito (TVCN) del filtro de cama fija de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente). durante la evaluación de la biomasa.

El filtro de cama fluidizada presentó un comportamiento aún más variado que el filtro de cama fija, con valores más heterogéneos y un error estándar más grande (Figura 21), como sucedió en el mismo filtro pero con la TVCA. Pudo ser debido a que en algún momento del experimento se presentaron acumulaciones de sólidos en la tubería que provocaran un aumento en la concentración de NAT o nitritos que el filtro de cama fija no haya podido metabolizar inmediatamente por lo que el segundo filtro, el de cama fluidizada, haya tenido una mayor concentración de nutrientes para su metabolismo.

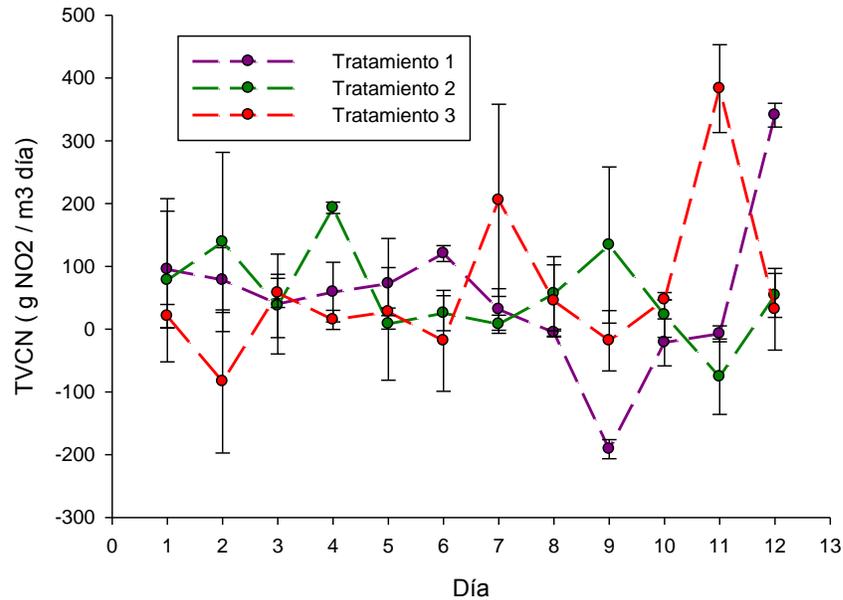


Figura 21. Tasa volumétrica de conversión de nitrito (TVCN) del filtro de cama fluidizada de un sistema de recirculación acuícola con tres densidades de cultivo, 35.6, 28.9 y 22.2 kg m⁻³ (tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente). durante la evaluación de la biomasa.

En la tabla 5 se muestra los valores promedio y su desviación estándar del NAT, NO₂, NO₃, TVCA y TVCN del filtro de cama fija y del filtro de cama fluidizada durante el experimento de las cargas. No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de NAT, NO₂ y NO₃. Se observaron diferencias significativas en la TVCA del filtro de cama fija en donde los tratamientos 2 y 3 presentaron los mejores resultados. Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, la TVCN fue mejor en el tratamiento 2. Debido a la variabilidad de los datos no se observaron diferencias entre los tratamientos.

Tabla 6. Análisis estadístico del experimento de carga orgánica sobre la capacidad de nitrificación del sistema de recirculación acuícola. M=filtro cama fija; B=filtro cama fluidizada.

	Carga orgánica			Fuentes de variación	
	1	2	3	Tratam	Tiempo
NAT	0.24 ± 0.1	0.27 ± 0.3	0.21 ± 0.03	0.90	0.18
NO ₂	1.40 ± 0.4	1.13 ± 0.5	1.02 ± 1.1	0.70	0.14
NO ₃	20.32 ± 1.31	13.46 ± 7.3	15.21 ± 6.1	0.42	0.08
TVCA _M	82.52 ± 13.28 ^a	89.08 ± 13.36 ^a	46.48 ± 13.56 ^b	0.009 ^{**}	0.06
TVCA _B	92.97 ± 46.59	69.86 ± 54.89	60.91 ± 33.63	0.88	0.41
TVCN _M	61.38 ± 9.19 ^{ab}	94.21 ± 8.22 ^a	47.63 ± 5.12 ^b	0.04 [*]	0.71
TVCN _B	108.37 ± 84.79	80.10 ± 46.26	46.01 ± 19.06	0.69	0.25

Capítulo 5. Discusión

5.1 Maduración del medio filtrante

La primera parte del experimento correspondió a la maduración del medio. La maduración se llevó a cabo usando harina de pescado (1g por cada 30 L de medio). Se evaluaron los niveles de NAT, NO₂ y NO₃ para determinar la fijación de bacterias nitrificantes. La figura 8 muestra una respuesta similar a la descrita por Timmons, *et al.* (2002) para la maduración de un filtro biológico, inicialmente se registra un incremento en la concentración de NAT y una disminución conforme se desarrollan las bacterias que oxidan el NAT. Se observó un patrón similar para la concentración de nitrito y finalmente se observa un incremento gradual en la concentración de NO₃.

Cuando se distribuyó el medio en los SRA y comenzó la fase experimental con organismos (con la suposición de que el filtro estaba maduro), se observó un incremento en las concentraciones de NAT, que en algunos días eran de hasta 5 mg l⁻¹. Por esta razón, se hicieron recambios de agua de hasta el 50% del volumen total del sistema. Para entender este comportamiento del filtro, se proponen tres posibles explicaciones: a) que el medio haya experimentado una merma en la población bacteriana debido al cambio de temperatura, que pasó de 27 a 17-18.5°C; b) que el medio no estuviera realmente maduro c) que la fuente de materia orgánica asociada con la excreción de los peces, modificara las relaciones C/N en los filtros y alterara la composición de las poblaciones bacterianas. La probabilidad de que haya sucedido esto último parece ser una buena explicación ya que se tenían deficiencias en la remoción de sólidos.

Cualquiera que haya sido la causa por la que el sistema no removiera en forma adecuada el NAT, con los recambios de agua se evitaron las concentraciones letales del NAT y se logró que el sistema madurara y tuviera la capacidad de removerlo al día 23-25 del inicio de la operación del sistema, ya que las concentraciones de NAT y NO₂ se mantuvieron entre 1 y 0.5 mg L⁻¹ respectivamente.

Durante el proceso de muestreo del agua de los sistemas, en el punto A (entre el tanque de cultivo y el filtro de cama fija), se detectó una acumulación anormal de materia

orgánica, lo que propició su descomposición y la producción de cantidades anormalmente altas de NAT. Esto se debió a procesos de mineralización y amonificación de tal forma que en algunos días la concentración fue de 3 mg l^{-1} mayor que la del tanque de cultivo. Estos datos sugirieron un proceso de amonificación que se debió probablemente a una deficiencia en la remoción de sólidos.

La causa de la acumulación de materia fue que no había una tasa de flujo suficientemente alta para evitar que la materia orgánica se sedimentara, por lo que se procedió a modificar el diámetro de la tubería. Es posible que la capacidad de remoción del NAT del sistema también coincidiera con esta modificación del sistema, que consistió en cambiar el diámetro del tubo de 10.14 a 5.08 cm. Este defecto en el diseño fue una consecuencia de la suposición de que si la velocidad de sedimentación de las heces de lenguado era de 2 cm s^{-1} (Merino, *et al.* 2002) una velocidad de más de 3 cm s^{-1} evitaría que se sedimentaran, sin embargo no se contempló la turbulencia del flujo (Martínez-Castañeda, 1993), que con el tubo de 5.08 cm de diámetro era laminar ($Re= 1600$) y con el tubo de 2.54 cm de diámetro y con un flujo de 4 L min^{-1} se acercaba más a un flujo turbulento ($Re= 3200$), mientras que con la velocidad de 6.5 L min^{-1} el número de Reynolds aumentó de 2576 con el tubo de 2.54 cm de diámetro a 5152 con el de 5.08 cm. Tampoco se tomó en cuenta la recomendación de Timmons *et al.*, de que se necesitan al menos una velocidad de 15 cm s^{-1} para la succión de los sólidos alrededor del desagüe central del tanque, ya que con el tubo de 10.14cm se tenía una velocidad de 3 m s^{-1} con el recambio más bajo, y que luego aumentó a 13 m s^{-1} con el cambio de tubería. Con este cambio se observó inmediatamente una baja en las concentraciones de NAT en el punto de muestreo A y alrededor de 5-10 días después en todos los puntos de muestreo, además de que la muestra ya no contenía una gran cantidad de sólidos.

5.2 Evaluación de los flujos

Cuando el agua se mueve a través de un medio granular como el de un filtro biológico, constituido de partículas sobre las que crecen las bacterias nitrificantes que consumen los nutrientes del agua, se forman gradientes de concentración cuya magnitud es inversamente proporcional a la velocidad del agua. De esta forma, si la velocidad del agua se reduce, la capa limítrofe es más gruesa y el gradiente de concentración se hace

más pronunciado, lo que limita el la disponibilidad de nutrientes para el metabolismo bacteriano y por lo tanto se reduce o elimina la transformación metabólica $\text{TAN} \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO}_3$ (Zhang y Bishop, 1994). Por esta razón, en primer lugar se evaluó el efecto de tres flujos, 4.5, 6.5 y 9 L min⁻¹, sobre la capacidad de retención de sólidos y la tasa de nitrificación de los filtros.

Luego de que el sistema tuvo la capacidad de transformar el NAT y el NO₂ (que el biofiltro estuviera “maduro” o funcional), comenzó la fase experimental en la que se evaluaron los tres flujos. Debido a un mal entendido con respecto al diseño experimental en bloques al azar, cada uno de los tres tratamientos solo se probó en un SRA, y no en cada uno de los 3 SRA; debido a ésta situación, no se pudo discernir si las diferencias observadas fueron producto de la variación asociada al tratamiento o a la unidad experimental en dónde se probó. Al considerar los resultados del segundo experimento en el que se evaluó el efecto de la densidad, se pudo constatar que los bloques no contribuyen significativamente a la variación observada en las respuestas de los filtros. Con esta premisa, es posible comparar los resultados obtenidos con los publicados por otros autores.

En el tratamiento 3, correspondiente a una tasa de recirculación equivalente a 30 recambios de agua por día mostró los valores más bajos en las concentraciones de NAT y NO₂, durante la mayor parte del experimento, en comparación con los tratamientos 1 (10 recambios día⁻¹) y 2 (20 recambios día⁻¹). Esta respuesta se relaciona con el hecho que una mayor tasa de recambio del agua pone los nutrientes de manera más rápida a disposición de las bacterias. Una tasa de recambio mayor implica una mayor velocidad de flujo del agua por la tubería y una mayor turbulencia, que arrastraría a los sólidos de mejor manera hacia el tanque donde estaba la cama filtrante, así que las bacterias heterotróficas que producen los sólidos orgánicos también se retirarían a mayor tasa y producirían menos NAT.

5.2.1 Filtro de cama fluidizada

En lo que se refiere a la TVCA, el filtro de cama fluidizada mostró un comportamiento diferente al del filtro de cama fija. Los errores estándar de la cama rondaron los ± 22 g NAT m⁻³ día⁻¹, mientras que en el filtro dinámico variaron de ± 38 a ± 61 g NAT m⁻³ día⁻¹.

Se hizo un prueba t, para comparar las diferencias entre las tasas de nitrificación entre los filtros, en el tratamiento 1 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos (P=0.08; P=0.08; P=0.87, para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente).

5.3 Evaluación de biomesas

5.3.1 Filtro de cama fija

Sastry *et al.*, (1999) evaluaron la eficiencia de nitrificación de un bioclarificador de burbuja (bubble bead filter), el cual utiliza un principio de filtración similar al utilizado en este trabajo en el que el agua pasa a través de una cama de estructuras plásticas que llevan a cabo el trabajo de remoción de sólidos y nitrificación. Estos autores evaluaron el desempeño de su filtro a una mayor temperatura (26-30 °C), casi 10°C superior a la medida en éste experimento (18 °C) y por lo tanto, se espera una mayor eficiencia en la nitrificación, debido a que la tasa metabólica de las bacterias nitrificantes aumenta de manera lineal conforme a la temperatura en el intervalo de 7 hasta 35°C (Hagopian y Riley, 1998). Sus valores promedio de NAT fueron de 0.5 mg L⁻¹, mientras que en la evaluación de los flujos, una tasa equivalente a 30 recambios del volumen del tanque por día, mostró valores promedio de 0.59 mg L⁻¹ de NAT. Su tasa volumétrica de conversión de amonio es de 122 g m⁻³ día⁻¹, en esta tesis, la TVCA fue de 82.52 ± 13.28 y 92.97 ± 46.59 g m⁻³ día⁻¹ para el filtro de cama fija y el filtro cama fluidizada respectivamente. Sastry *et al.* (1999) utilizaron una carga de alimento de 16 kg kg m⁻³ día, en este trabajo, para la evaluación del efecto del flujo se usó una carga de alimento de 3.75 kg m⁻³ día. La concentración de nitritos registrada por Sastry *et al.* (1999) es de 0.12 mg L⁻¹ con una tasa de conversión de nitrito de 129 g m⁻³ día⁻¹. En esta tesis, se midieron concentraciones de nitritos en promedio para el mejor tratamiento de 0.21 mg l⁻¹, con una TVCN de 47.63 ± 5.12 y 46.01 ± 19.06 g m⁻³ día⁻¹ para el tratamiento 3. Es posible que el valor más bajo en la concentración de nitritos registrada por Sastry *et al.* (1999) se deba a que su TVCN es mayor a la presentada en este estudio.

La variabilidad de un SRA a otro se debe principalmente al manejo (Malone y Beecher, 2000) y no tanto a los componentes, ya que sistemas con componentes muy similares

(como el mismo biofiltro o filtro mecánico por ejemplo) pueden presentar una variación considerable aún con condiciones de carga similares. Malone y Beecher (2000) hicieron un análisis comparativo de las TVCA consignadas en varios estudios para filtros de cuentas plásticas y se observaron que los valores variaron de más de $400 \text{ g m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ de NAT removido a menos de $100 \text{ g m}^{-3} \text{ día}^{-1}$. La cantidad de NAT que el sistema reciba afecta directamente a la nitrificación, de tal forma que a mayor cantidad de NAT mayor tasa de nitrificación (Hagopian y Riley, 1998). En su estudio, Malone y Beecher (2000), utilizaron 16, 24 y 32 kg de alimento por m^3 de medio por día, mientras que éste proyecto y en este primer experimento se usó tan solo $3.75 \text{ kg m}^{-3} \text{ día}^{-1}$, esto para tener un punto de comparación en cuanto a ambos filtros. Otro aspecto importante que puede explicar los bajos valores reportados en este estudio (12 a $74 \text{ g m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ de NAT removido), en comparación con los de Malone y Breecher (2000), es que el área superficial específica del medio que ellos utilizaron es mayor que la calculada para el medio utilizado en este estudio ($1150 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ contra $580 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$;) esta mayor superficie provee un mayor espacio para el crecimiento de las bacterias nitrificantes. Entonces, si comparamos la tasa areal de conversión de amonio, tenemos un valor para las cuentas flotantes de Malone y Breecher (2000) de $106 \text{ mg m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, y para este estudio de 111, 108 y $22 \text{ mg m}^{-2} \text{ día}^{-1}$.

Los valores negativos observaron en la TVCA (figuras 12 y 13), indican producción de NAT en los filtros, producto de la descomposición de la materia orgánica por acción de bacterias heterotróficas (Michaud, *et al.* 2006). En cuanto a los valores negativos en la TVCN pueden ser el resultado de la diferencia entre una mayor producción de NO_2 a partir de la materia orgánica y la menor conversión de NAT de las bacterias oxidantes del amonio, proceso llamado amonificación o mineralización, que es probablemente debida a problemas en la remoción de sólidos.

Guerdat *et al.* (2010), evaluaron el desempeño de una serie de biofiltros, disponibles comercialmente, acoplados a un sistema de recirculación dedicado al cultivo de tilapia, a una temperatura de 28.9°C y usaron cloruro de amonio para incrementar la cantidad de NAT a la entrada del biofiltro. Los biofiltros evaluados fueron: CycloBio, Low Space Biorreactor y PolyGeyser; con una concentración promedio de amonio de 0.69 mg l^{-1} , obtuvieron una TVCA de 704 ± 67 , 267 ± 39 y $586 \pm 41 \text{ g m}^{-3} \text{ día}^{-1}$. El valor más alto registrado para CycloBio se debió probablemente a la gran área superficial específica

con la que cuenta el medio que utiliza, ya que el diámetro de las partículas es de 0.3 mm, comparativamente, el medio utilizado en el presente estudio es de 4 mm y considerando que la relación superficie/volumen de una partícula tienen una relación inversamente proporcional ($m^2 m^{-3}$) a medida que las partículas son más grandes, tienen una menor superficie específica, esto significa que cuando las partículas son pequeñas las bacterias tienen una superficie total mayor a la cual adherirse, cabe mencionar que aunque este es un filtro de arena fluidizada, nos da un parámetro para la comparación de este estudio.

La principal diferencia del sistema que utilizaron Guerdat *et al.* (2010) con el evaluado en el presente estudio, además de utilizar filtros de patente cuya eficacia ya estaba comprobada, fue la pre-filtración del efluente antes de la biofiltración, ya que utilizaron un filtro de tambor de 40 μm . En el sistema aquí evaluado, el filtro de cama fija tuvo una función mecánica y también funcionó como un biofiltro, pero la materia orgánica particulada retenida propició un incremento de la actividad de las bacterias heterotróficas, lo que derivó en una reducción de las TVCA (Leonard, *et al.* 2002; Michaud, *et al.* 2006).

5.3.2 Filtro de cama fija

La carga máxima evaluada en este trabajo fue de 8 kg de alimento $m^{-3} día^{-1}$. Comparativamente, Sastry *et al.* (1999), evaluaron cargas de 16, 24 y 32 $kg m^{-3} día^{-1}$. Sus concentraciones de NAT fueron de 0.48 ± 0.04 , 0.69 ± 0.03 y 0.79 ± 0.02 $mg l^{-1}$, el doble de las registradas en este estudio. Estos valores superiores de NAT también ayudan a explicar la diferencia en la TVCA, ya que son directamente proporcionales (Guerdat, *et al.* 2010), aunque cabe señalar que la principal aportación a esta cuestión sea la amonificación. Los resultados que obtuvieron Sastry *et al.* (1999) son comparables a los resultados presentados aquí para la cama filtrante, ya que ambos utilizan partículas plásticas de un tamaño similar para llevar a cabo la filtración mecánica y la biofiltración. Sin embargo, las principales diferencias son el contenedor del medio filtrante, que en este estudio fue un recipiente de polietileno de forma cilindro-cónica, con una cama de partículas de plástico, con un tubo de PVC y una malla como cedazo, además de que el filtro funciona sin presión y que el tamaño del medio filtrante es mayor. Para estas cargas, estos autores reportan eficiencias de nitrificación de 130 ± 10 , 215 ± 12 y 336 ± 26 g NAT

$\text{m}^{-3} \text{ día}^{-1}$, para los tratamientos de 16, 24 y 32 kg de alimento $\text{m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ y para un retrolavado por día.

La tasa de nitrificación de las bacterias oxidantes del NAT en la presente evaluación, para el tratamiento de 16 kg de biomasa (que equivale a una ración de 8 kg de alimento por m^{-3} de medio filtrante por día) fue un 46 % menor que la reportada por Sastry *et al.* (1999) para su menor carga (16 kg de alimento $\text{m}^{-3} \text{ día}^{-1}$). Aunque cabe señalar que su carga fue un 100% mayor y la temperatura fue un 36% más alta, parámetros que como se señaló anteriormente, aumentan el metabolismo de las bacterias nitrificantes y por ende la capacidad de nitrificación del sistema. En lo que se refiere a la tasa volumétrica de conversión de nitritos, Sastry *et al.* (1999) reportan valores de 153 ± 10 , 262 ± 12 y $435 \text{ g NO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ día}^{-1}$. Estos valores son un 74% superior para la carga de 16 kg de alimento $\text{m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ contra la de 8 kg de alimento $\text{m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ del presente estudio. En cuanto a los nitritos, Sastry *et al.* (1999) obtuvieron concentraciones un 91% inferior a las reportadas en el presente estudio y la diferencia se puede deber a la alta tasa de retención de sólidos que se tenía en el tanque de la cama filtrante.

Pfeiffer y Malone (2006) evaluaron la capacidad de nitrificación de un filtro de propela (que es similar al de cama fija descrito aquí, pero con un medio en forma de concha diseñado para maximizar la relación superficie/volumen, además funciona presurizado y durante el retrolavado, las partículas se mezclan con un sistema mecánico de agitación de una manera más intensa), acoplado a un filtro fluidizado de arena. El cultivo con el que evaluaron el sistema fue de tilapia, con temperaturas que fluctuaron entre 21 a 28 °C con un pH de 7.4, con tres raciones de alimento por día. Las concentraciones de NAT variaron de 0.16 a 0.74 mg L^{-1} y de NO_2 de 0.02 a 0.14 mg L^{-1} . Ellos probaron cargas de 3.2 kg de alimento m^{-3} de medio con una eficiencia 28% menor a la reportada en este trabajo, 5.7 kg de alimento m^{-3} de medio con una eficiencia 37% inferior a la reportada aquí, 8.5 kg de alimento m^{-3} de medio con una eficiencia levemente inferior (4%), 12.3 kg de alimento m^{-3} de medio con una eficiencia 8% superior, y 16.1 kg de alimento m^{-3} de medio con una eficiencia 44% superior, todas en sus TVCA.

Si comparamos las tasas de conversión areal obtenidas en el presente estudio (120, 46 y 39 $\text{mg NAT m}^{-2} \text{ día}^{-1}$), observamos que fueron un 12 % más eficientes que las reportados por Sastry *et al.* (1999) para una carga de 16 kg de alimento $\text{m}^{-3} \text{ día}^{-1}$ con un

filtro de burbuja, pero muy inferior cuando se compara con los 331 mg NAT m⁻² día⁻¹ del tratamiento de 32 kg de alimento m⁻³ día⁻¹. Contrastando con otros biofiltros, la cama filtrante evaluada en este estudio resultó inferior, ya que los valores de las tasas de conversión areal reportados para los filtros rotatorios son de 257 mg NAT m⁻² día⁻¹ (DeLosReyes y Lawson, 1996).

5.3.2 Filtro de cama fluidizada

Las TVCA del filtro de cama fluidizada fueron similares a las de la cama filtrante. De acuerdo con el diseño de los filtros, se esperaba que la TVCA del medio dinámico fuera superior a la de la cama fija, debido a que está bien documentado que cuando la concentración de materia orgánica es baja, la capacidad de nitrificación aumenta (Zhu y Chen, 2001), sin embargo, en este estudio no se cumplió esta premisa.

Guerdat et al. (2010) obtuvieron una relación lineal entre la concentración de NAT y la TVCA, así, a mayor concentración de NAT mayor TVCA; debido a esta dependencia, a pesar de que el filtro dinámico funcionó bajo condiciones donde la carga orgánica era menor que en la cama fija. La concentración de NAT que recibía era sustancialmente menor que la que recibía la cama fija, ya que esta última tenía la capacidad suficiente para oxidar el NA producido en el tanque de cultivo. Pfeiffer y Wills (2011) evaluaron 3 diferentes medios comercialmente disponibles: MB3, ABM y K1 Kaldnes, con cargas de 3.5 y 8.2 kg de alimento m⁻³ día⁻¹ y observaron que la TVCA promedio fue de 93 ±26, 82 ±26 y 86 ±5 g m⁻³ día⁻¹, para valores de NAT de 0.61 a 0.88 mg l⁻¹, para la carga más baja. Estos resultados son un 24, 15 y 19 % más eficientes que el tratamiento que mostró el promedio más alto en el presente estudio (6 kg de alimento m⁻³ día⁻¹ o 16 kg de organismos por sistema), pero con valores de NAT un 68% más bajos que los reportados aquí. Con el tratamiento de 8.2 kg de alimento m⁻³ día⁻¹ reportan una concentración de NAT de 1.24 ±0.24, 1.27 ±0.27 y 1.37 ±0.29 mg l⁻¹, para los medios AMB, MB3 y K1 Kaldnes respectivamente, valores superiores a los obtenidos en el presente estudio (0.24 mg l⁻¹). Reportan valores de la TVCA de 186 ±53, 172 ±48 y 140 ±38 g de NAT m⁻³ día⁻¹, valores un 62, 59 y 50 % superiores a los obtenidos en el experimento de las cargas. Es importante tomar en consideración que el SRA de Pfeiffer y Wills (2011) contaba con

un sistema de filtración de sólidos finos, desinfección (PolyGeyser, filtro de arena y UV) e inyección de oxígeno puro a través de un cono de inyección; además de tener una tasa de recirculación equivalente a 72 recambios del tanque de cultivo por día (incluido el biofiltro). El medio que utilizaron tuvo un costo de \$169, \$97 y \$132 US por cada 0.11 m³ de K1 Kaldnes, MB3 y AMB respectivamente, en comparación con el menor costo del medio filtrante utilizado en éste trabajo (\$50 US).

Conclusiones

- Una tasa de recambio de 30 volúmenes del tanque de cultivo por día parece tener un mejor efecto sobre algunas variables de calidad de agua como NAT y NO_2 en cultivo de lenguado de California.
- Un filtro de cuentas plásticas con las características utilizadas en éste experimento puede mantener el NAT, NO_2 , NO_3 y SST en valores óptimos para el cultivo de los equivalentes a 250, 325 y 400 kg de organismo por metro cúbico de medio.

Recomendaciones

- Medir la concentración de oxígeno antes y después de los filtros en los que se quiera evaluar la nitrificación, para conocer la proporción en que las bacterias nitrificantes y las heterótrofas están consumiendo el oxígeno.
- Que los contenedores de la cama filtrante sean de un tamaño mucho menor. La relación volumen agua:medio fue de 1:4 aproximadamente, motivo por el que el tiempo de retención de sólidos era de 3.5 días, lo que propició la producción de NAT y NO₂. Así como una relación del área del contenedor:espesor-de-la-cama más eficiente.
- Aumentar el número de mediciones por día del NAT y NO₂, para tener datos más precisos.
- Evaluar el perfil de sólidos totales que el filtro de cama puede retener

Lista de referencias

- Abeling, U., and Seyfried, C. F. (1992). Anaerobic-aerobic treatment of high-strength ammonium wastewater-nitrogen removal via nitrite. *Water Science & Technology*, 26(5-6), 1007-1015.
- Blancheton, J. P., and Belaud, A. (2009). Water quality and rainbow trout performance in a Danish Model Farm recirculating system: Comparison with a flow through system. *Aquacultural engineering*, 40(3), 135-143.
- Buschamann, A. H, Cabello, F., Young K., Carvajal, J., Varela, D. A., and Henríquez, L. (2009) Salmon aquaculture and coastal ecosystem health in Chile: Analysis of regulations, environmental impacts and bioremediation systems.
- Cripps, S. J., and Poxton, M. G. (1992). A review of the design and performance of tanks relevant to flatfish culture. *Aquacultural engineering*, 11(2), 71-91.
- D'orbcastel, E. R., Blancheton, J., and Belaud, A. (2009). Water quality and rainbow trout performance in a Danish Model Farm recirculating system: Comparison with a flow through system. *Aquacultural engineering* 40(3), 135-143.
- Eschemeyer, W.N., Herald, E.S. and Hamman, H. (1983). A field guide to Pacific coast fishes of North America, Houghton Mifflin Co., Boston, MA. 336 p.
- Furusawa, T. (1997). Key problems of sea-farming associated with its perspective. In: Minami, T., Tanaka, M. (Eds.), *Biology and Stock Enhancement of Japanese flounder*. Koseisha Koseikaku, Tokyo. 117– 126 p.
- Guerdat, T. C., Losordo, T. M., Classen, J. J., Osborne, J. A., and DeLong, D. P. (2010). An evaluation of commercially available biological filters for recirculating aquaculture systems. *Aquacultural engineering*, 42(1), 38-49.
- Hagopian, D. S., and Riley, J. G. (1998). A closer look at the bacteriology of nitrification. *Aquacultural engineering*, 18(4), 223-244.
- Harrison, J. G., Richards, R. H. (1979). The pathology and histopathology of nephrocalcinosis in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson in fresh water.
- Howell, B.R. and Yamashita, Y.L. (2005). Aquaculture and Stock Enhancement. In: Gibson, R.N. (ed). *Flatfishes Biology and Exploitation*. Blackwell Science. Oxford. UK. 391 pp.
- Hochachka P.W. and Somero G.N. (2002). *Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution*. Oxford University New York.

- Kautsky, N., Berg, H., Folke, C., Larsson, J., & Troell, M. (1997). Ecological footprint for assessment of resource use and development limitations in shrimp and tilapia aquaculture. *Aquaculture research*, 28(10), 753-766.
- Love, M.S. and Brooks, A. (1990). Size and age at first maturity of the California halibut *Paralichthys californicus*, in the southern California bight. In: The California halibut, *Paralichthys californicus*, resource and fisheries. California fish and Game Fisheries Bulletin, 174: 167-174.
- Leonard, N., Guiraud, J.P., Gasset, E., Cailleres, J.P. and Blancheton, J.P., (2002). Bacteria and nutrients - Nitrogen and carbon - In a recirculating system for sea bass production. *Aquacult. Eng.* 26 (2), 111–127
- Malone, R. F. and Beecher, L. E. (2000). Use of floating beads filters to recondition recirculating waters in warmwater aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering* 22, 57-73 pp.
- Malone, R. F. and Burden, D. G. (1988). Desing of recirculating blue crab shedding systems. Department of Civil Engineering, Lousiana State University.
- Martínez-Castañeda, M. A. (1993). Hidráulica aplicada a proyectos de riego. Murcia: Universidad, Secretaría de Publicaciones 28-30 pp.
- Merino, G. E., Piedrahita, R. H. and Conklin, D. E. (2007a). Ammonia and urea excretion rates of California halibut (*Paralichthys californicus*, Ayres) under farm-like conditions. *Aquaculture* 271, pp 227-243.
- Merino, G. E., Piedrahita, R. H. and Conklin, D. E. (2007b). Settling characteristics of solids settled in a recirculating system for California halibut (*Paralichthys californicus*) culture. *Aquacultural Engineering* 37, 79-88 pp.
- Merino, G. E., Piedrahita, R. H., and Conklin, D. E. (2007c). Effect of water velocity on the growth of California halibut (*Paralichthys californicus*) juveniles. *Aquaculture*, 271(1), 206-215.
- Michaud, L., Blancheton, J.P., Bruni, V. and Piedrahita, R. (2006). Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacult. Eng.* 34 (3), 224–233.
- Nijhof, M. and Bovendeur, J. (1990). Fixed film nitrification characteristics in sea-water recirculation fish culture systems. *Aquaculture* 87, 133–143.
- Ochoa Vizcaíno, Verónica. (2010). Efecto de los ácidos grasos y la luz UV sobre el cultivo larvario del lenguado de California *Paralichthys californicus* (Ayres, 1851). Tesis de doctorado en ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 93 p.

- Pfeiffer, T., and Malone, R. (2006). Nitrification performance of a propeller-washed bead clarifier supporting a fluidized sand biofilter in a recirculating warmwater fish system. *Aquacultural engineering*, 34(3), 311-321.
- Pfeiffer, T. J., Osborn, A. and Davis, M. (2008). Particle sieve analysis for determining solids removal efficiency of water treatment components in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering* 39, 24-29 pp.
- Pfeiffer, T. J., Summerfelt, S. T., and Watten, B. J. (2011). Comparative performance of CO₂ measuring methods: Marine aquaculture recirculation system application. *Aquacultural engineering*, 44(1), 1-9.
- Pfeiffer, T. J. and Wills P. S. (2011). Evaluation of three types of structured floating plastic media in moving bed biofilters for total ammonia nitrogen removal in low salinity hatchery recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering* 45, 51-59pp
- Randall, D., Burggren, W., and French, K. (2002). *Eckert animal physiology*. Macmillan.
- Reinemann, D.J. (1987). A theoretical and experimental study of airlift pumping and aeration with reference to aquacultural applications. Doctoral dissertation. Cornell University.
- Reinemann, D.J. and Timmons, M.B. (1989). Predicting oxygen transfer and total dissolved gas pressure in airlift pumping. *Aquacultural Engineering*, 8, 29–46.
- Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenes, Y. and Lygren, E. (2006). Design and operations of the kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacult. Eng.* 34, 322–332.
- Stickney, R. R. (2000). *Encyclopedia of aquaculture*. John Wiley and Sons.
- Summerfelt, S.T., Davidson, J. and Helwig, N. (2004). Evaluation of a full-scale cyclobio fluidized-sand biofilter in a coldwater recirculating system. In: Proceedings of the 5th International Conference on Recirculating Aquaculture, July 22–24, pp. 227–237.
- Summerfelt, S. T., Vinci, B. J., and Piedrahita, R. H. (2000). Oxygenation and carbon dioxide control in water reuse systems. *Aquacultural engineering*, 22(1), 87-108.
- Suquet, M., Divanach, P., Hussenot, J., Coves, D. and Fauvel, C. (2009). Pisciculture marine de "nouvelles espèces" d'élevage pour l'Europe. *Cahiers Agricultures*, 18 (2/3): 148-156.
- Timmons, M.B., Ebeling, J.M., Wheaton, F.W., Summerfelt, S.T. and Vinci, B.J. (2002). *Recirculating aquaculture systems*. Cayuga Aqua Ventures.
- Wheaton, F., Hochheimer, J. and Kaiser, G.E. (1991). Fixed film nitrification filters for aquaculture. In: *Aquaculture and Water Quality. Advances in World Aquaculture*, vol. 3 (eds D.E. Brune, Thomasso, J.R.). World Aquaculture Society.

- Worthman, B. D. (1990). Effect of Temperature on Biodrum Nitrification. University of Maryland at College Park.
- Zhang, T.C. and Bishop, P.L. (1994). Experimental determination of the dissolved oxygen boundary layer and mass transfer resistance near the fluid-biofilm interface. *Water. Sci. Technol.* 30 (11), 47–58.
- Zhu, S., and Chen, S. (1999). An experimental study on nitrification biofilm performances using a series reactor system. *Aquacult. Eng.* 20 (4), 245–259.
- Zhu, S. and Chen, S. (2001). Effects of organic carbon on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquacultural Engineering* 25(1), 1–11.