

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Acuicultura**

**Elaboración y determinación de la eficiencia de dos filtros
biológicos evaluados en un cultivo de camarón blanco
(*Litopenaeus vannamei*) en sistemas de recirculación acuícola**

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

Presenta:

Gabriel Sebastián Vaca Núñez

Ensenada, Baja California, México
2016

Tesis defendida por

Gabriel Sebastián Vaca Núñez

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes

Director de tesis

Dra. Mónica Hernández Rodríguez

Dr. Miguel Ángel del Río Portilla

Dra. María Tereza Cavazos Pérez



Dr. Benjamín Barón Sevilla

Coordinador del Posgrado en Acuicultura

Dra. Rufina Hernández Martínez

Directora de Estudios de Posgrado

Gabriel Sebastián Vaca Núñez © 2016

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis.

Resumen del anteproyecto de tesis de **Gabriel Sebastián Vaca Núñez**, presentado como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

Elaboración y determinación de la eficiencia de dos filtros biológicos evaluados en un cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en sistemas de recirculación acuícola

Resumen aprobado por:

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes
Director de Tesis

El crecimiento acuícola ha sido influenciado por algunos factores, entre los que destaca el desarrollo de sistemas de cultivo intensivos, como los sistemas de recirculación acuícolas (SRA). En el presente estudio se elaboró y determinó la eficiencia (remoción de nitrógeno amoniacal total o NAT) de dos filtros biológicos (FLC: filtro de lavado continuo y FLD: filtro de lavado discontinuo) en un cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) en un SRA. Se realizó tres tipos de experimentos químicos a partir de la adición de NH_4Cl y NaNO_2 para madurar los filtros. En los tres experimentos no se evidenció la maduración química a totalidad de las unidades experimentales. En el tercer experimento químico se determinó la tasa de remoción volumétrica de NAT (VTR), misma que no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos (FLC: $287.26 \pm 81.62 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{día}$, y FLD: $276.30 \pm 20.86 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{día}$). Posteriormente se realizó un bioensayo de cultivo de camarón blanco durante 62 días. Se obtuvo una ganancia en peso por organismo de $6.69 \pm 0.65 \text{ g}$ en las unidades experimentales (UE) de los SRA con FLC, y de $7.39 \pm 0.037 \text{ g}$ en UE de los SRA con FLD, con una supervivencia mayor a 90% en cada tratamiento. No se reportan diferencias en el crecimiento de los organismos entre los dos tratamientos ($p > 0.05$). La maduración total en las UE de los SRA con el FLC y con el FLD tardó 78 días.

Palabras clave: **Calidad del agua, maduración química, nitrificación, y sistemas intensivos.**

Abstract of the thesis presented by **Gabriel Sebastián Vaca Núñez**, as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture.

Determination of efficiency of two biological filters evaluated in a culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in recirculating aquaculture systems

Abstract approved by:

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes
Director de Tesis

The aquaculture growth has been influenced by several factors, among them the development of intensive farming systems, such as recirculating aquaculture systems (RAS). In the present study, It was determined the efficiency (removal of total ammonia nitrogen or TAN) of two experimental biofilters (FLC: continuous washing filter, and FLD: batch washing filter) in a culture of white shrimp (*L. vannamei*) in RAS. The three chemical experiments were performed to mature filters with addition of NH_4Cl and NaNO_2 . In the three chemical experiments were not obtained the totally mature of the experimental bio filters. In the third chemical experiment the volumetric removal rate of NAT (VTR) was determined, and didn't found significant differences ($p > 0.05$) between treatments (FLC: $287.26 \pm 81.62 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{day}$, y FLD: $276.30 \pm 20.86 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{day}$). Subsequently, a white shrimp culture bioassay was held for 62 days. It was obtained a weight gain per shrimp of $6.69 \pm 0.65 \text{ g}$ in experimental units (EU) of the SRA with FLC, and $7.39 \pm 0.37 \text{ g}$ in EU-SRA FLD. A 90% of shrimp survival was performed in all treatments and filters. No difference in the growth of organisms between the two treatments ($p > 0.05$) was found. The full maturation in the EU-SRA with FLC and FLD took 78 days.

Keywords: **Chemical maturation, intensive systems, nitrification and water quality.**

Dedicatoria

A mi Madre y hermana: Favi y Monse, por ser esa fuente de inspiración y por apoyarme sin importar el tiempo y los kilómetros de distancia.

A mi familia, por ser el eje a lo largo de mi vida.

Y a mis 4 ángeles

Agradecimientos

A mi director de tesis, Dr. Juan Gabriel Correa Reyes, por sus enseñanzas, paciencia y apoyo brindado a lo largo de todo este episodio investigativo, y por dar un ejemplo de que se puede hacer ciencia con una visión diferente.

A mi comité de tesis:

Dra. Mónica Hernández, por su ayuda y colaboración para el desarrollo de este proyecto.

Dr. Miguel Ángel del Río, por todo el aporte de sus conocimientos compartidos en esta investigación.

Dra. Tereza Cavazos, por su disponibilidad de tiempo y aporte a la contribución de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por asignarme una beca y así poder llevar a cabo los estudios de maestría.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y al departamento del posgrado de Ciencias en Acuicultura, por darme la oportunidad de realizar la maestría.

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) por facilitarme sus instalaciones para poder realizar la parte experimental y analítica de mi proyecto de tesis.

A los investigadores y docentes del departamento de Acuicultura y de Ciencias de la Vida, por contribuir con sus conocimientos durante mi formación académica.

A los doctores: Mónica Hernández, María Teresa Viana, Elizabeth Ponce, Edna Sánchez, Leopoldo Mendoza, Benjamín Barón, Ron Malone y Sergio Curiel Ramirez, por su aporte y asistencia durante la parte analítica de este experimento.

A mi novia, Martha-Lu, por apoyarme incondicionalmente, por enseñarme una perspectiva de vida diferente, y por ser mi compañera de aventura a lo largo de estos dos últimos años, que serán los primeros de muchos más.

A mis compañeros de maestría, laboratorio y de vida de estos dos últimos años: Paúl, Cesar, Benito, Marcos, Fernando, Eloy, Abelardo, José Antonio, Aimé, Elisa, Ceres, Steph, Claudia, así como toda la familia Shaolín, Pelicarrones y Meza F.C., por compartir su tiempo, consejos y valiosa amistad.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	x
Lista de tablas.....	xiii
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes	4
1.1.1 Filtros biológicos en SRA	4
1.1.1.1 Sustratos para la filtración biológica en SRA.....	6
1.1.1.2 Nitrificación y remoción de sólidos	7
1.1.2 Cultivo de <i>Litopenaeus vannamei</i> en SRA	8
Capítulo 2. Justificación	10
Capítulo 3. Hipótesis.....	11
Capítulo 4. Objetivos	12
4.1 Objetivo General	12
4.1.1 Objetivos particulares	12
Capítulo 5. Materiales y Métodos	13
5.1 Unidades experimentales del sistema de recirculación acuícola (SRA)	13
5.1.1 Tanque de cultivo	14
5.1.2 Hidrociclón	15
5.1.3 Bombeo con aire	17
5.1.4 Filtración biológica	19
5.1.4.1 Filtro de lavado continuo	19
5.1.4.2 Filtro de lavado discontinuo.....	20

5.1.5 Tuberías y accesorios	21
5.1.6 Mantenimiento de las unidades experimentales de SRA	22
5.2 Análisis de compuestos nitrogenados (NAT, N-NO ₂ ⁻ y N-NO ₃ ⁻)	22
5.2.1 Análisis de NAT	22
5.2.2 Análisis de N-NO ₂ ⁻	23
5.2.3 Análisis de N-NO ₃ ⁻	24
5.3 Determinación de parámetros fisicoquímicos	25
5.4 Experimentos de maduración química	27
5.4.1 Experimento A	27
5.4.2 Experimento B	28
5.4.3 Experimento C	28
5.4.3.1 Dimensionamiento de la tasa volumétrica de remoción de NAT	28
5.5 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (<i>L. vannamei</i>)	29
5.5.1 Mantenimiento de organismos	29
5.5.2 Parámetros de crecimiento	30
5.6 Análisis estadístico	31
5.6.1 Unidades experimentales de SRA	31
5.6.2 Experimentos de maduración química	31
5.6.3 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (<i>L. vannamei</i>)	32
Capítulo 6. Resultados	33
6.1 Unidades experimentales de SRA	33
6.2 Análisis de compuestos nitrogenados (NAT, N-NO ₂ ⁻ y N-NO ₃ ⁻)	34
6.2.1 Análisis de NAT	34
6.2.2 Análisis de N-NO ₂ ⁻	35
6.2.3 Análisis de N-NO ₃ ⁻	36
6.3 Experimentos de maduración química	37
6.3.1 Experimento A	37
6.3.2 Experimento B	39
6.3.3 Experimento C	42
6.4 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (<i>L. vannamei</i>)	44

Capítulo 7. Discusión	50
7.1 Unidades experimentales de SRA	50
7.2 Experimentos de maduración química	51
7.2.1 Experimento A.....	51
7.2.2 Experimento B.....	52
7.2.3 Experimento C.....	53
7.3 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (<i>L. vannamei</i>).....	54
Capítulo 8. Conclusiones	56
Capítulo 9. Recomendaciones	57
Literatura citada	58

Lista de figuras

- Figura 1.** Esquema de un SRA: (A) tanque de cultivo, (B) tanque de sedimentación, (C) filtro biológico, (D) columna desgasificadora, (E) aireación/oxigenación y (F) bomba centrífuga (modificado de Losordo *et al.*, 1992; Malone, 1999)..... 2
- Figura 2.** Concentración de NAT (N-NH_3 y N-NH_4^+), N-NO_2^- y N-NO_3^- durante el proceso típico de crecimiento bacteriano en la nitrificación de un filtro biológico (tomado de Lekang, 2007)..... 3
- Figura 3.** Esquema de las unidades experimentales de SRA A y B, así como las partes que lo componen: (1) Tanque de cultivo, (2) calentador, (3) sistema de bombeo con aire, (4) hidrociclón, (5a) filtro de lavado discontinuo, (5b) filtro de lavado continuo..... 13
- Figura 4.** Disposición física de los tanques de cultivo para los tratamientos experimentales dentro del invernadero del IIO-UABC, en donde los SRA 1, 3 y 5 presentan un filtro de lavado continuo y los SRA 2, 4 y 6 tuvieron un filtro de lavado discontinuo. 14
- Figura 5.** Diagrama del tanque de cultivo en donde se señalan las partes que lo conforman: (1) Tubo de PVC de 0.038 m de diámetro y de 0.250 m de longitud; (2) tanque plástico de forma oval con conicidad hacia el fondo plano de 1.200 m de largo superior, 1.040 m de largo inferior, 0.450 m de alto y 0.750 m de ancho; y (3) adaptador de tanque de polietileno de 0.038 m de diámetro de salida..... 15
- Figura 6.** Diagrama del hidrociclón con sus partes principales: (1) tapa de acrílico de 0.270 m de diámetro unida a una te y un tapón macho de PVC; (2) recipiente plástico cilíndrico desfondado de color blanco de 0.270 m de diámetro y 0.440 m de alto; (3) salida de agua; (4) adaptador de tanque de PVC; (5) entrada de agua proveniente del tanque de cultivo; (6) drenaje de PVC de 0.025 m de diámetro y (7) embudo plástico de color blanco de 0.280 m de diámetro mayor, 0.025 m de diámetro menor y 0.130 m de altura..... 16
- Figura 7.** Diagrama de la tubería de PVC de 0.025 m de diámetro para elaborar el sistema de bombeo con aire. (1 y 3) son los respiradores; (2) altura de descarga; (4) salida de agua hacia el tanque de cultivo; (5) entrada de agua desde el filtro biológico; (6) sumergimiento; (7) entrada de aire para la línea de manguera de silicona de 0.006 m de diámetro. 18
- Figura 8.** Diagramas externo (A) e interno (B) del filtro de lavado continuo elaborado a partir de PVC. (1) tapa superior de PVC de 0.152 m de diámetro, (2 y 5) tubo malla plástico modificado; (3) tubería de salida del agua; (4) embudo de fibra de vidrio; (6) tubería de entrada del agua; (7) válvula de paso de PVC de 0.012 m de diámetro conectado a un flujómetro comercial; (8) conexión de tubería de CPVC (disparador); (9) drenaje..... 20

Figura 9.	Diagramas externo (A) e interno (B) del filtro de lavado discontinuo elaborado con PVC. (1) tapa superior de PVC de 0.152 m de diámetro; (2 y 5) tubo malla plástico modificado; (3) tubería de salida del agua; (4) tubería de entrada del aire; (6) tubería de entrada del agua; y (7) llave de tres vías de PVC de 0.025 m de diámetro.	21
Figura 10.	Concentraciones de nitrógeno amoniacal total (NAT) (0 a 1.64 mg/L) y valores promedio \pm error estándar de la absorbancia en la curva de calibración espectrofotométrica para la determinación de NAT, ajustados a un modelo de regresión lineal con un R^2 de 0.999 y una ecuación de regresión de $y = 0.4126x + 0.0878$	35
Figura 11.	Concentraciones de nitritos ($N-NO_2^-$) (0 a 0.608 mg/L) y valores promedio \pm error estándar de la absorbancia en la curva de calibración espectrofotométrica para la determinación de $N-NO_2^-$ ajustados a un modelo de regresión lineal con un R^2 de 0.997 y una ecuación de regresión de $y = 2.0796x - 0.0452$	36
Figura 12.	Concentraciones de nitratos ($N-NO_3^-$) (0 a 13 mg/L) y valores promedio \pm error estándar de la absorbancia en la curva de calibración espectrofotométrica para la determinación de $N-NO_3^-$, ajustados a un modelo de regresión lineal con un R^2 de 0.999 y una ecuación de regresión de $y = 0.0676x - 0.0488$	37
Figura 13.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) en las UE de los SRA con el FLC, durante el experimento A de maduración.	38
Figura 14.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) en las UE de los SRA con el FLD, durante el experimento A de maduración.	39
Figura 15.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) en las UE de los SRA con el FLC, durante el experimento B de maduración.	41
Figura 16.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) en las UE de los SRA con el FLD, durante el experimento B de maduración.	41
Figura 17.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) en las UE de los SRA con el FLC, durante el experimento C de maduración química.	43
Figura 18.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) en las UE de los SRA con el FLD, durante el experimento C de maduración química.	43

- Figura 19.** Valores de los pesos promedio y error estándar registrados a lo largo del bioensayo de cultivo de camarón blanco, ajustados a un modelo de regresión exponencial; los valores los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLC (azul) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 9.3714e^{0.0618x}$, y los valores de los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLD (rojo) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 9.4076e^{0.0671x}$45
- Figura 20.** Valores de los pesos promedio (transformados a ln) registrados a lo largo del bioensayo de cultivo de camarón blanco, ajustados a un modelo de regresión lineal; los valores de los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLC (cuadro azul) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 0.0671x + 2.2415$, y los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLD (diamante rojo) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 0.0618x + 2.2377$46
- Figura 21.** Concentración promedio y error estándar del nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) durante el bioensayo de cultivo de camarón en las UE de los SRA con el filtro de lavado continuo.48
- Figura 22.** Concentración promedio y error estándar del nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos ($N-NO_2^-$) y nitratos ($N-NO_3^-$) durante el bioensayo de cultivo de camarón en las UE de los SRA con el filtro de lavado discontinuo.....49

Lista de tablas

Tabla 1.	Tasas de asimilación total de NAT para filtros biológicos basadas en las tasas de conversión volumétrica de NAT de acuerdo al sustrato y su respectiva relación área/superficie (Modificado: Timmons y Ebeling 2010).	4
Tabla 2.	Valor promedio y error estándar de las tasas de flujo de agua (Q), de las tasas de flujo de aire (Qa), de los volúmenes de drenado (D) y tiempos de lavado de los filtros (TL) en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t - student. Nivel de significancia de $p < 0.05$	34
Tabla 3.	Valor promedio y error estándar de las tasas de flujo de agua (Q) y de las tasas de flujo de aire (Qa) medidas (M) y calculadas (C) en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$	34
Tabla 4.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO ₂ ⁻) y nitratos (N-NO ₃ ⁻), alcalinidad (ALK), oxígeno (O ₂), potencial del ion hidrógeno (pH), salinidad (ups) y temperatura (Temp) en las UE de los SRA con el FLC y el FLD durante el experimento A de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$	38
Tabla 5.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO ₂ ⁻) y nitratos (N-NO ₃ ⁻), alcalinidad (ALK), oxígeno (O ₂), potencial del ion hidrógeno (pH), salinidad (ups) y temperatura (Temp) en las UE de los SRA con el FLC y el FLD durante el experimento B de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student.. Nivel de significancia de $p < 0.05$	40
Tabla 6.	Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO ₂ ⁻) y nitratos (N-NO ₃ ⁻), alcalinidad (ALK), oxígeno (O ₂), potencial del ion hidrógeno (pH), salinidad (ups) y temperatura (Temp) en las UE de los SRA con el FLC y el FLD durante el experimento C de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$	42

Tabla 7.	Valores promedio y error estándar de la tasa volumétrica de remoción de NAT (VTR) en las UE de los SRA con FLC y con FLD durante el experimento C de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$	44
Tabla 8.	Valores promedio y error estándar de los pesos iniciales (PI), pesos finales (PF), ganancia en peso (GP), tasa de crecimiento específico (TCE), del factor de conversión alimenticia (FCA) y de la supervivencia (S) de los organismos durante el bioensayo de cultivo de camarón blanco en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student, y del valor de p de la prueba del Signo (P – S [p]). Nivel de significancia de $p < 0.05$	45
Tabla 9.	Análisis de covarianza del bioensayo de cultivo de camarón blanco entre las UE de los SRA con FLC y con FLD. Nivel de significancia de $p < 0.05$	46
Tabla 10.	Valores promedio y error estándar de las concentraciones de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO ₂ ⁻), nitratos (N-NO ₃ ⁻), alcalinidad (ALK), clorofila (Ca), oxígeno (O ₂), potencial del ion hidrógeno (pH), sólidos suspendidos totales (SST), salinidad (ups) y temperatura (Temp) durante el bioensayo de cultivo de camarón blanco en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student, y del valor de p de la prueba del Signo (P – S [p]). Nivel de significancia de $p < 0.05$	47

Capítulo 1. Introducción

La producción acuícola mundial ha presentado un crecimiento promedio anual del 6.2% (66.6 millones de toneladas) hasta el año 2012 (FAO, 2014). México produjo 108,535 T, sólo en sistemas acuícolas controlados (cultivos extensivos, semiintensivos e intensivos); de las cuales 60,292 toneladas corresponden a la acuicultura de camarón, con una tasa de crecimiento anual en la última década del 0.15% (de un total de 86,438 ha cultivadas, sólo 690 ha fueron en sistemas intensivos) (CONAPESCA 2013). Las características de estos cultivos en cuanto a parámetros fisicoquímicos fueron: unidades prácticas de salinidad de 0 - 50 (ups), pH de 7 - 8.7, temperaturas de 28 ± 2 °C, concentraciones de oxígeno disuelto entre 4 - 5 mg/L, alcalinidad > 70 mg/L, y concentraciones de 0.02 - 0.04 mg/L, 0.01 - 0.02 mg/L y 0.1 - 0.2 mg/L de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO_2^-) y nitratos (N-NO_3^-), respectivamente (Stickney, 2000).

El crecimiento acuícola ha sido influenciado por algunos factores, entre los que destaca el desarrollo de sistemas de cultivo intensivos con menor consumo y reuso del recurso hídrico. Los sistemas de recirculación acuícola (SRA) son técnicas de cultivo para una alta producción de biomasa (mayor número de organismos por unidad de volumen) en condiciones controladas (mano de obra calificada, estrategias alimenticias, unidades de tratamiento para el control y mantenimiento de la calidad del agua, entre otras) (Lekang, 2007). Los SRA desde el punto de vista operacional deben de estar conformados por cinco componentes principales que son: 1) circulación, 2) remoción de sólidos, 3) filtración biológica, 4) degasificación y 5) aireación/oxigenación (Libey y Timmons, 1998; Figura 1).

De los componentes en un SRA, la filtración biológica se destaca por contribuir a la calidad de agua de un cultivo. La filtración biológica es la operación unitaria que por acción bacteriana transforma el nitrógeno amoniacal total (metabolito nitrogenado producto de la excreción de los organismos acuícolas, tóxico a pH básico a partir de concentraciones de 0.08 mg/L - 2.2 mg/L y de acuerdo a la especie) a nitratos (N-NO_3^- , tóxico en concentraciones > a 1,000 mg/L de acuerdo a la especie), y posteriormente a nitrógeno molecular (N_2) mediante dos procesos: la nitrificación y la desnitrificación (Lekang, 2007).

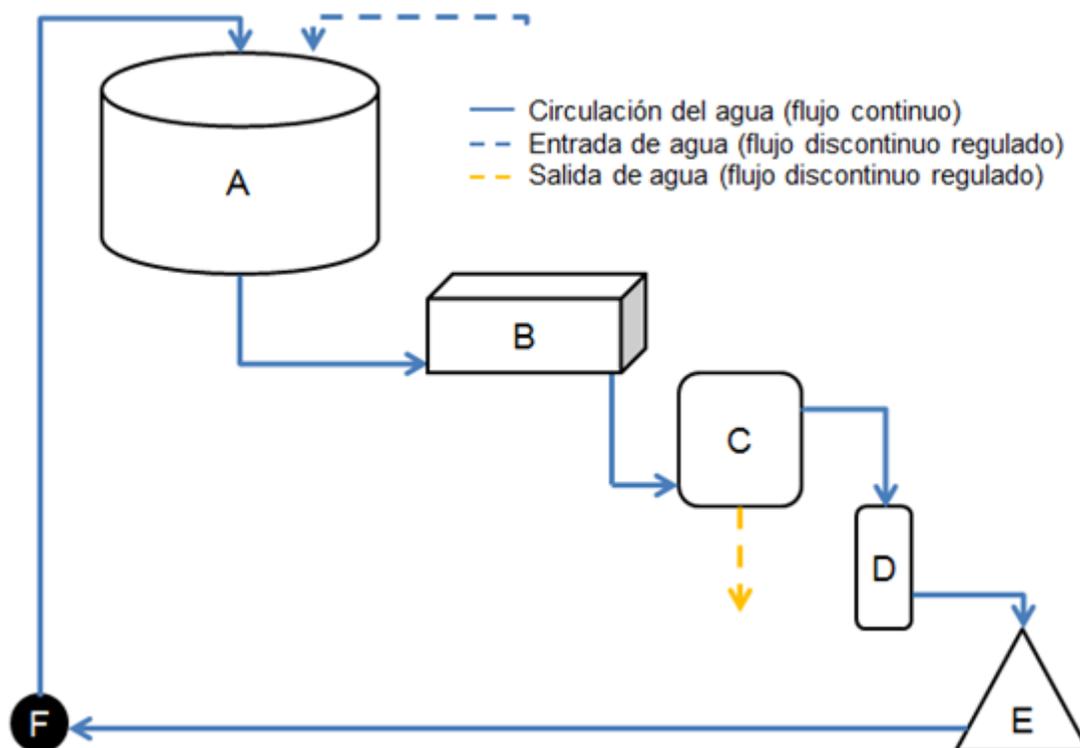


Figura 1. Esquema de un SRA: (A) tanque de cultivo, (B) tanque de sedimentación, (C) filtro biológico, (D) columna desgasificadora, (E) aireación/oxigenación y (F) bomba centrífuga (modificado de Losordo *et al.*, 1992; Malone, 1999).

La nitrificación se realiza en presencia del oxígeno y transforma el NAT (N-NH_3 y N-NH_4^+) a N-NO_3^- en dos etapas; (1) la nitrificación (NAT a N-NO_2^- [tóxico al mezclarse con altas concentraciones de compuestos clorados]) y (2) la nitrificación (N-NO_2^- a N-NO_3^-) por la acción de *Nitrosomonas* y de *Nitrobacter* (bacterias quimiosintéticas autotróficas) respectivamente, usando el dióxido de carbono (CO_2) y el bicarbonato (HCO_3^-) como fuente de crecimiento bacteriano (Libey y Timmons, 1998; Lekang, 2007; Molleda, 2008; Timmons y Ebeling, 2010).

La desnitrificación se realiza en ausencia del oxígeno, transforma los N-NO_3^- a N-NO_2^- y posteriormente los N-NO_2^- a N_2 por acción de bacterias autotróficas, heterotróficas y en menor cantidad de comunidades fúngicas. A pesar que la desnitrificación no es usada con frecuencia en la acuicultura comercial, tiene importancia en los cultivos acuícolas marinos (Lekang, 2007; Timmons y Ebeling, 2010).

Las tasas máximas de crecimiento bacteriano (biopelícula) en la nitrificación están reportadas de 1 vez/día y 5 veces/día en bacterias autótrofas y heterótrofas, respectivamente. Este proceso dependen de la concentración de algunos factores como: el NAT (2 mg/L - 3 mg/L), la alcalinidad (7.5 g de CaCO_3 / 1 g de NAT), el pH (entre 7 – 9), el oxígeno disuelto (> 2 mg/L), la salinidad (reduce el 60% de eficiencia con relación al agua dulce), la temperatura (14 – 27°C en condiciones óptimas de oxígeno), la luz (fototropismo negativo) y los compuestos orgánicos (la menor concentración de sólidos en forma particulada y disuelta para evitar la inhibición de la nitrificación) en un lapso de entre 20 a 40 días, tiempo en el que normalmente se tarda en estabilizar la nitrificación (Figura 2) (EPA, 1993; Blackburne *et al.*, 2007; Lekang, 2007; Timmons y Ebeling, 2010).

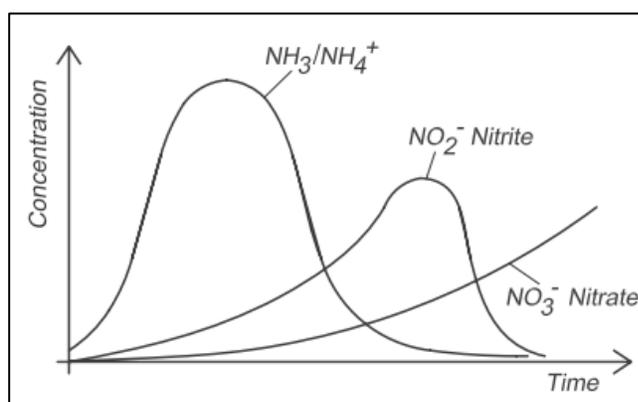


Figura 2. Concentración de NAT (N-NH_3 y N-NH_4^+), N-NO_2^- y N-NO_3^- durante el proceso típico de crecimiento bacteriano en la nitrificación de un filtro biológico (tomado de Lekang, 2007).

El crecimiento óptimo de la biopelícula es promovido a partir de un sustrato artificial, el cual varía en espacio intersticial y área de superficie por unidad de volumen (m^2/m^3) de acuerdo al tipo de sustrato (e.g. grava, arena, cuentas plásticas, medio “Kaldnes”, bio-barril), con una tasa de flujo de agua homogénea dentro del contenedor que lleva a cabo la filtración biológica. Existen filtros que cumplen este proceso en cultivos intensivos de SRA, siendo éstos principalmente de 2 tipos: A) Emergentes, cuando el sustrato no permanece inundado por la tasa de flujo de agua, como por ejemplo el filtro húmedo - seco y el filtro de tambor rotativo, y B) Sumergentes, cuando el sustrato permanece inundado por agua, en forma expandida, empacada o expandible (expandida y empacada aleatoriamente), como por ejemplo filtros de cama dinámica, filtros de lecho fluidizado, filtros de microcuentas y filtros de

cuentas plásticas, entre otros (Lekang, 2007; Timmons y Ebeling, 2010). En este contexto, Timmons y Ebeling (2010) establecieron algunas tasas de conversión volumétrica de NAT (VTR) basadas en la relación área/superficie del sustrato a la temperatura ambiente y de acuerdo al tipo de filtro, teniendo mayor eficiencia los filtros sumergentes de sustrato granular a temperatura de 25 a 30°C y removiendo de 1 a 1.5 kg/m³ de NAT (Tabla 1).

Tabla 1. Tasas de asimilación total de NAT para filtros biológicos basadas en las tasas de conversión volumétrica de NAT de acuerdo al sustrato y su respectiva relación área/superficie (Modificado: Timmons y Ebeling 2010).

Tipo de filtro	Remoción de NAT basado en:	Tasa de conversión de NAT (15° a 20°C)	Tasa de conversión de NAT (25°C-30°C)
Emergente (Filtro húmedo y de tambor rotativo)	Relación área/superficie	02 - 1.0 g/m ² •día	1.0 - 2.0 g/m ² •día
Sumergente (Filtro de cama dinámica, de lecho fluidizado, filtros de cuentas plásticas)	Volumen del sustrato	600 - 700 g/m ³ •día	1000 - 1500 g/m ³ •día

1.1 Antecedentes

1.1.1 Filtros biológicos en SRA

Rusten *et al.* (2006) realizaron una revisión del diseño y la operación de filtros de cama dinámica con medio “Kaldnes” en cultivos marinos y dulceacuícolas. En esta investigación se destacan las ventajas de este tipo de reactores, entre las que se puede mencionar una altura más pequeña de estos filtros relacionada con su capacidad de bombeo de agua, comparadas a la de otros reactores biológicos, así como la poca eliminación de aguas residuales acuícolas, resultante de una filtración biológica, con base en la dinámica de control de la biopelícula mediante procesos aeróbicos (nitrificación) y anaeróbicos (desnitrificación).

Con respecto a los filtros biológicos aeróbicos, se destaca un grosor de la biopelícula no mayor a 100 µm, con el fin de permitir la difusión de nutrientes para llevar a cabo la nitrificación, la cual está relacionada con la cantidad de materia orgánica y las concentraciones de oxígeno, es decir, que a mayores

concentraciones de materia de orgánica, se necesitará mayor cantidad de oxígeno, que dará como resultado una tasa de remoción de NAT más alta.

La desnitrificación en filtros de cama dinámica ha sido usada principalmente en tratamiento de aguas residuales, sin embargo, está limitada por las inadecuadas fuentes de carbono. Entre las principales fuentes de carbono que contribuyen a la desnitrificación se mencionan el etanol, el metanol y el glicol de monopropileno; de estas tres, la primera se destaca por establecer mejores tasas de remoción de N-NO_3^- y por sus altos costos. En lo que se refiere a los sustratos usados en este tipo de filtros, se enfatiza principalmente el uso del "Kaldnes K1", debido a la relación de área/volumen, la cual es de $350 \text{ m}^2/\text{m}^3$ y su densidad aparente de $150 \text{ kg}/\text{m}^3$.

Summerfelt (2006) realizó una investigación basada en el diseño y manejo de filtros de lecho fluidizado. EL autor menciona que la relación de costo/beneficio de los filtros de arena es mucho menor en comparación a otros filtros; por ejemplo, el costo de producción de 454,000 kg/año de tilapia en un SRA con filtro de lecho fluidizado es de 0.054 USD kg/año, con un filtro de rotación de tambor el costo de producción es de 0.31 USD kg/año. También es importante considerar los mecanismos de distribución del flujo de agua (enfocados en la poca pérdida y expansión del sustrato) el cual puede ser vertical, horizontal, de piso falso y de inyección tangencial; este último el más recomendado para fines acuícolas, con base en la expansión rotativa del sustrato y una presión en el ingreso de flujo de agua de entre 0.2 – 0.4 psi, muy por debajo con respecto a otros mecanismos de distribución del flujo de agua en este tipo de filtros.

Así mismo, Summerfelt (2006) describe los criterios de selección de la arena o sustrato, los cuales están en función del tamaño de la partícula (mm) clasificadas; el tamaño se clasifica a partir de $D_{10} - D_{90}$, siendo D_{10} las partículas de tamaño entre 0.1 – 1.0 mm, y D_{90} calculadas en función de D_{10} ($D_{90} = D_{10} \times 10^{1.67 \log(\text{UC})}$); otro criterio de selección es el coeficiente de uniformidad (UC, por sus siglas en inglés) del sustrato, el cual va de 1.3 - 1.8, considerando que el primer valor se refiere a partículas más homogéneas. Cabe recalcar que el tamaño de la partícula está en función del diseño de expansión del sustrato y de las velocidades de ingreso del flujo del agua, ya que se necesitan mayores velocidades para las partículas D_{90} y menores para las D_{10} . Para las tasas de remoción de NAT se definen valores de entre 0.6 a 1 mg/L, con tamaños de partículas de 0.23 mm – 0.80 mm. En lo que respecta al manejo, se aconseja un tratamiento de sólidos previo a la filtración biológica en estos contenedores.

Kumar *et al.* (2010) evaluaron la nitrificación en agua salobre (14 ups – 15 ups) en un SRA, integrado a un reactor biológico empacado, en un cultivo de *Penaeus monodon* durante 60 días. La maduración del reactor fue a partir de la inoculación de cepas de bacterias nitrificantes, recolectadas de muestras de agua marina de las cercanías del lugar donde se realizó la investigación, en otro estudio realizado por Kumar *et al.* (2009). Se realizó también un análisis de hibridación fluorescente *in situ*, determinando comunidades bacterianas como: *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus mobilis*, *Nitrobacter*, así como otras bacterias oxidantes de amonio. Los autores establecieron tasas de remoción de NAT de 153.3 g·NAT/m³·día *Nitrosomonas*, con concentraciones de NAT y N-NO₂⁻ menores a 2mg/L y 1mg/L en la mayoría de los días de cultivo. Al final del experimento se reportó una supervivencia de *P. monodon* mayor al 60% del total de la biomasa.

Uemoto *et al.* (2014) elaboran un filtro con la capacidad de realizar procesos de nitrificación y desnitrificación simultáneamente en un sistema de recirculación. En ese trabajo se utilizaron como sustrato cuentas porosas de vidrio (nitrificación) y una bolsa de tereftalato de polietileno (desnitrificación). La maduración del filtro se dio a partir de la inoculación de tres cepas bacterianas: *Nitrosomonas europaea*, *Nitrobacter winogradskyi* y *Paracoccus pantotrophus*, siendo las dos primeras usadas para la nitrificación y la última para la desnitrificación. Los resultados establecen que los procesos de nitrificación y desnitrificación no se vieron afectados durante los 90 días del experimento con concentraciones de amoniaco, nitritos, nitratos y nitrógeno de 0.1 mg-N/L, < 0.01 mg-N/L, 3 mg-N/L y 266 mg-N/día, respectivamente.

1.1.1.1 Sustratos para la filtración biológica en SRA

Ridha y Cruz (2001) determinaron el efecto de dos sustratos (esferas plásticas de polipropileno y bloques de polietileno) sobre la calidad del agua y el rendimiento biológico en un cultivo de *Oreochromis niloticus* utilizando un sistema de recirculación simple. Después de 172 días de tiempo de cultivo no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los sustratos con respecto a la tasa de remoción de NAT ($9.3 \pm 4.3 - 8.9 \pm 3.88$ g N/m³/día). Los autores mencionan que el uso de las esferas plásticas de polipropileno fue el más adecuado debido a su bajo costo.

Harwanto *et al.* (2011) determinaron el rendimiento de tres sustratos (arena, microcuentas de poliestireno y el medio “Kaldnes”) para la filtración biológica en un SRA experimental de cultivo marino

de *Pagrus major*. Los medios con mayor remoción de compuestos nitrogenados fueron la arena (193.8 g NAT/ m³·día y 113.4 gN-NO₂⁻/m³·día) y las microcuentas de poliestireno (183.9 g NAT/ m³·día y 105.9 gN-NO₂⁻/m³·día), mientras que el medio “Kaldnes” fue significativamente menor ($p < 0.05$) respecto a los dos anteriores. En cambio, la remoción de sólidos, el medio Kaldnes presentó una eficiencia positiva, no así los medios como la arena y las microcuentas de poliestireno que tuvieron una eficiencia negativa. Al final del experimento, los autores concluyeron que se observó un crecimiento significativamente mayor ($p < 0.05$) en los organismos cultivados en los SRA con filtros que contenían como sustrato a la arena, y que en general, la arena y las microcuentas de poliestireno son los sustratos más recomendables para el cultivo de *Pagrus major* en estos SRA.

1.1.1.2 Nitrificación y remoción de sólidos

Sandu *et al.* (2002) realizaron un estudio durante 135 días para determinar la eficiencia de nitrificación de un filtro de lecho fluidizado con un medio de grano plástico con tres diámetros diferentes $D_1 = 12.7$ cm, $D_2 = 15.2$ cm y $D_3 = 17.8$ cm y bajo cuatro diferentes tasas de flujo, $T_1 = 6$ L/min, $T_2 = 8$ L/min, $T_3 = 10$ L/min y $T_4 = 12$ L/min. La tasa de remoción de NAT fue significativamente mayor en el filtro de diámetro D_3 , con un porcentaje de eficiencia de 62.8% con T_1 , y 18.3% con T_2 . De la misma manera, la tasa de remoción de N-NO₂⁻ fue mayor en el filtro con grano de plástico D_3 , con el mejor porcentaje de eficiencia (49.8%) con T_1 . En este estudio se determinó que el porcentaje de la eficiencia de remoción de NAT y N-NO₂⁻ en función del grosor de la biopelícula, mismo que fue mayor a altas concentraciones de NAT, y menor a mayores tasa de flujo.

Greiner y Timmons (1998) compararon la tasa de nitrificación de un filtro con microcuentas plásticas frente a la tasa de nitrificación de un filtro húmedo, en un cultivo intensivo dulceacuícola de tilapia en sistemas de recirculación. La relación de área/volumen del filtro con microcuentas plásticas fue de 3,946 m²/m³, mientras que la del filtro húmedo fue de 164 m²/m³. La mayor tasa volumétrica de remoción de NAT fue registrada en el filtro con microcuentas plásticas, que fue 3.2 mayor que la del filtro húmedo.

Lekang y Kleppe (2000) determinaron la eficiencia de la nitrificación de filtros húmedos con tres diferentes sustratos de “leca” (arilita ligera, por sus siglas en inglés) y con tres diferentes sustratos plásticos (“Kaldnes”, “Norton” y césped artificial). Los resultados mostraron un 100% de la nitrificación a lo largo de las columnas de filtro húmedo con sustrato “leca” y un 80% en las columnas con sustrato Kaldnes. La estabilización de la nitrificación en los filtros con “leca” y césped artificial tomó un período de

7 a 8 semanas, mientras que para los otros sustratos no se registró estabilización luego de 140 días de experimentación.

Sastry *et al.* (1999) establecieron el rendimiento de nitrificación y de remoción de sólidos de un filtro de lavado de burbuja en un SRA para un cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en agua dulce, con tres tasas de alimentación (0.45 kg/día, 0.68 kg/día y 0.90 kg/día) y diferentes modos de operación de lavado. Los autores concluyeron que el mejor rendimiento del filtro fue con 3 - 5 lavados por día, con una tasa de alimentación de 0.90 kg/día y con tasas de remoción de entre 380 g NAT/día·m³ y 518 g N-NO₂/día·m³.

En un cultivo de peces en agua dulce con biomasa total de 142 kg y a temperaturas altas, el rendimiento de nitrificación y la remoción de sólidos de un filtro de lavado de propela en un sistema de recirculación, se estimó una tasa volumétrica de remoción de NAT (VTR) de 127 g NAT/m³·día y un porcentaje de remoción de sólidos suspendidos totales de 37% - 60% por cada evento de lavado del filtro (Pfeiffer y Malone, 2006).

Brazil (2006) estableció el rendimiento y el modo de operación de un filtro de rotación de tambor comercial en un sistema de recirculación acuícola con tilapia. Durante el experimento el filtro tuvo una tasa de remoción de 0.42 g de NAT/m²·día. La eficiencia de remoción de NAT disminuyó en un 50% por la relación de Carbono:Nitrógeno, la cual fue de 4.5 a 1. Finalmente se comprobó que el filtro contribuyó a la remoción de CO₂ (32%-37%), de manera similar a una columna de desgasificación.

1.1.2 Cultivo de *Litopenaeus vannamei* en SRA

Mishra *et al.* (2008) compararon el rendimiento de un cultivo intensivo de post – larvas (PL) de *L. vannamei* en sistemas de corriente rápida (raceways) equipados con filtros presurizados de arena y fraccionadores de espuma, y sin ellos. Esta investigación fue evaluada a partir de la calidad de agua y el crecimiento del organismo durante 71 días, con una densidad de siembra de 4050 PL / m³. Los cultivos en “raceway” con filtros presurizados de arena y fraccionadores de espuma dieron los mejores resultados en cuanto al peso promedio final por organismo (1.91 – 2.0 g), supervivencia (92.4 – 100%), factor de conversión alimenticia (FCR) (0.97 – 1.06), y rendimiento del cultivo (6.89 – 7.64 kg/m³), comparado con los sistemas “raceways” que no estaban equipados con los filtros y fraccionadores. Además se realizaron análisis de muestras histológicas en los organismos de ambos experimentos, y con estos resultados se estimó que los organismos cultivados con altas tasas de recambio de agua son más

propensos a estar infectados con bacterias intestinales, que aquellos que estuvieron cultivados en “raceways” equipados con filtros y fraccionadores. Así mismo las concentraciones de N-NO_2^- fueron significativamente menores en los “raceways” con filtros y fraccionadores en relación al otro tratamiento. En esta investigación se demostró la posibilidad de producir larvas de *Litopenaeus vannamei* de buena calidad (buen crecimiento, supervivencia alta, un bajo FCR, y buenos rendimientos de cultivo) con limitadas tasas de recambio de agua operadas con filtros presurizados de arena y fraccionadores de espuma.

En el estudio realizado por Otoshi *et al.* (2003) con *L. vannamei*, se evaluó el crecimiento y el rendimiento reproductivo del camarón blanco cultivado en un SRA comparado con un cultivo en un sistema de flujo abierto. En los experimentos usaron organismos de 20 g hasta alcanzar pesos promedio de 40 - 60 g. Los resultados indicaron que el crecimiento del organismo fue mayor en los sistemas de flujo abierto con intervalos de 1.07 - 1.78 g/semana, mientras que en los SRA los organismos tuvieron un crecimiento de 0.83 - 1.53 g/semana. Los autores mencionan que la diferencia en el crecimiento de los organismos cultivados en los sistemas de flujo abierto, puede atribuirse a la producción primaria que contribuyó como alimentación suplementaria en la dieta del organismo. Sin embargo, al compararse los valores del rendimiento reproductivo (desove y viabilidad de nauplios) de *L. vannamei* en SRA con datos de cultivo en sistemas de flujo abierto, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$). Estos resultados indicaron que el rendimiento reproductivo de *L. vannamei* en un SRA puede llevarse a cabo con un buen crecimiento y alta supervivencia.

De acuerdo a las investigaciones anteriormente mencionadas, la calidad del agua en un SRA depende en gran parte de la eficiencia del filtro biológico (tasa de remoción de NAT) al transformar los compuestos tóxicos a no tóxicos (Timmons *et al.*, 2006). Gutierrez-Wing y Malone (2006) mencionan que los SRA adicionalmente contribuyen a la reducción de patógenos, debido a la facilidad de adecuar instalaciones independientes, con bajas tasas de recambio por día, para cada una de las etapas de producción acuícola desde reproductores hasta la etapa de engorda.

Capítulo 2. Justificación

En este ámbito, los SRA se han planteado como una alternativa para el cultivo intensivo de especies de interés comercial. Estos sistemas se fundamentan en la reutilización y acondicionamiento de agua (consumo del recurso hídrico igual o menor al 10 % del volumen total del sistema acuícola), a partir del proceso de filtración biológica, la cual permite que haya una concentración adecuada de compuestos nitrogenados. Sin embargo, los componentes que hacen parte del proceso de filtración biológica, disponibles en el mercado, normalmente tienen un elevado costo de adquisición, haciendo poco rentable la producción a gran escala, situación que limita la implementación de este tipo de sistemas de cultivo. Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente estudio se propone la elaboración y determinación de la eficiencia de dos filtros biológicos, uno de lavado continuo y otro de lavado discontinuo, a partir de materiales de bajo costo, para su aplicación en SRA. Además, se plantea medir la eficiencia de los filtros por medio del cultivo de una especie de interés, como el camarón blanco (*L. vannamei*), buscando aportar conocimiento sobre su crecimiento en este tipo de sistemas.

Capítulo 3. Hipótesis

1. La eficiencia de la remoción de NAT (VTR) y el crecimiento del camarón blanco en las unidades experimentales de SRA con filtros de lavado continuo son mayores con respecto a las unidades experimentales de SRA con filtros de lavado discontinuo.

Capítulo 4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Elaborar y determinar la eficiencia (remoción de NAT) de dos filtros biológicos en un cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) en sistemas de recirculación acuícola.

4.1.1 Objetivos particulares

1. Diseñar y elaborar los filtros biológicos de lavado continuo y discontinuo de los SRA.
2. Establecer el tiempo de la maduración química de los dos filtros biológicos.
3. Evaluar el efecto de la concentración de nutrientes nitrogenados y parámetros fisicoquímicos con la remoción de NAT de los filtros biológicos.
4. Determinar la eficiencia de remoción de NAT y sólidos suspendidos totales de los filtros biológicos a partir de un bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*).

Capítulo 5. Materiales y Métodos

5.1 Unidades experimentales del sistema de recirculación acuícola (SRA)

Este experimento se llevó a cabo en el invernadero del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California – Campus Ensenada. Se construyó y empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con dos unidades experimentales (UE) de SRA (A y B, con 3 repeticiones cada una; Figuras 3 y 4) conformadas en general por un tanque de cultivo, un hidrociclón, un sistema de bombeo con aire, una piedra difusora (modelo AS5L, Pentair Aquatic Eco-systems Sweetwater®) de 0.08 m de largo y 0.025 m de ancho y un calentador digital de 300 vatios (Finex®); estos dos sistemas se diferenciaron por los componentes de filtración biológica: (a) un filtro de lavado discontinuo y (b) un filtro de lavado continuo.

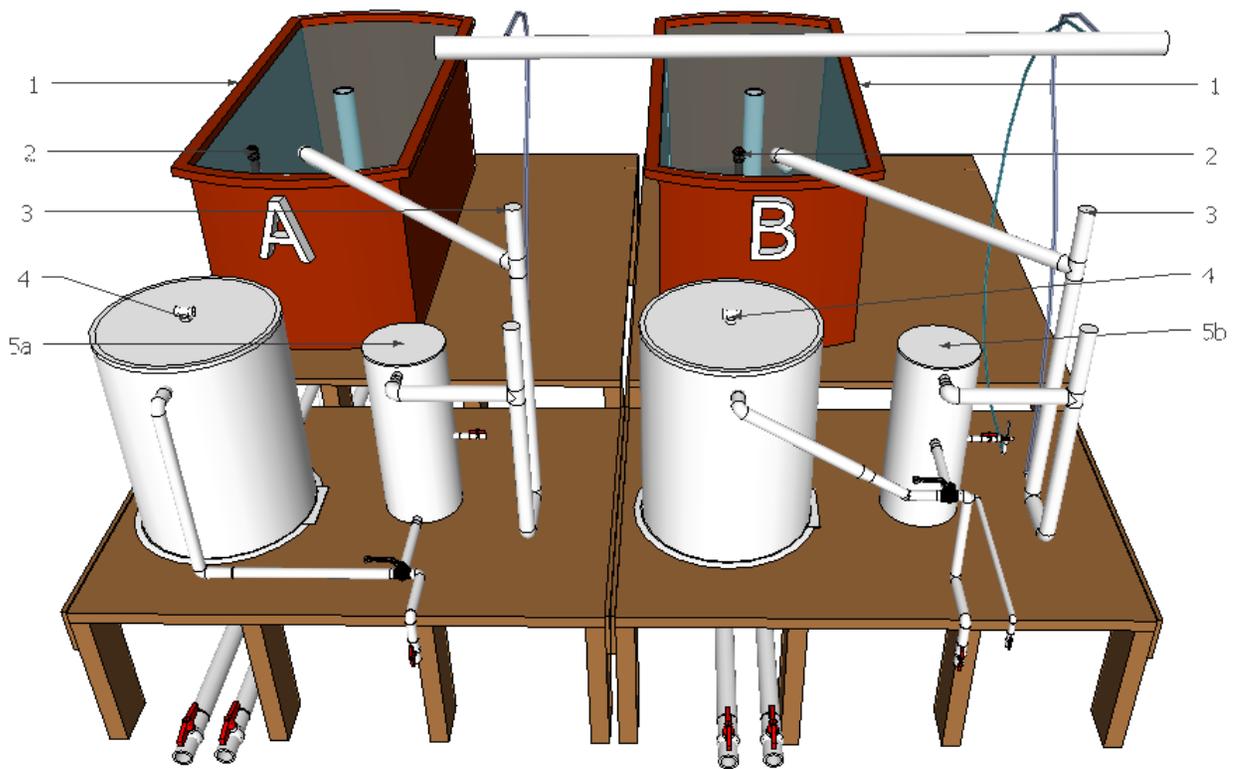


Figura 3. Esquema de las unidades experimentales de SRA A y B, así como las partes que lo componen: (1) Tanque de cultivo, (2) calentador, (3) sistema de bombeo con aire, (4) hidrociclón, (5a) filtro de lavado discontinuo, (5b) filtro de lavado continuo.



Figura 4. Disposición física de los tanques de cultivo para los tratamientos experimentales dentro del invernadero del IIO-UABC, en donde los SRA 1, 3 y 5 presentan un filtro de lavado continuo y los SRA 2, 4 y 6 tuvieron un filtro de lavado discontinuo.

5.1.1 Tanque de cultivo

Se utilizaron tanques plásticos de forma oval con conicidad hacia el fondo plano de 1.200 m de largo superior y 1.040 m de largo inferior, 0.450 m de alto y 0.750 m de ancho. Al centro del tanque se colocó un adaptador para tanque de polietileno de 0.038 m de diámetro de salida y drenaje. Al adaptador de tanque se le colocó un tubo de PVC (policloruro de vinilo), de 0.038 m de diámetro y de 0.250 m de longitud. Este tubo tenía 8 orificios horizontales (0.004 m x 0.050 m cada uno) dispuestos a lo largo del tubo (3% con relación al diámetro total de la unidad de cultivo) conectado por medio de un adaptador de tanque, según recomendaciones de Timmons *et al.* (1998), Rakocy *et al.* (2006) y Loo *et al.* (2013) (Figura 5). El volumen operación del tanque fue de 250 L aproximadamente.

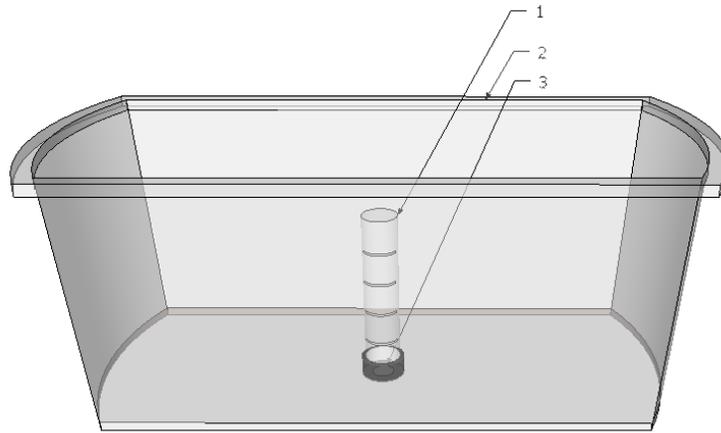


Figura 5. Diagrama del tanque de cultivo en donde se señalan las partes que lo conforman: (1) Tubo de PVC de 0.038 m de diámetro y de 0.250 m de longitud; (2) tanque plástico de forma oval con conicidad hacia el fondo plano de 1.200 m de largo superior, 1.040 m de largo inferior, 0.450 m de alto y 0.750 m de ancho; y (3) adaptador de tanque de polietileno de 0.038 m de diámetro de salida.

5.1.2 Hidrociclón

El hidrociclón fue construido con un recipiente plástico cilíndrico desfondado de color blanco, con 0.270 m de diámetro y 0.440 m de alto, ensamblado a un embudo plástico de color blanco, con 0.280 m de diámetro mayor, 0.025 m de diámetro menor, y con 0.130 m de altura con pegamento epóxico comercial (modelo Splash Zone, Carboline®). En el recipiente se hicieron 2 orificios, los cuales fueron de 0.025 m (1") de diámetro para la entrada del agua proveniente del tanque, posicionado a 0.050 m arriba de la base del recipiente plástico y salida de agua a 0.390 m arriba de la base del recipiente plástico. El agua dentro del hidrociclón giraba de forma tangencial a partir de los codos de PVC de 90° y de 0.025 m (1") de diámetro conectados a adaptadores de tanque de PVC de la misma medida. En el embudo plástico se elaboró un drenaje de 0.025 m (1") de diámetro de tubería de PVC.

El hidrociclón fue complementado con una tapa elaborada a partir de una placa de acrílico de 0.270 m de diámetro y dos accesorios de PVC [una te y un tapón macho de 0.012 m (½") de diámetro] (Figura 6). La tasa de rebose (V_o) fue calculada en función de la velocidad de sedimentación (V_s) de 0.010 m/s (es decir $V_o < V_s$) de acuerdo a algunos autores (Lekang, 2007; Timmons y Ebeling, 2010), y determinada a partir de:

$$V_o = \frac{Q}{A} \quad (1)$$

Donde,

V_o : Tasa de rebose (m/s)

Q : Tasa de flujo del agua (m³/s)

A : Área transversal (m²)

También se calculó el área transversal como:

$$A = \pi * r^2 \quad (2)$$

Donde,

A = Área transversal

r^2 : radio (m)

π : 3.1416

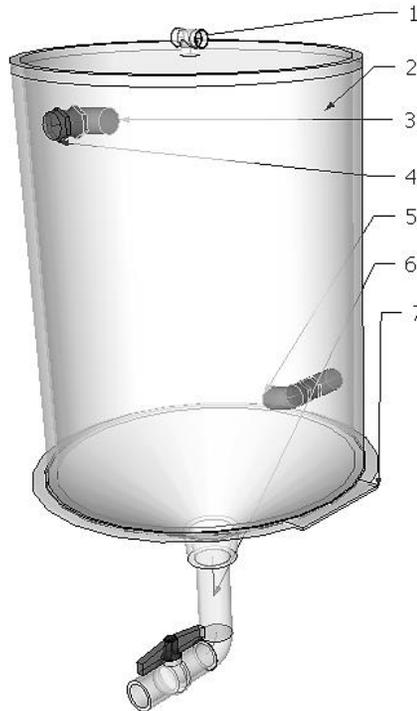


Figura 6. Diagrama del hidrociclón con sus partes principales: (1) tapa de acrílico de 0.270 m de diámetro unida a una te y un tapón macho de PVC; (2) recipiente plástico cilíndrico desfondado de color blanco de 0.270 m de diámetro y 0.440 m de alto; (3) salida de agua; (4) adaptador de tanque de PVC; (5) entrada de agua proveniente del tanque de cultivo; (6) drenaje de PVC de 0.025 m de diámetro y (7) embudo plástico de color blanco de 0.280 m de diámetro mayor, 0.025 m de diámetro menor y 0.130 m de altura.

5.1.3 Bombeo con aire

El sistema de bombeo con aire fue construido en forma de U a partir de 1.610 m de longitud de tubería de PVC de 0.025 m (1") de diámetro, con dos respiradores, con un sumergimiento (altura máxima de agua registrada en la tubería) de 0.450 m, y una altura de descarga (altura de bombeo del agua a partir de la altura de sumergimiento) de 0.110 m. El aire suministrado para el sistema de bombeo con aire provino de una línea de manguera de silicón de 0.006 m (¼") de diámetro, que a su vez estuvo conectada a una línea de tubería de PVC de 0.038 m de diámetro, conectada a un soplador de 2.5 HP (1864.25 W) modelo S-51, marca Sweetwater®. La determinación de la proporción de sumergimiento (P_s), la tasa de flujo de agua (Q) y la tasa de flujo de aire (Q_a), fue a partir de las ecuaciones propuestas por Castro *et al.* (1975), Reinemann y Timmons (1989) y Wurts *et al.* (1994) (Figura 7):

$$P_s = \frac{S}{S + hd} \quad (3)$$

Donde,

P_s : Proporción de sumergimiento

S : Sumergimiento

hd : Altura de descarga

Además, se calculó la tasa de flujo de agua y de aire con las siguientes fórmulas:

$$Q = \left[\left(0.758 * P_s^{\frac{3}{2}} \right) \left(hd^{\frac{1}{3}} \right) + 0.11961 \right] D^{2.2} \quad (4)$$

Donde,

Q : Tasa de flujo de agua (L/m)

P_s : Proporción de sumergimiento (m)

hd : Sumergimiento + altura de descarga (m)

D : Diámetro (m)

$$Q_a = \frac{Q}{k} \quad (5)$$

Donde,

Q_a = Tasa de flujo de aire (L/min)

Q = Tasa de flujo de agua del sistema (L/min)

k = Constante de relación entre la altura de descarga/diámetro de tubería y la proporción de sumergimiento

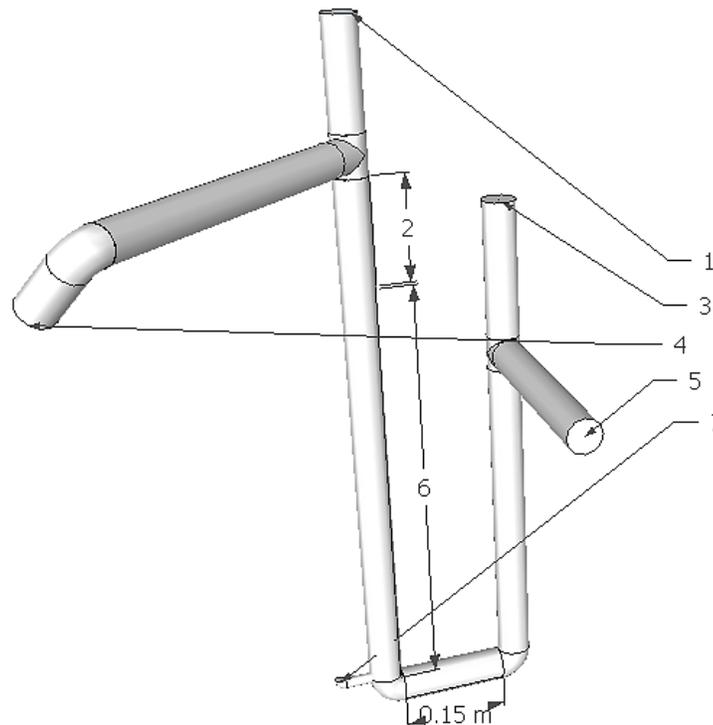


Figura 7. Diagrama de la tubería de PVC de 0.025 m de diámetro para elaborar el sistema de bombeo con aire. (1 y 3) son los respiradores; (2) altura de descarga; (4) salida de agua hacia el tanque de cultivo; (5) entrada de agua desde el filtro biológico; (6) sumergimiento; (7) entrada de aire para la línea de manguera de silicona de 0.006 m de diámetro.

Adicionalmente se midió manualmente la Q y la Q_a : la primera a partir de la colección de agua del cultivo en la salida de la tubería del bombeo con aire, en un recipiente de 500 mL, contabilizando el tiempo de llenado; y la segunda, por el desplazamiento de un volumen de agua marina contenido en un Erlenmeyer de 250 mL, mediante la inyección de aire con la línea de manguera de silicona de 0.006 m de diámetro, contabilizando el tiempo de desplazamiento del volumen anteriormente mencionado.

5.1.4 Filtración biológica

Los filtros biológicos tuvieron un volumen total de 6.2 litros, de los cuales una tercera parte estaba conformada por cuentas plásticas comerciales (Perma beads™ filtration media, Integrated Aqua Systems Inc.) que cumplieron la función de sustrato.

5.1.4.1 Filtro de lavado continuo

El filtro de lavado continuo (FLC) fue construido con tubería de PVC, de 0.152 m (6") de diámetro total y una altura total de 0.380 m. El FLC se dividió en 2 cavidades, una superior y otra inferior, a partir de un embudo construido de fibra de vidrio con 0.150 m de diámetro mayor, 0.050 m de diámetro menor y con 0.150 m de altura. Adicionalmente en el embudo de fibra de vidrio se insertó una conexión de tubería de CPVC (como disparador, en forma vertical) de 0.127 m (½") de diámetro y de 0.135 m de longitud. En la cavidad superior se elaboró un orificio roscado para la tubería de entrada del agua (posicionado a 0.228 m de altura de la base con un conector macho de PVC) de 0.038 m (1 ½") de diámetro y un orificio de salida roscado para la tubería de salida del agua (posicionado a 0.330 m de altura de la base con un conector macho de PVC) de 0.038 m (1 ½") de diámetro. La entrada y salida del flujo de agua pasaba por un tubo de malla plástica modificado (modelo RT144, Pentair Aquatic Eco-systems®) de 0.025 m (1") de diámetro y 0.165 m de longitud, el cual atravesaba el FLC internamente en forma horizontal, para evitar la salida de las cuentas plásticas.

En la cavidad inferior se construyó un orificio roscado para la tubería de la entrada del aire (posicionado a 0.145 m de altura de la base del FLC con un conector macho de PVC) de 0.012 m (½") de diámetro, donde el extremo externo (fuera del FLC) terminaba en una válvula de paso de PVC de las mismas dimensiones conectada a un flujómetro comercial serie FR 0 - 5 SCFH (pies cúbicos por hora en condiciones estándar, por sus siglas en inglés) marca Key Instruments®. El extremo interno (dentro del FLC) terminaba en un conector cedazo plástico modelo 270554, marca Pentair Aquatic Eco-systems®, de 0.012 m (½") de diámetro. Adicionalmente se elaboró un orificio roscado para la tubería de drenaje (posicionado a 0.038 m de altura de la base del FLC con un conector macho de PVC) de 0.012 m (½") de diámetro, donde el extremo externo (fuera del FLC) terminaba en una válvula de paso de PVC de las mismas dimensiones. Las tapas, inferior y superior del FLC fueron elaboradas con PVC de 0.152 m (6") de diámetro (Figura 8).

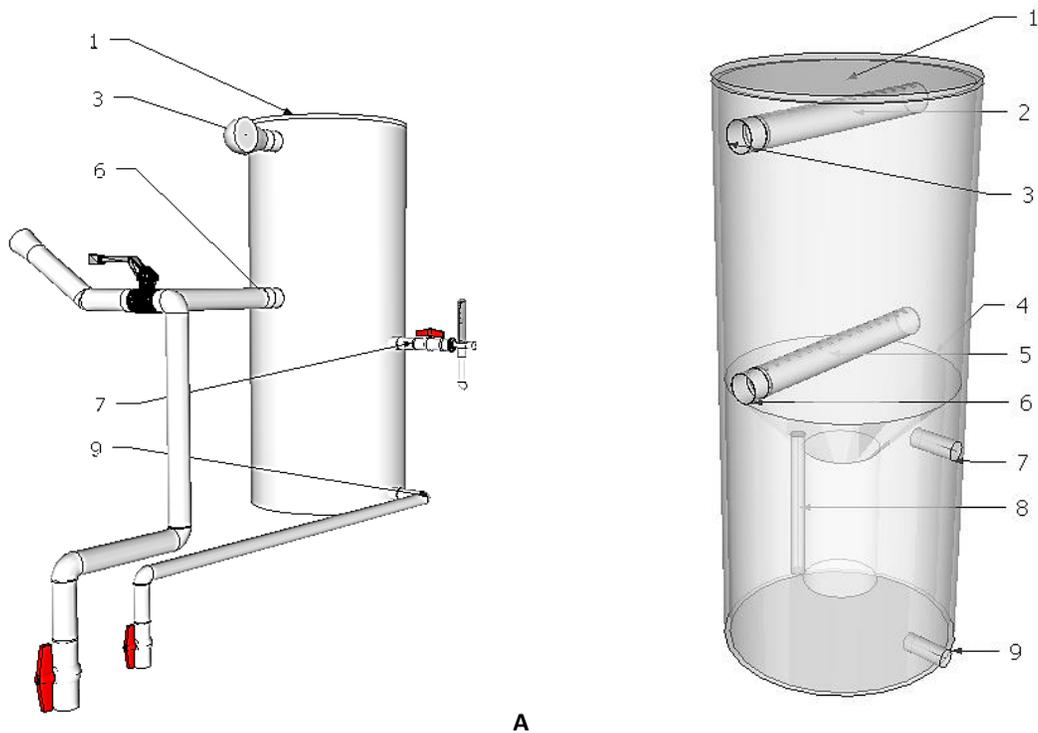


Figura 8. Diagramas externo (A) e interno (B) del filtro de lavado continuo elaborado a partir de PVC. (1) tapa superior de PVC de 0.152 m de diámetro, (2 y 5) tubo malla plástico modificado; (3) tubería de salida del agua; (4) embudo de fibra de vidrio; (6) tubería de entrada del agua; (7) válvula de paso de PVC de 0.012 m de diámetro conectado a un flujómetro comercial; (8) conexión de tubería de CPVC (disparador); (9) drenaje.

5.1.4.2 Filtro de lavado discontinuo

El filtro de lavado discontinuo (FLD) fue construido con tubería de PVC, de 0.152 m (6") diámetro total y una altura total de 0.380 m. Se elaboró un orificio roscado para la tubería de entrada del agua (posicionado a 0.050 m de altura de la base con un conector macho de PVC) de 0.038 m (1 ½") de diámetro que terminaba en una llave de tres vías de PVC de 0.025 m de diámetro; y un orificio de salida roscado para la tubería de salida del agua (posicionado a 0.33 m de altura de la base con un conector macho de PVC) de 0.038 m (1 ½") de diámetro. La tubería de entrada y salida para el agua fue por un tubo malla plástico modificado (agregando una tapa elaborada a partir de un pedazo de tubo de malla plástico y pegada con una pistola de calor), modelo RT144, marca Pentair Aquatic Eco-systems®, de 0.025 m (1") de diámetro y 0.165 m de longitud, el cual atravesaba el FLD internamente en forma horizontal. Se construyó un orificio roscado para la tubería de la entrada del aire (posicionado a 0.127 m de altura de la base del FLD con un conector macho de PVC de 0.012 m (½") de diámetro, donde el

extremo externo (fuera del FLD) terminaba en una válvula de paso de PVC de las mismas dimensiones y el extremo interno (dentro del FLD) terminaba en un conector cedazo plástico modelo 270554, marca Pentair Aquatic Eco-systems®, de 0.012 m (½") de diámetro. Las tapas, inferior y superior del FLD fueron elaboradas con PVC de 0.152 m (6") diámetro (Figura 9).

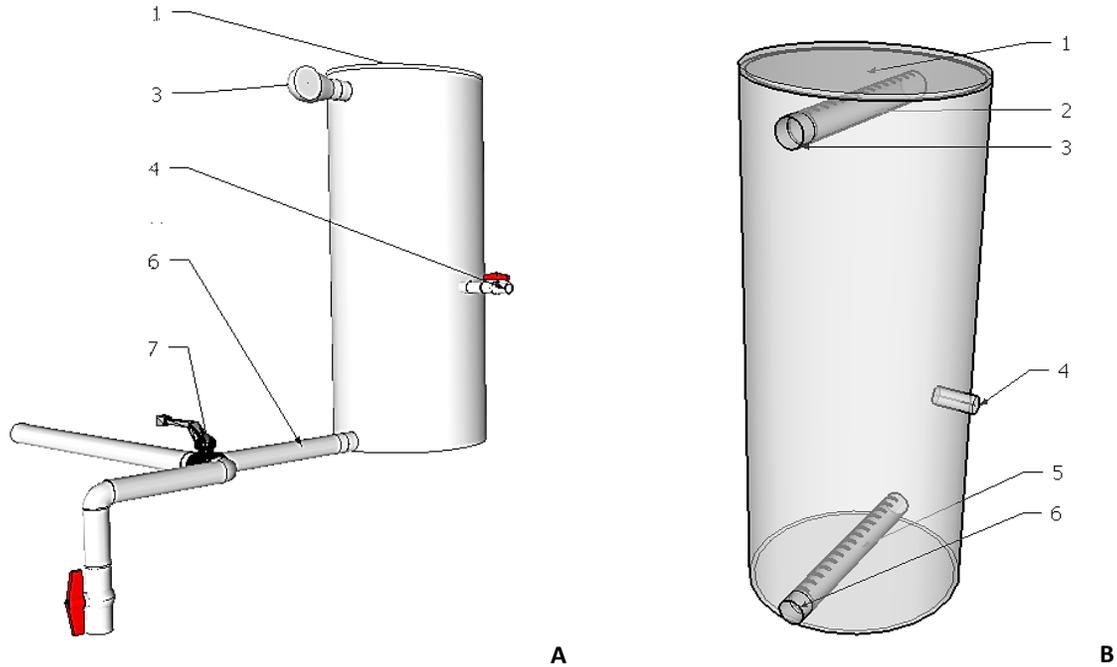


Figura 9. Diagramas externo (A) e interno (B) del filtro de lavado discontinuo elaborado con PVC. (1) tapa superior de PVC de 0.152 m de diámetro; (2 y 5) tubo malla plástico modificado; (3) tubería de salida del agua; (4) tubería de entrada del aire; (6) tubería de entrada del agua; y (7) llave de tres vías de PVC de 0.025 m de diámetro.

5.1.5 Tuberías y accesorios

Las tuberías y accesorios de PVC (cédula 40) de los componentes de cada unidad experimental del SRA fueron de 0.025 m (1") y 0.038 m (1 ½") de diámetro, con una longitud total de 3.78 m. En todas las uniones de tubería se usó teflón líquido comercial (modelo White Seal™ Plus, WELD-ON®), un preparador de superficie comercial (modelo P-70™ PRIMER, WELD-ON®) y pegamento para PVC comercial (modelo 704™ PVC, WELD-ON).

5.1.6 Mantenimiento de las unidades experimentales de SRA

El mantenimiento de las unidades experimentales de SRA consistió en realizar lavados diarios a cada uno de los filtros. Para el caso del filtro de lavado continuo se realizaron 2 lavados por día; esto se hizo por medio de la inyección de 2.5 SCFH (por sus siglas en inglés, pies cúbicos estandar por hora) de aire a través de una válvula lateral y regulando el flujo con un flujómetro comercial (Figura 8). Para el caso del filtro de lavado discontinuo, se realizó un lavado por día, por medio de la válvula de tres vías ubicada en la entrada del filtro (Figura 9). También, diariamente se drenaban 15 litros de los hidrociclones, realizando con esto un recambio menor al 10% del volumen total del sistema.

5.2 Análisis de compuestos nitrogenados (NAT, N-NO₂⁻ y N-NO₃⁻)

5.2.1 Análisis de NAT

Se analizaron las concentraciones de NAT a partir del método de indofenol (Dean, 1990; American Public Health Association *et al.*, 1995; Hernández-López y Vargas-Albores, 2003). Para lo cual se realizó una curva de calibración a partir de una solución principal de N de 820 mg/L, agregando 626.060 mg de NH₄Cl aforados en 200 mL de agua desionizada. Posteriormente se preparó una solución secundaria de N de 8.2 mg/L, en donde se agregaron 0.500 mL de la solución principal aforados en 50 mL de agua desionizada, calculada con:

$$C^1 \cdot V^1 = C^2 \cdot V^2 \quad (6)$$

Donde,

C₁ = concentración 1

V₁ = volumen 1

C₂ = concentración 2

V₂ = volumen 2

A partir de esta segunda solución se prepararon 10 diluciones por triplicado con las siguientes concentraciones de N: 0.008, 0.0164, 0.041, 0.082, 0.205, 0.410, 0.574, 0.820, 1.230 y 1.640 mg/L, calculadas con la ecuación (6). De cada dilución y repetición se tomó una alícuota de 200 µL que fue depositada de forma independiente a un pocillo en una microplaca de poliestireno (BRAND®) de 96 pocillos. Posteriormente a cada muestra se le agregaron: 8 µL de solución de fenol (5 g de fenol aforados

a 50 mL de etanol al 95%); 8 μL de solución de nitroprusiato de sodio (0.250 g de nitroprusiato de sodio aforados en 50 mL de agua desionizada); 16 μL de solución de reactivo alcalino (11.400 g de citrato de sodio dihidratado y 0.500 g de hidróxido de sodio, aforados en 50 mL de agua desionizada) y 4 μL de cloro comercial (Cloralex®). Las muestras procesadas se incubaron en oscuridad por un período de 1 h. Posteriormente las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro modelo Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, marca THERMO SCIENTIFIC™ a una longitud de onda (λ) de 640 nm. Los valores de las absorbancias de cada una de las concentraciones para construir la curva de calibración, fueron graficadas y la regresión lineal simple tuvo un coeficiente de determinación (R^2) > 0.90.

Para los análisis de las muestras de agua se recolectaron 25 mL de agua de cada unidad experimental. De esta muestra se tomó una alícuota de 200 μL , la cual fue depositada en un pozo de una microplaca de poliestireno (BRAND®) de 96 pocillos, adicionando en la misma secuencia y cantidad los reactivos mencionados en la elaboración de la curva de calibración para la determinación de NAT. A partir de la ecuación obtenida en la regresión lineal simple de la curva de calibración, se calcularon las concentraciones de NAT en los ensayos experimentales programados.

5.2.2 Análisis de N-NO_2^-

Las concentraciones de N-NO_2^- se analizaron a partir del método colorimétrico (Dean, 1990; American Public Health Association *et al.*, 1995; Hernández-López y Vargas-Albores, 2003). Se realizó una curva de calibración usando una solución principal de N-NO_2^- de 304 mg/L, agregando 300 mg de NaNO_2 aforados en 200 mL de agua desionizada. Posteriormente se preparó una solución secundaria de N-NO_2^- de 3.04 mg/L, donde se agregaron 0.500 mL de la solución principal aforados en 50 mL de agua desionizada, calculada con la ecuación (6). A partir de esta segunda solución se prepararon 10 diluciones por triplicado con las siguientes concentraciones: 0.003, 0.006, 0.015, 0.030, 0.076, 0.152, 0.212, 0.304, 0.456 y 0.608 mg/L, calculadas con la ecuación (6). De cada dilución se tomó una alícuota de 200 μL que fue depositada en un pocillo de una microplaca de poliestireno (BRAND®) de 96 pocillos. Posteriormente a cada muestra se le agregaron 4 μL de solución de sulfanilamida (0.5 g de sulfanilamida diluidos en 25 mL de agua desionizada y 5 mL de ácido clorhídrico concentrado, aforados en 50 mL) y 4 μL de solución de N-(1-naftil)-etilenediamina (0.05 g de Naftil-etilenediamina, aforados en 50 mL de agua desionizada). Las muestras procesadas se incubaron por 10 minutos. Posteriormente se leyeron en un espectrofotómetro modelo Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, marca THERMO SCIENTIFIC™, a una λ de 543

nm. Las absorbancias obtenidas se graficaron de acuerdo a las concentraciones y mediante una regresión lineal simple se determinó el $R^2 > 0.90$.

Las muestras de agua (25 mL) fueron analizadas a partir de una alícuota de 200 μL que fue depositada individualmente en un pocillo de una microplaca de poliestireno (BRAND®) de 96 pozos, adicionando en la misma secuencia y cantidad los reactivos mencionados en la curva de calibración para la determinación de N-NO_2^- . A partir de la ecuación obtenida en la regresión lineal simple de la curva de calibración, se calcularon las concentraciones de N-NO_2^- en los ensayos experimentales programados.

5.2.3 Análisis de N-NO_3^-

Las concentraciones de N-NO_3^- se analizaron con el método de espectrofotometría UV (American Public Health Association *et al.*, 1995). Se realizó una curva de calibración a partir de una solución principal de NO_3^- de 1000 mg/L, agregando 1443 mg de KNO_3 aforados en 200 mL de agua desionizada. Posteriormente se preparó una solución secundaria de NO_3^- de 20 mg/L, donde se agregó 1 mL de la solución principal aforada en 50 mL de agua desionizada, calculada con la ecuación (6). A partir de esta segunda solución se prepararon 11 diluciones por triplicado con las siguientes concentraciones: 0.100, 0.500, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 11, 12 y 13 mg/L, calculadas con la ecuación (6). De cada dilución se tomó una alícuota de 1 mL que fue depositada en un vial de 4 mL con 20 μL de solución de ácido clorhídrico 1 N, posteriormente, de cada vial se extrajeron 100 μL y se colocaron en un pocillo de una microplaca de fondo transparente a UV (GREINER UV-Star®) de 96 pocillos. Las muestras procesadas se leyeron en un espectrofotómetro modelo Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, marca THERMO SCIENTIFIC™, a una λ de 220 nm (absorbancia que determinó nitratos y materia orgánica) y 275 nm (absorbancia que determinó materia orgánica), obteniendo la absorbancia de nitratos al restar dos veces la lectura de 275 nm a la de 220 nm. Las absorbancias obtenidas se graficaron de acuerdo a las concentraciones usadas, empleando una regresión lineal simple con un $R^2 > 0.90$.

Las muestras de agua (25 mL) fueron analizadas a partir de una alícuota de 100 μL que fue depositada individualmente en un pocillo de una microplaca de fondo transparente UV (GREINER UV-Star®) de 96 pocillos, previo al mismo procedimiento de las diluciones en la curva de calibración para la determinación de N-NO_3^- . A partir de la ecuación obtenida en la regresión lineal simple de la curva de calibración, se calcularon las concentraciones de N-NO_3^- en los ensayos experimentales programados.

5.3 Determinación de parámetros fisicoquímicos

La concentración de alcalinidad (mg/L CaCO₃) fue determinada por el método de titulación (American Public Health Association *et al.*, 1995). Se usó ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0.02 N como valorante, se valoró el H₂SO₄ por duplicado a partir de 10 mL de carbonato de sodio 0.05 N (0.125 g de carbonato de sodio aforados en 50 mL de agua desionizada) agregados en 90 mL de agua desionizada; posteriormente se agregaron 20 µL del indicador verde-bromocresol y rojo-metilo hasta alcanzar el punto final de la titulación a un pH de 4.5 con una coloración rosada; se repitió el procedimiento con un blanco (100 mL de agua desionizada); al final de la valoración se calculó la normalidad del ácido a partir de:

$$N = \frac{M \cdot 10}{26.5 \cdot (C - B)} \quad (7)$$

Donde,

N = Normalidad

M = cantidad de gramos pesados de carbonato de sodio en 500 mL

C = mL promedio de ácido usado en las repeticiones

B = mL de ácido usado en el blanco

Los indicadores usados en este método fueron el verde-bromocresol y rojo-metilo (50 mg de verde-bromocresol y 10 mg de rojo-metilo, diluidos en 50 mL de etanol al 95%) para pH menores a 8.3 y la fenolftaleína (250 mg de fenolftaleína diluidos en 50 mL de etanol al 95%) para pH mayores a 8.3. Para la determinación de las muestras de agua (10 mL) se agregó 20 µL del indicador correspondiente de acuerdo al pH previamente registrado, y se tituló con alícuotas de 100 µL del valorante hasta alcanzar el punto final de la titulación química (viraje de color de azul a rosado). La alcalinidad fue determinada con la siguiente ecuación:

$$ALK = \frac{(A - B) \cdot N \cdot 50,000}{C} \quad (8)$$

Donde,

ALK = Alcalinidad (mg/L de carbonato de calcio [CaCO₃])

A = mL del ácido usado en la muestra

B = mL del ácido usado en el blanco

N = Normalidad del ácido

C = mL de la muestra

En los tanques donde se registraron valores menores a 100 mg/L de CaCO₃, se procedió a agregar bicarbonato de sodio (NaHCO₃), hasta alcanzar una concentración de 170 mg/L de CaCO₃, siguiendo lo descrito por Loyless y Malone (1997).

El oxígeno (mg/L) y la temperatura (°C) fueron monitoreados en el tanque de cultivo con un equipo multiparamétrico modelo 556MPS, marca YSI®, el pH fue medido con un potenciómetro de mesa modelo Orion 4 – star, marca THERMO SCIENTIFIC™ y la salinidad se determinó con un refractómetro modelo 0-50° Brix, marca Brixco®.

Los sólidos suspendidos totales (mg/L) fueron determinados por el método de secado 103°C - 105°C (Dean, 1990; American Public Health Association *et al.*, 1995). Se filtraron 200 mL de muestra de agua del tanque de cultivo por triplicado por medio de una bomba de vacío modelo 2546B-01, marca WELCH®, en filtros de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro grado GF/C, marca VWR® (previamente tratados y pesados). Posteriormente los filtros fueron colocados en navcillas prepresadas de aluminio. Las muestras fueron secadas a 103°C – 105°C por un periodo de 12 horas en una estufa de convección modelo 130, marca THELCO®. Posteriormente las muestras se introdujeron a un desecador, para que alcanzaran la temperatura ambiente y, posteriormente ser pesados en una balanza analítica modelo CP224-S, marca SARTORIUS (hasta alcanzar peso seco constante con una variación ≤ al 4%). Los sólidos suspendidos fueron calculados a partir de la siguiente ecuación:

$$SST = \frac{(A-B) \cdot 1000}{C} \quad (9)$$

Donde,

SST = Sólidos suspendidos totales (mg/L)

A = Peso del filtro + sólidos (g)

B = Peso del filtro (g)

C = Volumen de la muestra (L)

Además se determinó la clorofila *a* (mg/L) por el método espectrofotométrico (Parsons *et al.*, 1989; Rivera *et al.*, 2005) para establecer qué porcentaje de concentración de sólidos suspendidos totales (mg/L) correspondía a la presencia de microalgas en el sistema. Se filtraron 50 mL de muestra de agua del tanque de cultivo por triplicado por medio de una bomba de vacío modelo 2546B-01, marca WELCH® en filtros de fibra de vidrio de 25 mm de diámetro grado GF/C, marca WHATMAN® (previamente tratados y pesados). Posteriormente cada filtro fue almacenado en oscuridad a 4°C en un tubo de ensayo con 10 mL de solución de acetona al 90% durante 12 horas. Luego del periodo de almacenamiento las muestras fueron centrifugadas a 2,000 rpm (500 RCF) durante 20 minutos en una centrífuga modelo

Allegra™ 25R, marca BECKMAN COULTER™. Posteriormente una alicuota de 200 µL de sobrenadante por muestra se transfirió a un pocillo de una microplaca de poliestireno marca BRAND® de 96 pocillos y se leyó en un espectrofotómetro modelo Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, marca THERMO SCIENTIFIC™, a unas λ de 664, 647 y 630 nm. Al final la clorofila *a* fue calculada a partir de las siguientes ecuaciones

$$Cap = 11.85 E_{664} - 1.54 E_{647} - 0.08 E_{630} \quad (10)$$

Donde,

Cap = Clorofila *a* pigmento

E = Valor de la absorbancia del subíndice

Y

$$Ca = \frac{(Cap \cdot v)}{(V \cdot 10)} \quad (11)$$

Donde,

Ca = Clorofila *a* (mg/L)

Cap = Clorofila *a* pigmento

v = volumen de acetona (mL)

V = volumen de agua de mar filtrada (mL)

5.4 Experimentos de maduración química

Se realizaron tres experimentos de maduración química con las dos unidades experimentales de SRA, a partir del uso de cloruro de amonio (NH_4Cl) y nitrito de sodio (NaNO_2) como fuente de nitrógeno (Manthe y Malone, 1987; Delong y Losordo, 2012). En el inicio de cada experimento se renovó el volumen total de las dos unidades experimentales de SRA con agua marina y agua dulce (para mantener la salinidad experimental).

5.4.1 Experimento A

Se pesaron 4.338 g de NH_4Cl y 0.212 g de NaNO_2 en una balanza analítica modelo CP224-S, marca SARTORIUS, y se agregó a cada una de las unidades experimentales, obteniendo una concentración de

3.88 mg/L NAT y 0.152 mg/L N-NO₂⁻ en el día 1 del experimento. Posteriormente se evaluaron las concentraciones de NAT (mg/L), N-NO₂⁻ (mg/L) y N-NO₃⁻ (mg/L), así como los datos de alcalinidad (mg/L CaCO₃), oxígeno (mg/L), pH, temperatura (°C) y salinidad (ups), una vez por día a lo largo de 25 días. En este experimento se realizó el mantenimiento de las UE de los SRA descrito anteriormente (sección 5.1.6).

5.4.2 Experimento B

Se pesaron 8.677 g de NH₄Cl y 2.128 g de NaNO₃ en la balanza analítica, y se agregó a cada una de las unidades experimentales, obteniendo una concentración de 7.76 mg/L NAT y 1.520 mg/L N-NO₂⁻ en el día 1 del experimento. Se evaluó las concentraciones de NAT (mg/L), N-NO₂⁻ (mg/L) y N-NO₃⁻ (mg/L), así como los datos de alcalinidad (mg/L CaCO₃), oxígeno (mg/L), pH, temperatura (°C) y salinidad (ups), una vez por día a lo largo de 17 días. En este experimento no se realizó mantenimiento de las UE de los SRA experimentales (sección 5.1.6).

5.4.3 Experimento C

Se pesaron 4.338 – 8.677 g de NH₄Cl en la balanza analítica, y se agregó a cada una de las unidades experimentales una vez por día durante 8 días de experimento. Se evaluó la remoción diaria de NAT (mg/L), así como las concentraciones de N-NO₂⁻ (mg/L), N-NO₃⁻ (mg/L), alcalinidad (mg/L CaCO₃), oxígeno (mg/L), pH, temperatura (°C) y salinidad (ups) una vez cada día a lo largo del tiempo del experimento. A las UE de los SRA descritos anteriormente, se les realizó mantenimiento (sección 5.1.6).

5.4.3.1 Dimensionamiento de la tasa volumétrica de remoción de NAT

La tasa volumétrica de remoción de NAT (VTR) se determinó a partir de las concentraciones promedio de NAT inicial (mg/L) y de las concentraciones de NAT final (mg/L) registradas cada hora, de la tasa de flujo de agua del sistema (L/min) y del volumen del medio (m³) usado en cada filtro experimental. El VTR fue calculada a partir de la siguiente ecuación propuesta por Pfeiffer y Malone (2006):

$$VTR = \frac{kc * (NAT_i - NAT_f) * Q}{Vm}$$

Donde,

VTR: Tasa volumétrica de remoción de NAT ($\text{g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{día}$)

kc: Constante para igualar unidades (1.44)

NAT_i: Concentración inicial de NAT (mg/L)

NAT_f: Concentración final de NAT (mg/L)

Q: Tasas de flujo de agua (L/min)

V_m: Volumen de sustrato (m^3)

5.5 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*)

Los organismos fueron donados por la empresa AQUA PACIFIC S.A. de C.V localizada en Mazatlán, estado de Sinaloa - México, y trasladados vía aérea y terrestre hasta el invernadero del IIO-UABC, dentro de una hielera de foam (espuma viscoelástica de polieatireno), en una bolsa plástica con una tercera parte de agua marina (24 °C) y dos terceras partes de oxígeno. Los camarones (previamente aclimatizados) fueron mantenidos desde el estadio post-larva 17 hasta alcanzar un peso > 8 g en un sistema de recirculación adicional al experimento.

Para el bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) se utilizó una densidad de 120 organismos/ m^2 (Wasielisky *et al.*, 2006), es decir 60 organismos (9.260 g/organismo o 556 g/biomasa total) por cada unidad experimental de SRA, considerando el área disponible del tanque de cultivo. También, se evaluó la remoción diaria de NAT (mg/L), así como las concentraciones de N-NO_2^- (mg/L), N-NO_3^- (mg/L), alcalinidad (mg/L CaCO_3), oxígeno (mg/L), pH, salinidad (ups) y temperatura (°C) una vez cada día hasta finalizar el experimento. Los parámetros químicos como la clorofila *a* (mg/L) y los sólidos suspendidos totales (mg/L) se analizaron una vez por semana. El experimento tuvo una duración de 62 días, durante este tiempo, se realizó el mantenimiento de las UE de los SRA experimentales descritos anteriormente (sección 5.1.6).

5.5.1 Mantenimiento de organismos

Los organismos fueron alimentados tres veces por día con una dieta balanceada para camarón en etapa de engorda con 35% de proteína, 8% de grasa y 3% de fibra, línea Bumper Crop® marca Vimifos, S.A. de

C.V., con una tasa de alimentación del 2.5% (Cabrera y Aznay, 2011) con respecto a la biomasa total por cada unidad experimental de SRA.

5.5.2 Parámetros de crecimiento

Durante el periodo que duro el bioensayo de crecimiento de camarón se realizaron biometrías semanales, registrando el peso de una muestra (50%) de los organismos de cada unidad experimental, con una báscula electrónica modelo V21PW3, marca OHAUS CORPORATION®. La longitud se registró midiendo la longitud de 5 organismos al azar por unidad experimental por medio de un ictiómetro. Cada vez que se realizó la biometría, se bajó el volumen de los tanques de cultivo hasta dejarlos en un aproximado de 80 L, esto con el fin de facilitar la recolección de los organismos, y ocasionar menor estrés. Al final de cada biometría el volumen de agua de mar era renovado en todas las unidades experimentales de SRA (290 L).

Con base en los registros anteriores se calculó el factor de conversión alimenticia, la ganancia en peso (Brett, 1971; Rossi Rolim, 2010), la supervivencia y la tasa de crecimiento específico (Jensen, 1985; Arredondo *et al.*, 1996) a partir de las siguientes ecuaciones:

$$FCA = \left(\frac{Ac}{Pf - Pi} \right) \quad (13)$$

Donde,

FCA = Factor de conversión alimenticia

Ac = Alimento consumido

Pf = Peso final (g)

Pi = Peso inicial (g)

$$GP = (Pf - Pi) * 100 \quad (14)$$

Donde,

GP = Ganancia de peso (%)

Pf = Peso final (g)

Pi = Peso inicial (g)

$$Supervivencia (\%) = \left(\frac{Nio}{Nfo} \right) * 100 \quad (15)$$

Donde,

Nio = Número inicial de organismos

Nfo = Número final de organismos

$$TCE = \left(\frac{\ln Pf - \ln Pi}{T} \right) * 100 \quad (16)$$

Donde,

TCE = Tasa de crecimiento específica (%)

lnPf = Logaritmo natural del peso final

lnPi = Logaritmo natural del peso inicial

T = Tiempo (días)

5.6 Análisis estadístico

5.6.1 Unidades experimentales de SRA

Los valores promedios de la tasa de flujo de agua de las UE de los SRA A y B (Q; L/min) fueron analizados con la prueba de t-student para muestras pareadas (previo al análisis de comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas). Los valores promedio de la tasa de flujo de aire (Qa; L/min) utilizados para el sistema de bombeo con aire, el tiempo de lavado (min) y el volumen de drenado de sólidos de los filtros (L) fueron analizados con la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras pareadas. En las pruebas estadísticas se usó un nivel de significancia de $p < 0.05$ (Fry, 1993; Daniel y Cross, 2013; Gómez *et al.*, 2013).

5.6.2 Experimentos de maduración química

Los datos de los experimentos A, B y C de maduración química entre las UE de los SRA A y B de las concentraciones de NAT (mg/L), N-NO₂⁻ (mg/L), N-NO₃⁻ (mg/L), así como los registros de alcalinidad (mg/L CaCO₃), oxígeno (mg/L), pH, salinidad (ups) y temperatura (°C), fueron analizados con la prueba de t-student para muestras pareadas (previo al análisis de comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas). Los datos que no cumplieron los supuestos de normalidad se analizaron

con la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras pareadas. En las pruebas estadísticas se usó un nivel de significancia de $p < 0.05$. Además se interpretó con un gráfico de dispersión las concentraciones de NAT (mg/L), N-NO_2^- (mg/L) y N-NO_3^- (mg/L) a lo largo del tiempo (Fry, 1993; Daniel y Cross, 2013; Gómez *et al.*, 2013).

5.6.3 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*)

Los resultados obtenidos en el bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) entre las UE de los SRA A y B, como las concentraciones de NAT (mg/L), N-NO_2^- (mg/L), N-NO_3^- (mg/L), así como los registros de alcalinidad (mg/L CaCO_3), clorofila (mg/L), oxígeno (mg/L), pH, salinidad (ups), SST (mg/L) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$), fueron analizados con la prueba de t-student para muestras pareadas (previo al análisis de comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas). Los datos que no cumplieron los supuestos de normalidad se analizaron con la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras pareadas. Adicionalmente se realizó la prueba de signos para determinar las tendencias de los resultados obtenidos (Fry, 1993; Daniel y Cross, 2013; Gómez *et al.*, 2013).

Los pesos promedios de los camarones en las distintas unidades experimentales a lo largo del tiempo fueron graficados y ajustados a una regresión exponencial.

También se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) para determinar si existía diferencia entre las pendientes; en este análisis se utilizaron los registros de los pesos como variable dependiente y el tiempo como covariable. Los datos de los pesos previamente fueron transformados con logaritmo natural (\ln) y graficados en una regresión lineal. En las pruebas estadísticas se usó un nivel de significancia de 95% ($p < 0.05$) (Fry, 1993; Daniel y Cross, 2013; Gómez *et al.*, 2013).

Capítulo 6. Resultados

6.1 Unidades experimentales de SRA

Los valores de la medición de las tasas de flujo de agua (Q) en los sistemas de bombeo con aire de las unidades experimentales (UE) de los SRA con filtro de lavado continuo (FLC) y con filtro de lavado discontinuo (FLD) fueron de 4.59 ± 0.03 L/min y 4.77 ± 0.04 L/min, respectivamente. Los valores de las Q presentaron diferencias significativas entre las UE de SRA ($p < 0.05$), a pesar de que se trató de establecer flujos homogéneos con base en los valores promedio de las tasas de flujo de aire (Q_a) en los sistemas de bombeo con aire, donde no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$), con valores de 19.46 ± 0.36 L/min en las UE de los SRA con FLC y de 19.73 ± 0.26 L/min con FLD. Cabe mencionar que los valores de las Q medidas en las UE de los SRA de los dos filtros dieron un tiempo de retención hidráulica total por sistema (TRH) de 63 minutos (FLC) y 61 minutos (FLD), estos TRH se encontraron dentro de los valores establecidos en SRA según varios autores (Timmons y Ebeling, 2010; Loo *et al.* 2013) (Tabla 2).

Los valores observados de drenado de sólidos del FLC fueron menores (2.77 ± 0.07 L), respecto a los registrados para el FLD (5.19 ± 0.04 L), presentándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ellos (Tabla 2). El tiempo de lavado (Tabla 2) del FLC fue mayor con 0.50 ± 0.01 minutos respecto al tiempo del FLD con 0.21 ± 0.00 minutos. Los valores reportados del tiempo del lavado de los filtros presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$).

Al comparar los valores de Q y Q_a calculados por medio de las ecuaciones 4 y 5 propuestas por Castro *et al.* (1975), Reinemann y Timmons (1989) y Wurts *et al.* (1994), se observó que las estimaciones de Q (24.18 ± 0.37 L/min), no fueron significativamente diferentes a las obtenidas en las UE de SRA con FLC y con FLD; no así las Q_a (39.23 ± 0.77 L/min) que sí fueron significativamente diferentes a las obtenidas en las UE de SRA con FLC y con FLD (Tabla 3).

Tabla 2. Valor promedio y error estándar de las tasas de flujo de agua (Q), de las tasas de flujo de aire (Qa), de los volúmenes de drenado (D) y tiempos de lavado de los filtros (TL) en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	FLC	FLD	S – W	W		T – S		
			(p)	(Z)	(p)	(t)	(gl)	(p)
Q (L/min)	4.59 ± 0.03 ^a	4.77 ± 0.04 ^b	0.104	-	-	-3.684	47	0.000
Qa (L/min)	19.46 ± 0.36 ^a	19.73 ± 0.26 ^a	0.000	0.000	1.000	-	-	-
D (L)	2.77 ± 0.07 ^a	5.19 ± 0.04 ^b	0.000	4.782	0.000	-	-	-
TL (min)	0.50 ± 0.01 ^a	0.21 ± 0.00 ^b	0.000	6.735	0.000	-	-	-

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.
- : no determinado

Tabla 3. Valor promedio y error estándar de las tasas de flujo de agua (Q) y de las tasas de flujo de aire (Qa) medidas (M) y calculadas (C) en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	M	C	S – W	W		T – S		
			(p)	(Z)	(p)	(t)	(gl)	(p)
Q (L/min)	4.68 ± 0.12 ^a	24.18 ± 0.37 ^a	0.037	1.34	0.17	-	-	-
Qa (L/min)	19.59 ± 0.19 ^a	39.23 ± 0.77 ^a	0.056	1.34	0.17	-30.92	1	0.205

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.

6.2 Análisis de compuestos nitrogenados (NAT, N-NO₂⁻ y N-NO₃⁻)

6.2.1 Análisis de NAT

Para el análisis de la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) en el agua de mar de los cultivos, se realizó una curva de calibración espectrofotométrica con intervalos de concentraciones de 0 hasta los 1.64 mg/L; una vez obtenidos los valores de absorbancia para cada una de las concentraciones y repeticiones, los datos se ajustaron a un modelo de regresión lineal, resultando un coeficiente de determinación (R^2) de 0.999 y una ecuación de regresión de $y = 0.4126x + 0.0878$ (Figura 10).

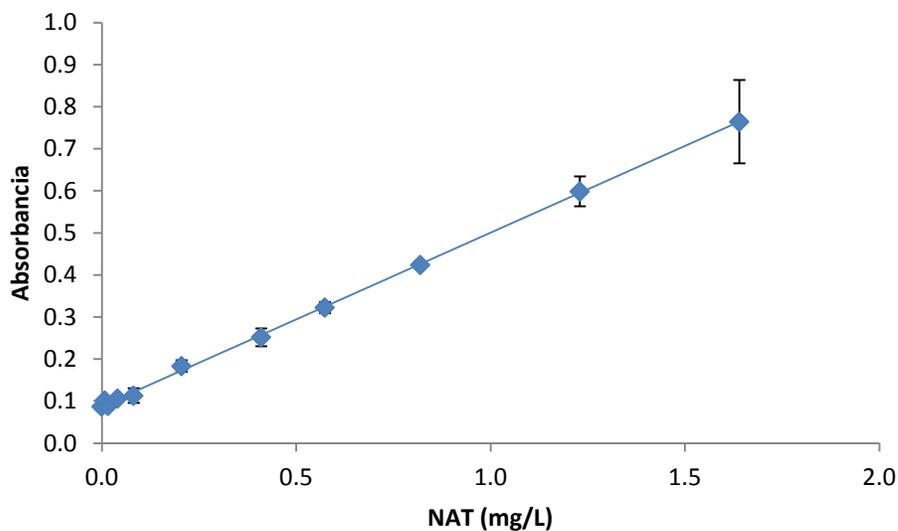


Figura 10. Concentraciones de nitrógeno amoniacal total (NAT) (0 a 1.64 mg/L) y valores promedio \pm error estándar de la absorbancia en la curva de calibración espectrofotométrica para la determinación de NAT, ajustados a un modelo de regresión lineal con un R^2 de 0.999 y una ecuación de regresión de $y = 0.4126x + 0.0878$.

6.2.2 Análisis de $N-NO_2^-$

Para el análisis de la concentración de $N-NO_2^-$ en el agua de mar de los cultivos, se realizó una curva de calibración espectrofotométrica con un intervalo de concentraciones que fueron de 0 hasta los 0.608 mg/L; una vez obtenidos los valores de absorbancia para cada una de las concentraciones y repeticiones, los datos se ajustaron a un modelo de regresión lineal, resultando un R^2 de 0.997 y una ecuación de regresión de $y = 2.0796x + 0.0452$ (Figura 11).

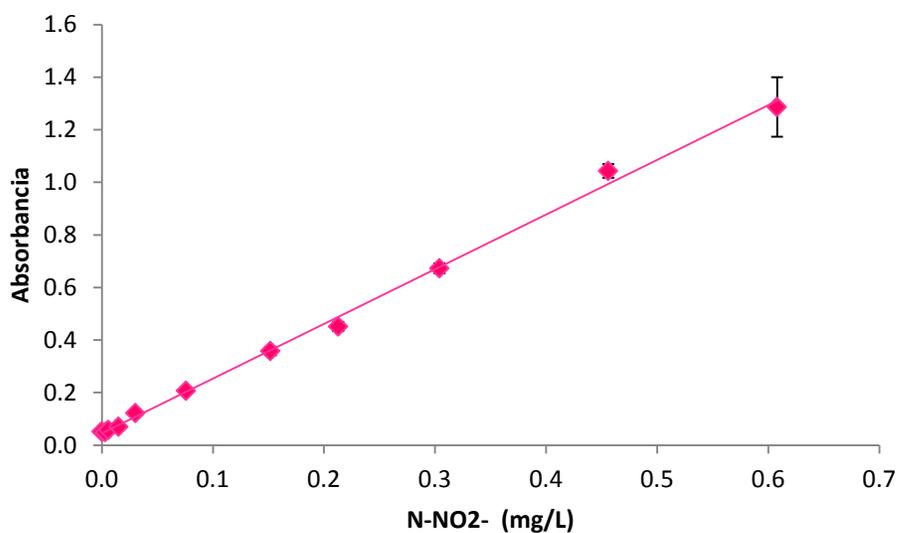


Figura 11. Concentraciones de nitritos (N-NO_2^-) (0 a 0.608 mg/L) y valores promedio \pm error estándar de la absorbancia en la curva de calibración espectrofotométrica para la determinación de N-NO_2^- ajustados a un modelo de regresión lineal con un R^2 de 0.997 y una ecuación de regresión de $y = 2.0796x - 0.0452$.

6.2.3 Análisis de N-NO_3^-

Para el análisis de la concentración de N-NO_3^- en el agua de mar de los cultivos, se realizó una curva de calibración espectrofotométrica con un intervalo de concentraciones que fueron de 0 hasta los 13 mg/L; una vez obtenidos los valores de absorbancia para cada una de las concentraciones y repeticiones, los datos se ajustaron a un modelo de regresión lineal, resultando un R^2 de 0.999 y una ecuación de regresión de $y = 0.0676x - 0.0488$ (Figura 12).

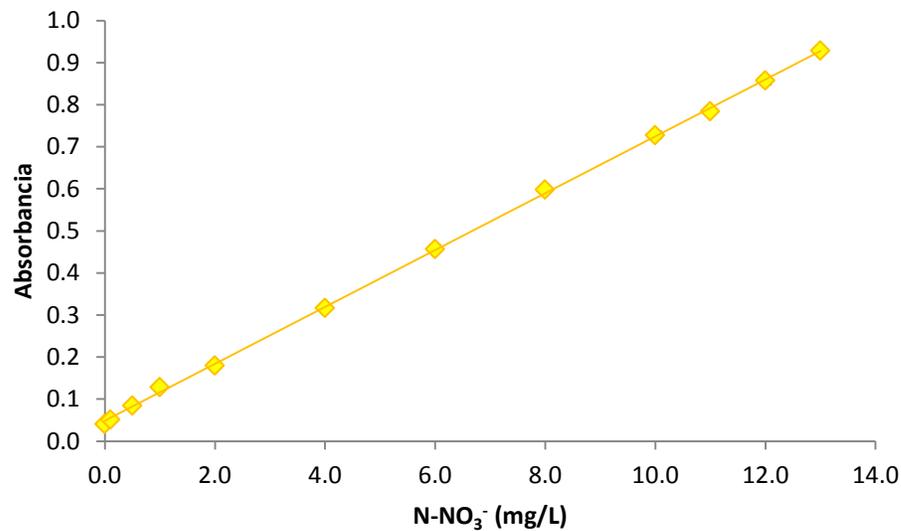


Figura 12. Concentraciones de nitratos (N-NO_3^-) (0 a 13 mg/L) y valores promedio \pm error estándar de la absorbancia en la curva de calibración espectrofotométrica para la determinación de N-NO_3^- , ajustados a un modelo de regresión lineal con un R^2 de 0.999 y una ecuación de regresión de $y = 0.0676x - 0.0488$.

6.3 Experimentos de maduración química

6.3.1 Experimento A

En el desarrollo del experimento A de maduración química no se presentaron diferencias significativas en las concentraciones de NAT y N-NO_3^- ($p > 0.05$), no así en la concentración de N-NO_2^- con una concentración más alta en las UE de los SRA con FLD (0.16 ± 0.01 mg/L) respecto a las UE de los SRA con FLC (0.13 ± 0.01 mg/L). Los parámetros de calidad de agua como la alcalinidad, oxígeno, pH, salinidad y la temperatura mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones de las UE de los SRA con FLC con respecto a los valores de concentración de las UE de los SRA con FLD (Tabla 4).

Con los resultados obtenidos en este ensayo no se reportaron variaciones en las concentraciones de N-NO_2^- y N-NO_3^- a lo largo del tiempo, razón por lo que se consideró que aún no se daba lugar al inicio del proceso de nitrificación en la parte de la oxidación de NAT a N-NO_2^- y por ende a la oxidación de N-NO_2^- a N-NO_3^- (Figuras 13 y 14).

Tabla 4. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO_2^-) y nitratos (N-NO_3^-), alcalinidad (ALK), oxígeno (O_2), potencial del ion hidrógeno (pH), salinidad (ups) y temperatura (Temp) en las UE de los SRA con el FLC y el FLD durante el experimento A de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	FLC	FLD	S - W		W		T - S		
			(p)	(Z)	(p)	(t)	(gl)	(p)	
NAT (mg/L)	1.88 ± 0.19^a	1.93 ± 0.18^a	0.002	1.97	0.170	-	-	-	
N-NO_2^- (mg/L)	0.13 ± 0.01^a	0.16 ± 0.01^b	0.000	3.828	0.000	-	-	-	
N-NO_3^- (mg/L)	0.52 ± 0.06^a	0.53 ± 0.06^a	0.000	0.982	0.326	-	-	-	
ALK (mg/L CaCO_3)	131.73 ± 7.14^a	130.53 ± 5.74^b	0.007	2.039	0.041	-	-	-	
ups	37.35 ± 0.42^a	36.91 ± 0.39^b	0.000	3.145	0.001	-	-	-	
O_2 (mg/L)	5.72 ± 0.05^a	5.76 ± 0.05^b	0.589	-	-	-2.219	24	0.036	
pH	8.17 ± 0.00^a	8.16 ± 0.00^b	0.256	-	-	2.571	24	0.016	
Temp ($^\circ\text{C}$)	30.37 ± 0.38^a	29.72 ± 0.37^b	0.124	-	-	5.055	24	0.000	

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.

- : no determinado

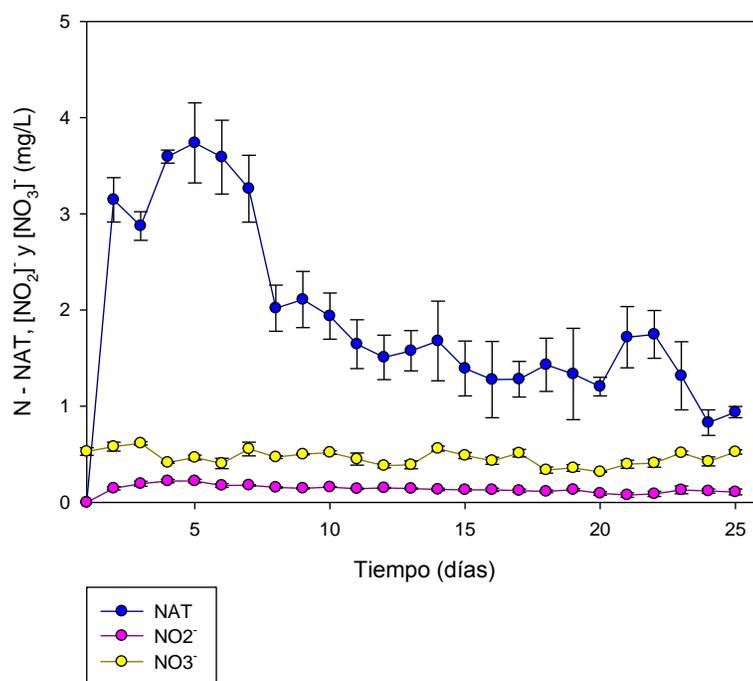


Figura 13. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO_2^-) y nitratos (N-NO_3^-) en las UE de los SRA con el FLC, durante el experimento A de maduración.

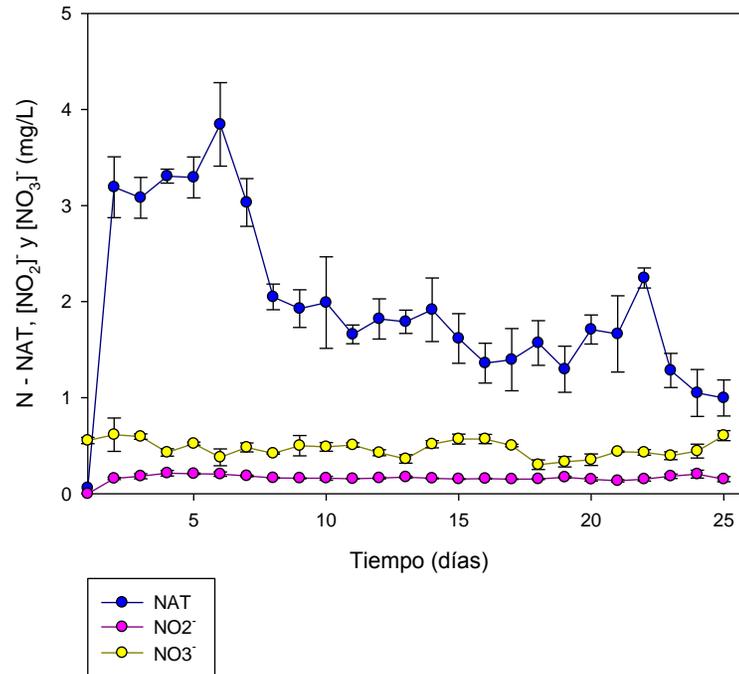


Figura 14. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO₂⁻) y nitratos (N-NO₃⁻) en las UE de los SRA con el FLD, durante el experimento A de maduración.

6.3.2 Experimento B

Durante el experimento B de maduración química se observaron diferencias significativas en las concentraciones de NAT, N-NO₂⁻ y N-NO₃⁻ ($p < 0.05$). Los valores promedio de la concentración de NAT fueron de 3.20 ± 0.64 mg/L en las UE de los SRA con FLD, y 1.77 mg/L más alta la concentración en las UE de los SRA con los FLC. Mientras que las concentraciones de N-NO₂⁻ y N-NO₃⁻ fueron mayores en las UE de los SRA con los FLD (7.04 ± 0.58 mg/L N-NO₂⁻ y 1.77 ± 0.12 mg/L N-NO₃⁻) comparativamente con las UE de los SRA con los FLC (4.36 ± 0.55 mg/L N-NO₂⁻ y 1.30 ± 0.11 mg/L N-NO₃⁻) (Tabla 5).

Los valores de alcalinidad, salinidad y temperatura presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$); entre las UE de los SRA con FLC y las UE con FLD. Mientras que las concentraciones de oxígeno y los valores de pH no se observaron diferencias significativas entre ninguna de las unidades experimentales y filtros ($p > 0.05$) (Tabla 5).

Tabla 5. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO_2^-) y nitratos (N-NO_3^-), alcalinidad (ALK), oxígeno (O_2), potencial del ion hidrógeno (pH), salinidad (ups) y temperatura (Temp) en las UE de los SRA con el FLC y el FLD durante el experimento B de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student.. Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	FLC	FLD	S - W	W		T - S		
			(p)	(Z)	(p)	(t)	(gl)	(p)
NAT (mg/L)	4.97 ± 0.77 ^a	3.20 ± 0.64 ^b	0.010	3.337	0.000	-	-	-
N-NO₂⁻ (mg/L)	4.36 ± 0.55 ^a	7.04 ± 0.58 ^b	0.000	3.574	0.000	-	-	-
N-NO₃⁻ (mg/L)	1.30 ± 0.11 ^a	1.77 ± 0.12 ^b	0.006	-2.789	0.005	-	-	-
ALK (mg/L CaCO₃)	148.82 ± 6.38 ^a	141.96 ± 7.00 ^b	0.000	3.621	0.000	-	-	-
O₂ (mg/L)	5.97 ± 0.07 ^a	5.96 ± 0.07 ^a	0.197	-	-	0.981	16	0.341
pH	8.15 ± 0.01 ^a	8.13 ± 0.02 ^a	0.459	-	-	0.848	16	0.408
Temp (°C)	29.6 ± 0.36 ^a	29.36 ± 0.40 ^b	0.056	-	-	4.828	16	0.000
ups	32.45 ± 0.18 ^a	32.98 ± 0.19 ^b	0.087	-	-	-3.776	16	0.001

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.

- : no determinado

En este experimento se observó una disminución en las concentraciones de NAT y N-NO_2^- a lo largo del tiempo, por lo que se pudiera considerar un inicio del proceso de nitrificación en los sistemas de filtración ensayados. Se observó también que este inicio en el proceso de nitrificación empezó probablemente al segundo día para las UE de los SRA con FLD, mientras que para las UE con FLC el proceso de nitrificación comenzó probablemente al sexto día. Finalmente se estimó que el proceso de nitrificación no llegó a completarse con base en el comportamiento de los registros de N-NO_2^- , mismos que hasta el día 17 no presentaron una tendencia a disminuir tanto en las UE de los SRA con FLC, como en las UE con FLD (Figuras 15 y 16).

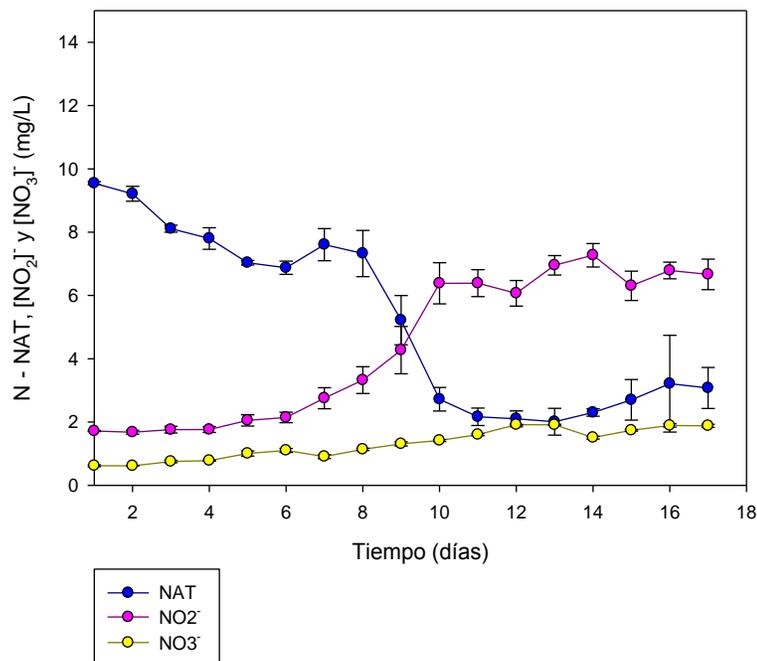


Figura 15. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO₂⁻) y nitratos (N-NO₃⁻) en las UE de los SRA con el FLC, durante el experimento B de maduración.

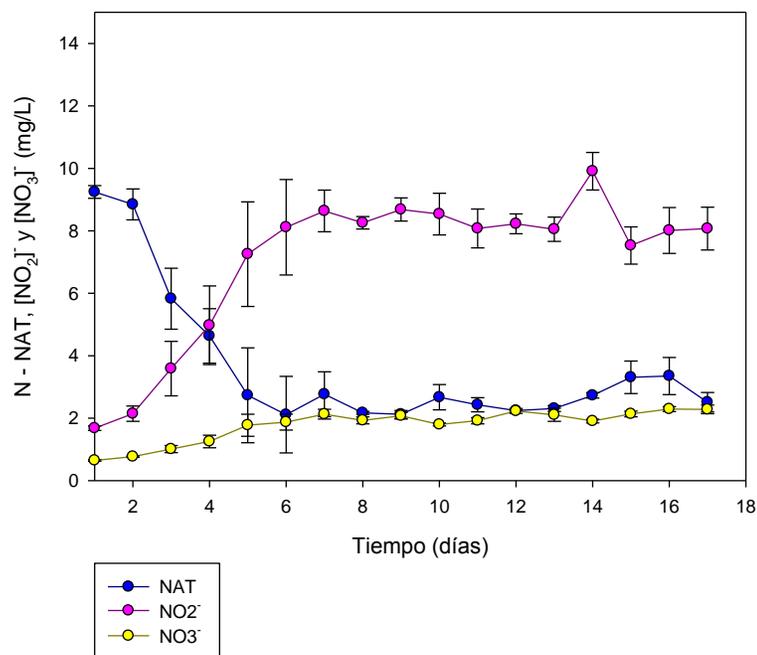


Figura 16. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO₂⁻) y nitratos (N-NO₃⁻) en las UE de los SRA con el FLD, durante el experimento B de maduración.

6.3.3 Experimento C

En este experimento de maduración química no se observaron diferencias ($p > 0.05$) en las concentraciones de NAT, N-NO_2^- , N-NO_3^- , alcalinidad, oxígeno, pH y salinidad entre las UE de los SRA con FLC y las UE con FLD. Los valores promedio de temperatura fueron significativamente mayor ($p < 0.05$) en las UE de los SRA con FLC con 29.68 ± 0.64 que en las UE con FLD con 29.46 ± 0.71 (Tabla 6).

Durante este ensayo se supuso que el proceso de nitrificación no llegó a completarse con base en el comportamiento de los registros de N-NO_2^- , mismos que hasta el día 8 no presentaron una tendencia a disminuir tanto en las UE de los SRA con FLC y con FLD, al no oxidarse y convertirse a nitratos (Figuras 17 y 18).

Tabla 6. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO_2^-) y nitratos (N-NO_3^-), alcalinidad (ALK), oxígeno (O_2), potencial del ion hidrógeno (pH), salinidad (ups) y temperatura (Temp) en las UE de los SRA con el FLC y el FLD durante el experimento C de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	FLC	FLD	S - W	T - S		
			(p)	(t)	(gl)	(p)
NAT (mg/L)	5.23 ± 0.47^a	5.14 ± 0.48^a	0.311	0.236	13	0.816
N-NO₂⁻ (mg/L)	6.33 ± 0.62^a	6.12 ± 0.68^a	0.058	0.979	13	0.345
N-NO₃⁻ (mg/L)	2.37 ± 0.32^a	2.25 ± 0.26^a	0.154	1.358	13	0.197
ALK (mg/L CaCO₃)	161.67 ± 11.54^a	165.00 ± 11.76^a	0.645	-1.128	7	0.296
O₂ (mg/L)	6.41 ± 0.09^a	6.38 ± 0.10^a	0.067	2.326	7	0.052
pH	8.15 ± 0.03^a	8.09 ± 0.03^a	0.093	-0.949	7	0.373
Temp (°C)	29.68 ± 0.64^a	29.46 ± 0.71^b	0.052	2.811	7	0.026
ups	33.33 ± 0.28^a	33.88 ± 0.24^a	0.256	-1.454	7	0.189

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.

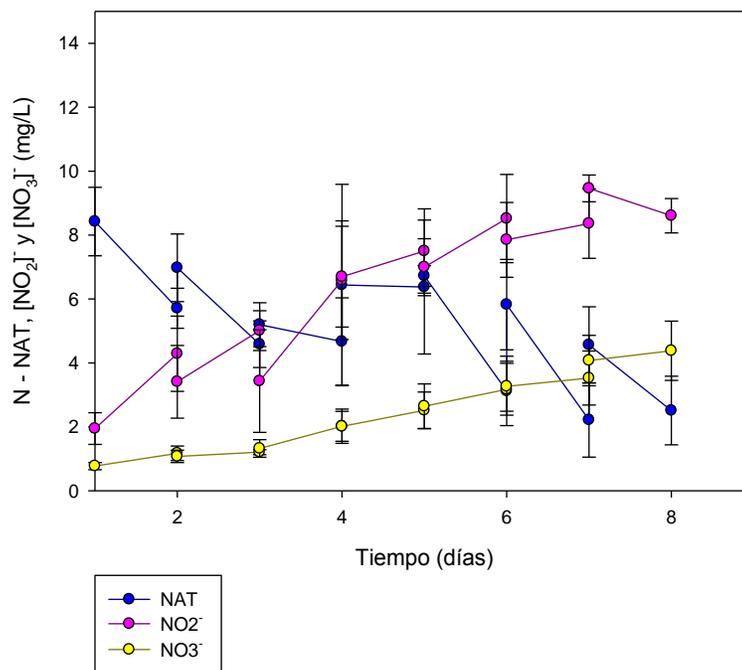


Figura 17. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO₂⁻) y nitratos (N-NO₃⁻) en las UE de los SRA con el FLC, durante el experimento C de maduración química.

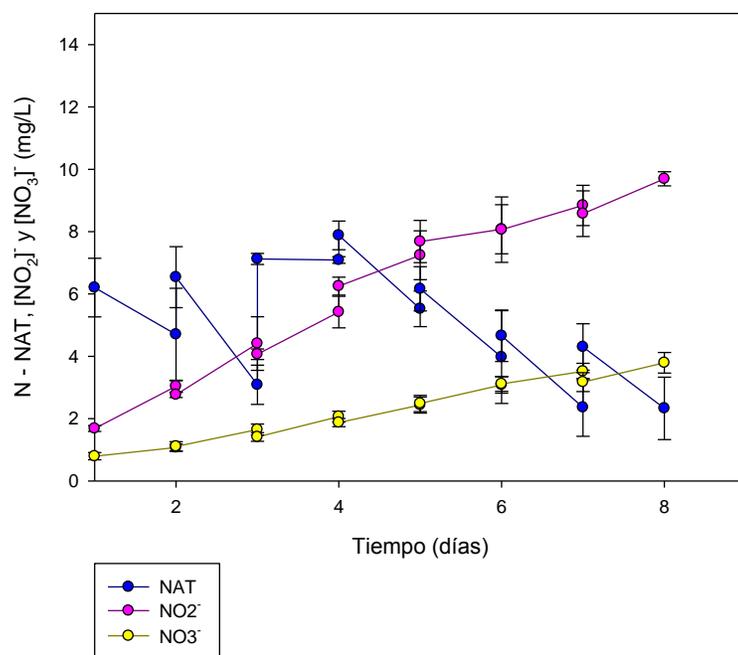


Figura 18. Concentración promedio y error estándar de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO₂⁻) y nitratos (N-NO₃⁻) en las UE de los SRA con el FLD, durante el experimento C de maduración química.

A partir de los registros diarios de remoción de las concentraciones de NAT en este experimento, se calculó la tasa volumétrica de remoción de NAT (VTR), con un valor de 287.26 ± 81.62 g-NAT/m³·día en el FLC, y un valor de 276.30 ± 20.86 g-NAT/m³·día en el FLD, sin presentar diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las mismas (Tabla 7).

Tabla 7. Valores promedio y error estándar de la tasa volumétrica de remoción de NAT (VTR) en las UE de los SRA con FLC y con FLD durante el experimento C de maduración química. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student. Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	FLC	FLD	S - W	T - S		
			(p)	(t)	(gl)	(p)
VTR (g-NAT/m³·día)	287.26 ± 81.62^a	276.30 ± 20.86^a	0.373	0.113	4	0.914

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.

6.4 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*)

El bioensayo de cultivo de camarón blanco fue realizado durante nueve semanas. Durante este experimento en las UE de los SRA del FLC se reportó un peso promedio por individuo de 15.96 ± 0.66 g, una ganancia en peso de 6.69 ± 0.65 g (72.21 ± 6.88 % correspondiente al peso inicial del experimento), una tasa de crecimiento específico (TCE) de 0.87 ± 0.06 % y un factor de conversión alimenticia (FCA) de 2.83 ± 0.31 . Mientras que en las UE de los SRA con FLD se obtuvo un peso promedio por organismo de 16.66 ± 0.38 g, una ganancia en peso de 7.39 ± 0.37 g (equivalentes al 79.78 ± 3.94 % del peso inicial del experimento), una tasa de crecimiento específico (TCE) de 0.95 ± 0.03 % y un factor de conversión alimenticia (FCA) de 2.65 ± 0.12 (Tabla 8).

Se encontraron diferencias en el crecimiento de los organismos en las UE de SRA con FLC en relación a las UE de SRA con FLD, pero sin que haya una tendencia de los datos más común en un tratamiento que en otro. ($p > 0.05$). Con respecto a los valores promedios de los parámetros productivos como la ganancia en peso, la TCE y el FCA, no se encontraron diferencias significativas entre las unidades experimentales ($p > 0.05$) (Tabla 8).

La supervivencia fue de 93.89 ± 2.22 % en las UE de los SRA del FLC; y de 95.56 ± 2.00 % en las UE de los SRA con FLD a lo largo del experimento, y tampoco presentaron diferencias entre los tratamientos ($p > 0.05$) (Tabla 8).

Tabla 8. Valores promedio y error estándar de los pesos iniciales (PI), pesos finales (PF), ganancia en peso (GP), tasa de crecimiento específico (TCE), del factor de conversión alimenticia (FCA) y de la supervivencia (S) de los organismos durante el bioensayo de cultivo de camarón blanco en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student, y del valor de p de la prueba del Signo (P – S [p]). Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	FLC	FLD	S - W (p)	W (Z)	W (p)	T - S (t)	T - S (gl)	T - S (p)	P - S (Z)
PI (g)	9.26 ± 0.01	9.26 ± 0.00	0.001	2.183	0.028	-	-	-	0.265
PF (g)	15.96 ± 0.66 ^a	16.66 ± 0.38 ^b							
GP (g)	6.69 ± 0.65 ^a	7.39 ± 0.37 ^a	0.586	-	-	-1.151	2	0.368	1.000
GP (%)	72.21 ± 6.88 ^a	79.78 ± 3.94 ^a	0.583	-	-	-1.131	2	0.375	1.000
TCE (%)	0.87 ± 0.06 ^a	0.95 ± 0.03 ^a	0.507	-	-	-1.135	2	0.374	1.000
FCA	2.83 ± 0.31 ^a	2.65 ± 0.12 ^a	0.214	-	-	0.604	2	0.607	1.000
S (%)	93.89 ± 2.22 ^a	95.56 ± 2.00 ^a	0.021	0.000	1.000	-	-	-	1.000

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.

- : no determinado

Los valores de los pesos de los organismos durante el bioensayo de cultivo de camarón blanco, se representaron en un gráfico de dispersión ajustado a una regresión exponencial, obteniendo un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9835 y una ecuación de $y = 9.3714e^{0.0618x}$, con los datos de los organismos de las UE de los SRA con FLC; y un R^2 de 0.987 y una ecuación de $y = 9.4076e^{0.0671x}$, con los datos de los organismos de las UE de los SRA con FLD (Figura 19).

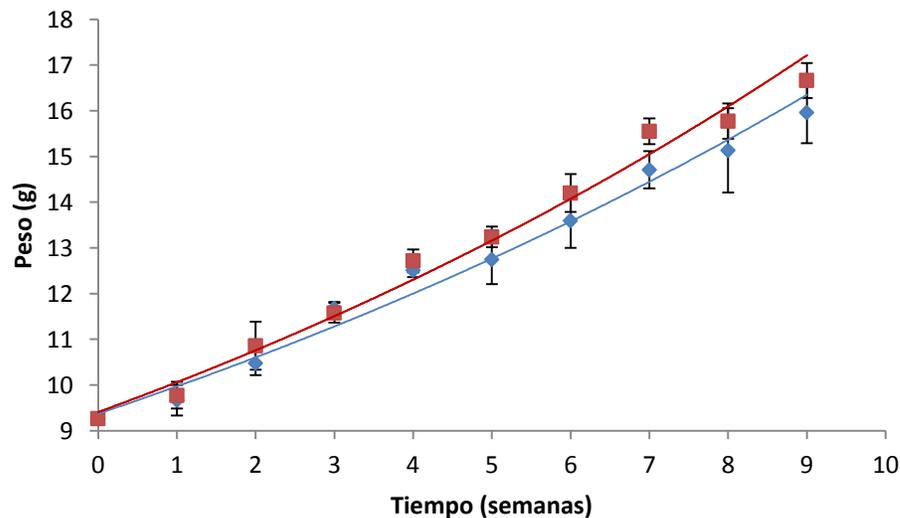


Figura 19. Valores de los pesos promedio y error estándar registrados a lo largo del bioensayo de cultivo de camarón blanco, ajustados a un modelo de regresión exponencial; los valores los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLC (azul) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 9.3714e^{0.0618x}$, y los valores de los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLD (rojo) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 9.4076e^{0.0671x}$.

Los valores de los pesos (transformados con ln) en el bioensayo de cultivo de camarón blanco se graficaron en una regresión lineal, obteniendo un R^2 de 0.987 y una ecuación de $y = 0.0671x + 2.2415$, con los datos de los organismos de las UE de los SRA con FLC; y un R^2 de 0.9835 y una ecuación de $y = 0.0618x + 2.2377$, con los datos de los organismos de las UE de los SRA con FLD (Figura 20).

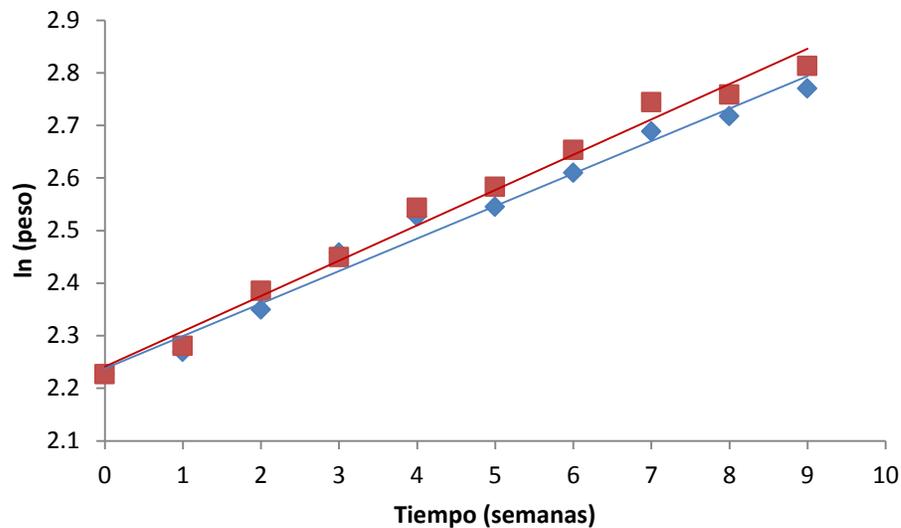


Figura 20. Valores de los pesos promedio (transformados a ln) registrados a lo largo del bioensayo de cultivo de camarón blanco, ajustados a un modelo de regresión lineal; los valores de los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLC (cuadro azul) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 0.0671x + 2.2415$, y los pesos de los camarones en las UE de los SRA con FLD (diamante rojo) obtuvieron un R^2 0.98 y una ecuación de $y = 0.0618x + 2.2377$.

Al realizar el ANCOVA no se obtuvo diferencia entre las pendientes de las curvas de crecimiento, ni entre los tratamientos ($p > 0.05$) (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de covarianza del bioensayo de cultivo de camarón blanco entre las UE de los SRA con FLC y con FLD. Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	p
Tratamiento	0.00	1	0.00	0.02	0.900
Pendientes	2.05	1	2.05	787.82	0.000
Tratamiento * repetición	0.00	1	0.00	1.49	0.228
Error	0.15	56	0.00		

Durante el bioensayo de cultivo de camarón blanco en las concentraciones de NAT, N-NO_2^- , N-NO_3^- y temperatura no se encontraron diferencias significativas entre las UE de SRA con FLC y las UE de SRA con FLD ($p > 0.05$). Las concentraciones de alcalinidad, clorofila, oxígeno, pH y sólidos suspendidos totales fueron significativamente mayores en las UE de SRA con FLC que en las UE de SRA con FLD ($p < 0.05$). En relación a los valores de salinidad, las UE de los SRA con FLD presentaron una concentración mayor respecto a las UE de los SRA con FLC, pero estos valores no presentaron una tendencia más marcada en un tratamiento más que en el otro ($p > 0.05$) (Tabla 10; Figura 21 y 22).

Tabla 10. Valores promedio y error estándar de las concentraciones de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO_2^-), nitratos (N-NO_3^-), alcalinidad (ALK), clorofila (*Ca*), oxígeno (O_2), potencial del ion hidrógeno (pH), sólidos suspendidos totales (SST), salinidad (ups) y temperatura (Temp) durante el bioensayo de cultivo de camarón blanco en las UE de los SRA con FLC y con FLD. Valor de p de la prueba de Shapiro – Wilk (S – W [p]); del valor de Z (W [Z]) y del valor de p (W [p]) de la prueba de Wilcoxon; del valor de t (T – S [t]), del valor de los grados de libertad (T – S [gl]) y del valor de p (T – S [p]) de la prueba de t – student, y del valor de p de la prueba del Signo (P – S [p]). Nivel de significancia de $p < 0.05$.

	FLC	FLD	S - W	W		T - S			P - S
			(p)	(Z)	(p)	(t)	(gl)	(p)	(Z)
NAT (mg/L)	0.30 ± 0.03 ^a	0.28 ± 0.03 ^a	0.000	1.121	0.261	-	-	-	0.376
N-NO₂⁻ (mg/L)	0.88 ± 0.11 ^a	0.89 ± 0.08 ^a	0.000	0.074	0.94	-	-	-	0.859
N-NO₃⁻ (mg/L)	1.47 ± 0.20 ^a	1.55 ± 0.16 ^a	0.001	0.972	0.330	-	-	-	0.215
ALK (mg/L CaCO₃)	158.07 ± 3.58 ^a	155.00 ± 3.60 ^b	0.000	3.953	0.000	-	-	-	0.000
Ca (mg/L)	0.03±0.00 ^a	0.01±0.00 ^b	0.011	2.520	0.011	-	-	-	0.013
O₂ (mg/L)	6.19 ± 0.06 ^a	6.21 ± 0.08 ^b	0.000	2.968	0.002	-	-	-	0.001
pH	8.05 ± 0.02 ^a	7.98 ± 0.01 ^b	0.009	4.459	0.000	-	-	-	0.000
SST (mg/L)	27.74 ± 1.83 ^a	20.25 ± 1.51 ^b	0.009	3.027	0.002	-	-	-	0.045
ups	32.16 ± 0.21 ^a	32.00 ± 0.22 ^a	0.000	2.504	0.012	-	-	-	0.098
Temp (°C)	29.75 ± 0.20 ^a	29.77 ± 0.21 ^a	0.078	-	-	-0.475	31	0.637	0.583

Letras diferentes muestran diferencia entre tratamientos.

- : no determinado

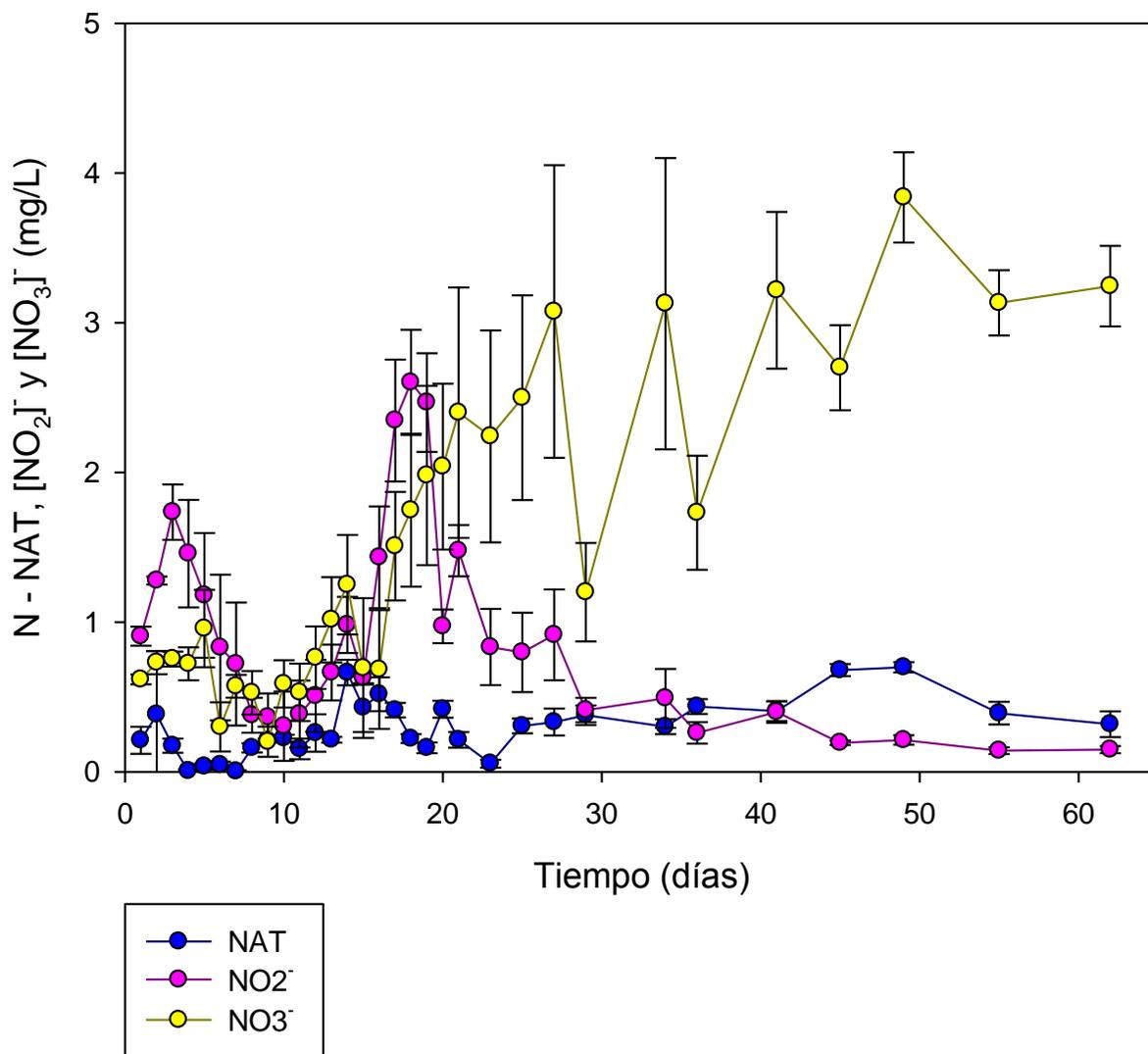


Figura 21. Concentración promedio y error estándar del nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO₂⁻) y nitratos (N-NO₃⁻) durante el bioensayo de cultivo de camarón en las UE de los SRA con el filtro de lavado continuo.

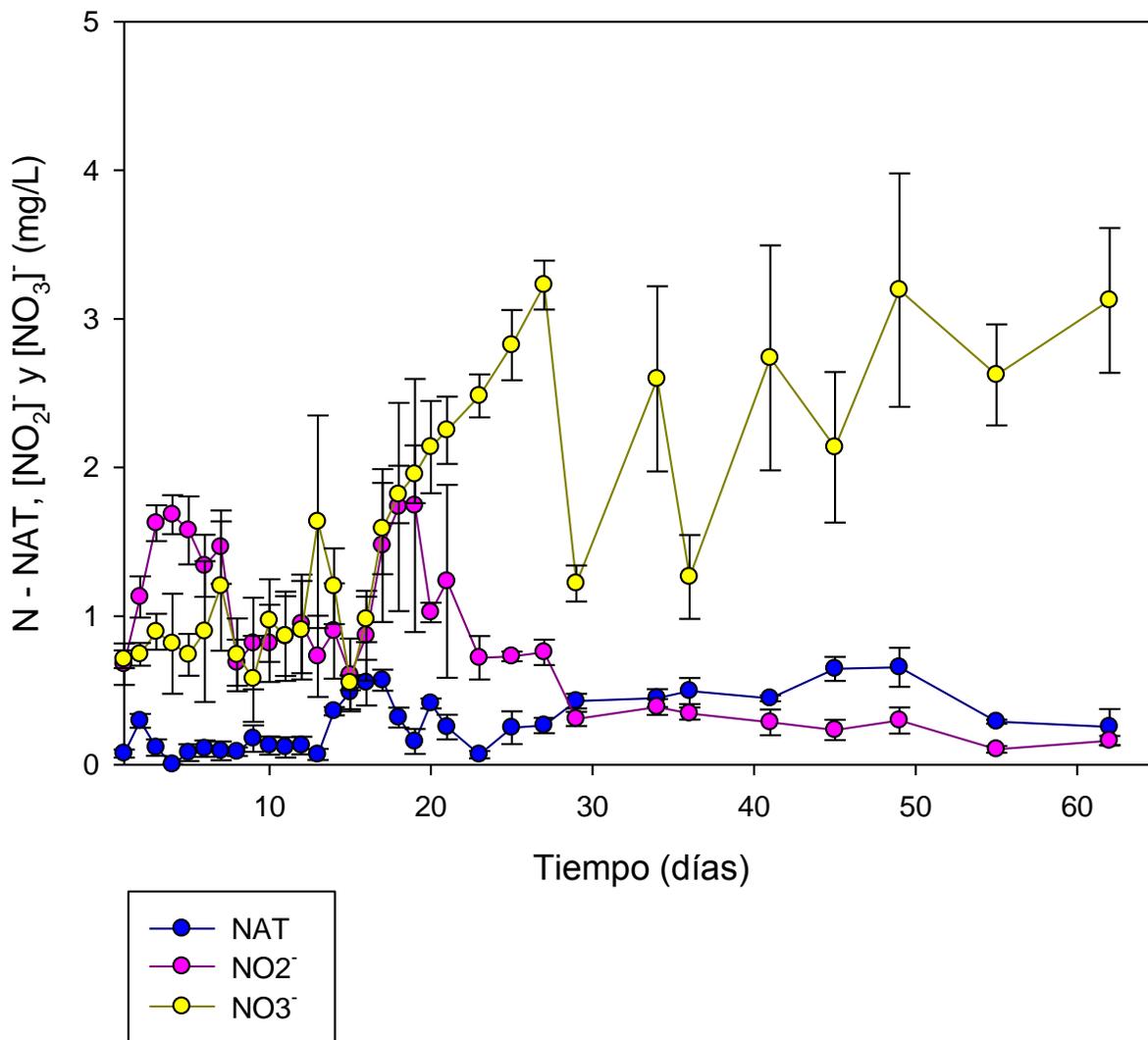


Figura 22. Concentración promedio y error estándar del nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos (N-NO₂⁻) y nitratos (N-NO₃⁻) durante el bioensayo de cultivo de camarón en las UE de los SRA con el filtro de lavado discontinuo.

Capítulo 7. Discusión

7.1 Unidades experimentales de SRA

Malone y Gudipati (2005) mencionan que la variación de la inyección de aire en un sistema de bombeo con aire es directamente proporcional a la tasa de flujo de agua y a la transferencia de gases, es decir que a menor tasa de flujo de aire (Q_a), menor tasa de flujo de agua (Q). Esto concuerda con lo observado en este trabajo, en donde la Q del tratamiento con FLC fue menor (4.59 ± 0.03 L/min) a la Q del tratamiento con FLD (4.77 ± 0.04 L/min), probablemente debido a que en las UE de los SRA con FLC, se inyectó menor cantidad de aire, lo cual también tuvo un efecto en los tiempos de retención hidráulica (TRH), que fueron de 61 minutos en las unidades experimentales con FLC y de 63 minutos en las unidades experimentales con FLD. Sin embargo, aun así estos resultados se encuentran dentro del intervalo propuesto por Timmons y Ebeling (2010) y Loo *et al.* (2013), quienes mencionan que la TRH en un SRA debe ser de 30 – 100 min , teniendo en cuenta que durante este período se realiza una efectiva remoción de los sólidos, los cuales son generados a partir de: a) alimento no digerido, b) el alimento ingerido y excretado, y c) los restos orgánicos de un cultivo (organismos muertos y desprendimiento de la bio-película de filtros y tuberías) (Losordo *et al.*, 1992).

Los valores de drenado de los sólidos y los tiempos de lavado de los filtros experimentales presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ($p < 0.05$). Esta diferencia pudo deberse a los prototipos de filtros utilizados, siendo el FLC un modelo con un mecanismo de lavado parecido al del filtro comercial POLYGEYSER™. El mecanismo de operación de este filtro es un lavado neumático que puede ser de forma automática o manual. Este lavado se realiza a partir de la inyección de aire en la cámara inferior, para luego ser liberado por medio de una tubería que se conecta con la cámara superior, donde se encuentra el sustrato. Al mismo tiempo el sustrato cambia su forma de empaçado a expandido, agitándose entre sí (los sólidos resultantes se precipitan hasta la cámara inferior). Este proceso se realiza durante la circulación continua del flujo de agua a través del compartimento del filtro, iniciando nuevos eventos de filtración o lavado de acuerdo a la velocidad de inyección de aire. Las frecuencias de lavados son independientes a las frecuencias de los drenados de sólidos, éstas últimas son controladas drásticamente, evitando la pérdida de agua asociada a este mecanismo de operación (Licamele ,2009; Timmons y Ebeling, 2010).

Por su parte, el FLD es un modelo con un mecanismo de lavado similar al filtro de cuentas plásticas de lavado de burbuja. El mecanismo de operación de este filtro consiste en la entrada de aire por medio de una válvula de retención en la parte superior externa del filtro, provocada por la apertura de una válvula de drenaje en la parte inferior externa del filtro, esto crea un efecto de succión dentro del compartimento, formando burbujas que hacen que el sustrato se agite entre sí. Este proceso de lavado se completa una vez que el filtro se drena totalmente (agua y sólidos) y el sustrato cambia de una forma de empacada a expandida, precipitándose durante esta operación. El reajuste de las válvulas a la par del ingreso del agua en el compartimento del filtro, da inicio a un nuevo evento de filtración o lavado (Sastry *et al.* 1999; Timmons y Ebeling, 2010).

A partir de las especificaciones anteriormente mencionadas, es factible argumentar que el FLC tuvo un volumen de drenado menor (debido a que éste no está asociado al evento de lavado, es decir el operador establece cuando y cuanto drenar los sólidos acumulados a partir de los lavados) y un tiempo de lavado mayor (actividad realizada a partir de la velocidad de inyección de aire suministrado dentro del filtro, de acuerdo al número de lavados que el operador haya establecido en el día). Por otra parte el FLD tuvo un volumen de drenado mayor (tomando en cuenta el volumen total del contenedor del filtro), y un tiempo de lavado menor (tiempo que se demora el contenedor del filtro en vaciarse).

7.2 Experimentos de maduración química

7.2.1 Experimento A

Para el caso de la concentración de NAT en los filtros ensayados, se observó un comportamiento similar para los dos tratamientos, el cual consistió en una disminución en la concentración de NAT a lo largo del tiempo. Esta tendencia concuerda con lo establecido por Harwanto *et al.* (2011), quienes mencionan una disminución en la concentración de NAT durante el inicio de la maduración de un filtro biológico, la cual puede deberse al crecimiento bacteriano en la superficie del sustrato y a la formación de una biopelícula con bacterias que oxidan el NAT a N-NO_2^- . Adicionalmente, debido a la metodología de mantenimiento empleada en las UE de los SRA, al lavar los filtros diariamente (lavado del sustrato), el grosor de la biopelícula pudo haber disminuido cada 24 horas, lo que también podría explicar la falta de acumulación a lo largo de este experimento de las concentraciones de N-NO_2^- y N-NO_3^- , las cuales tuvieron un

comportamiento similar entre los tratamientos, lo que posiblemente aumentó el tiempo de maduración de los filtros biológicos, teniendo en cuenta que las tasas de crecimiento para las bacterias nitrificantes van desde 26 - 60 h (Hagopian y Riley, 1998).

Respecto a los parámetros fisicoquímicos, la alcalinidad (130 – 140 mg/L), el oxígeno (5 – 6 mg/L) y la temperatura (29 – 31°C) presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). Sin embargo las concentraciones se mantuvieron dentro del intervalo adecuado para el funcionamiento de un SRA, según lo descrito por Wortman y Wheaton (1991), Masser *et al.* (1992) y Pfeiffer y Malone (2006). La salinidad en las unidades experimentales fue establecida de acuerdo al organismo de interés a cultivar, sin embargo, es un factor a considerar en el tiempo de maduración de un filtro biológico, ya que posiblemente puede aumentar el tiempo de establecimiento de las bacterias de acuerdo a lo que mencionan Gutierrez-Wing y Malone (2006) en SRA marinos.

7.2.2 Experimento B

A diferencia del experimento A, en este ensayo se evidenció una disminución de la concentración de NAT y una acumulación de la concentración $N-NO_2^-$, en los dos tratamientos. Esto pudo haber estado relacionado con el cambio de metodología de mantenimiento de las UE de los SRA, misma que se rigió en no lavar los filtros (lavado de sustrato), lo que posiblemente ayudó a incrementar las tasas de crecimiento de las bacterias que convierten el NAT a $N-NO_2^-$. Este modelo operativo coincide con lo estipulado por Delong y Losordo (2012), quienes mencionan que el asentamiento bacteriano necesita de un periodo mayor para colonizar el sustrato, sin que haya de por medio un movimiento mecánico del mismo. Sin embargo, la acumulación de $N-NO_2^-$ indica que la maduración de los filtros biológicos de las UE de los SRA con FLC y con FLD probablemente no se completó, ya que los registros de este parámetro no presentaron una tendencia a disminuir, lo que dio lugar presuntamente a una escasa oxidación de este compuesto nitrogenado hasta $N-NO_3^-$, durante los 17 días de experimento. Este resultado puede explicarse al tener en cuenta la lenta tasa de crecimiento de las bacterias que convierten el $N-NO_2^-$ a $N-NO_3^-$ (comparativamente a las bacterias oxidativas de NAT), las cuales aumentan sus poblaciones cada 60 h según lo mencionado por Hagopian y Riley (1998).

Los parámetros como la alcalinidad, salinidad y temperatura presentaron diferencias significativas entre unidades experimentales, no así el oxígeno y el pH. Los resultados de estos parámetros fisicoquímicos a

lo largo del experimento se mantuvieron dentro del intervalo adecuado para el funcionamiento de un SRA en los dos tratamientos, de acuerdo a los criterios Wortman y Wheaton, (1991), Masser *et al.* (1992) y Pfeiffer y Malone (2006) en investigaciones similares.

7.2.3 Experimento C

Transcurridos 50 días a partir de la primera adición de NAT y N-NO_2^- , no se evidenció maduración de los filtros biológicos para ninguno de los tratamientos, ya que la concentración de N-NO_2^- seguía en aumento y se estima que por esta razón no se registraba una acumulación notoria en la concentración de N-NO_3^- . A pesar de esto, el tiempo evaluado está dentro del intervalo establecido por autores como Manthe y Malone (1987), Masser *et al.* (1992), Gutierrez-Wing y Malone (2006) y Delong y Losordo (2012), quienes aseguran que la maduración química de un filtro biológico de agua marina puede variar de 10 a 120 días, teniendo en cuenta que parámetros como la salinidad, reducen el proceso de nitrificación significativamente en relación a los SRA con agua dulce (Gonzalez-Silva *et al.*, 2016).

En lo que respecta a los valores de VTR obtenidos ($287.26 \pm 81.62 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{día}$ en el FLC, y $276.30 \pm 20.86 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{día}$ en el FLD) ($p > 0.05$), éstos están dentro del intervalo propuesto por autores como Pfeiffer y Malone (2006), Kumar *et al.* (2010), Timmons y Ebeling, 2010 y Harwanto *et al.* (2011), quienes obtuvieron rendimientos de 35 a $350 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{día}$, para filtros con características similares a los empleados en el presente experimento (presurizados con sustrato de cuentas plásticas). La variación entre los datos reportados por estos investigadores y los resultados obtenidos en el presente estudio puede argumentarse de acuerdo con lo mencionado por Malone y Beecher (2000) y Summerfelt (1998), quienes aseveran que factores como la ingeniería de diseño, la metodología de manejo y operación, la capacidad de carga (producción de NAT a partir de la cantidad de alimento) y la mecánica de fluidos tienen gran influencia en la determinación de este parámetro. Gomoh - Saidu (2009), por su parte, evidenció que los valores de VTR en filtros biológicos en SRA pueden estar directamente relacionados con la temperatura, es decir, VTR más altos a temperaturas altas (dentro del intervalo de temperaturas recomendadas para la nitrificación y en función del metabolismo bacteriano). Esto pudo generar que los valores de VTR obtenidos en este experimento fueran cercanos al límite superior establecido ($350 \text{ g}\cdot\text{NAT}/\text{m}^3\cdot\text{día}$), ya que las temperaturas empleadas en el cultivo fueron de $29^\circ\text{C} - 30^\circ\text{C}$. Además, se estima que los procesos de nitrificación *in situ*, que muy posiblemente se pudieron dar en las tuberías y en los tanques de cultivo de las UE de los SRA con FLC y FLD, contribuyeron a incrementar los valores de VTR en los filtros evaluados. Esto concuerda con lo sugerido por De los Reyes y Malone (1996), quienes

reportaron que hasta un 60% del total de la nitrificación en un SRA, puede llevarse a cabo fuera del filtro biológico (en los demás componentes de sistema).

7.3 Bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*)

Los valores de los pesos promedio no presentaron una tendencia más común en un tratamiento respecto al otro ($p > 0.05$), así mismo las pendientes de las curvas de crecimiento tampoco mostraron diferencias entre las UE de los SRA con FLC y con FLD ($p > 0.05$). Los porcentajes de supervivencia ($> 90\%$ en cada tratamiento) reportados en el bioensayo de cultivo de camarón blanco no presentaron diferencias entre los tratamientos ($p > 0.05$). Estos resultados pueden atribuirse a que los parámetros de calidad de agua fueron similares en cada tratamiento (alcalinidad, clorofila, oxígeno disuelto, pH, salinidad, sólidos suspendidos totales y temperatura), y a que se mantuvieron dentro de las concentraciones adecuadas durante el cultivo de la especie de interés, lo cual concuerda con lo reportado por Lawson (1995) y Lekang (2007).

Por otro lado, los valores de FCA (FLC = 2.83, FLD = 2.65) y de TCE (FLC = 0.87%, FLD = 0.95%) fueron diferentes a los reportados por Williams *et al.* (2005), Oujifard *et al.* (2012) y Ekasari *et al.* (2014), que obtuvieron resultados de FCA de 1.48, 1.14 y 1.41, y de TCE de 1.68%, 1.63% y 3.24%, respectivamente. Las diferencias encontradas con los trabajos mencionados anteriormente, pudieron deberse a las densidades de cultivo y a la cantidad de proteína cruda suministrada en el alimento, las cuales varían a las empleadas en el presente estudio. En cuanto al primer factor, los autores anteriormente mencionados emplearon densidades de cultivo de 8 a 83 organismos por m^2 , mientras que en el presente estudio se emplearon densidades de 120 organismos por m^2 . Este resultado concuerda con lo aseverado por Rahman *et al.* (2009) y Rajaa *et al.* (2015), quienes observaron que las densidades altas de cultivo se considerarían como un factor fisiológico limitante, que intervendría en la alimentación, el comportamiento y el crecimiento de los organismos. Sin embargo, el incremento de las densidades de cultivo se ha planteado como una opción para generar menos impactos ambientales a partir del bajo consumo de agua y la disminución del volumen de descargas de aguas residuales acuícolas (Wasiolesky *et al.*, 2006; Crab *et al.*, 2007). Respecto a la cantidad de proteína cruda reportada por Williams *et al.* (2005), Oujifard *et al.* (2012) y Ekasari *et al.* (2014), suministrada en sus experimentos de nutrición fue mayor (36% a 44%), a la empleada en el presente experimento (35%). De acuerdo a Wu *et al.* (2012) y Xie *et al.* (2014), entre mayor y más completa sea la cantidad de aminoácidos esenciales y no esenciales

adicionados en la dieta, mejor será la contribución al mantenimiento de las rutas metabólicas, a la inmunidad y al consumo de alimento, y a los factores que influyen en el crecimiento de los organismos.

En relación a la maduración de los filtros, se estimó que a los 28 días del bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*), es decir, a los 78 días del inicio del proceso de maduración química de los filtros, las concentraciones de NAT y N-NO_2^- fueron menores a 0.5 mg/L. Esto coincide con lo establecido por Gutierrez-Wing y Malone (2006), quienes mencionan que los filtros en SRA marinos pueden tardar hasta 120 días para madurar y realizar completo el proceso de nitrificación.

Respecto a los compuestos nitrogenados, las concentraciones de NAT fueron < 0.4 mg/L, y de acuerdo a la tabla de concentraciones de NAT en relación al pH y a la temperatura propuesta por Willingham (1976), correspondería a concentraciones de $\text{NH}_3 < 0.04$ mg/L. Estos resultados se encuentran muy por debajo de las concentraciones efectivas (> 0.35 mg/L NH_3) y las concentraciones letales (20 mg/L NH_3) para camarón blanco (Chang *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2016). En cuanto a las concentraciones de N-NO_2^- , estas no tuvieron una influencia negativa sobre el cultivo de camarón blanco, debido a que las concentraciones ≥ 20 mg/L y letales (30 – 40 mg/L) reportadas para esta especie por Frías y Páez (2001) y Guo *et al.* (2016), están fuera del intervalo de las concentraciones experimentales registradas en este trabajo, las cuales tuvieron un registro < 1 mg/L. Las concentraciones promedio de N-NO_3^- , fueron < 2 mg/L en las UE de los SRA con FLC y con FLD, durante los 62 días de experimentación. Esto sugiere que las concentraciones de este compuesto nitrogenado tampoco causaron efectos negativos en crecimiento de camarón blanco, ya que autores como Kuhn *et al.* (2010), establecen que concentraciones de $\text{N-NO}_3^- \geq 220$ mg/L, disminuyen la tasa de crecimiento y la supervivencia en el cultivo de camarón blanco.

En el presente estudio se demostró que se pudo diseñar y construir un filtro biológico con una remoción de NAT (VTR) dentro de los intervalos establecidos para el uso en un SRA. También se estimó que la maduración química de estos filtros en un cultivo con agua de mar, requirieron un tiempo aproximado de 78 días. Además se evaluó la eficiencia de los filtros a partir de un bioensayo de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) con una supervivencia mayor a 90%, en donde a lo largo de 9 semanas se observaron concentraciones de NAT y N-NO_2^- menores a 1 mg/L. Por lo anterior, con base en el crecimiento y supervivencia de camarón blanco, y el VTR de los filtros de lavado continuo (FLC) y discontinuo (FLD), se puede sugerir el uso de este tipo de filtros como unidades experimentales en SRA.

Capítulo 8. Conclusiones

- Los 50 días de experimentación para la maduración química realizada en las UE de los SRA con FLC y con FLD no fue suficiente para alcanzar la maduración de los filtros biológicos.
- La maduración total de los filtros en las UE de los SRA con FLC y con FLD se completó hasta los 78 días de operación.
- La remoción de NAT en función de los valores de VTR en las UE de los SRA con FLC y con FLD, establecen que los filtros biológicos experimentales tienen una capacidad similar de remoción de NAT dentro de los intervalos reportados en la literatura.
- Las concentraciones de los parámetros como la alcalinidad, oxígeno, pH, temperatura, clorofila y sólidos suspendidos totales se encontraron dentro de los intervalos adecuados para el experimento de maduración química, y no fueron limitantes para ocasionar una inhibición del crecimiento de las bacterias nitrificantes.
- Las concentraciones de los parámetros como la alcalinidad, oxígeno, pH, temperatura, clorofila y sólidos suspendidos totales se encontraron dentro de los intervalos adecuados para el bioensayo de cultivo de camarón blanco.
- El crecimiento de los organismos en el bioensayo de cultivo de camarón blanco no fue diferente entre los tratamientos, por lo que los sistemas con FLC y FLD tienden a tener una eficiencia estadísticamente similar.

Capítulo 9. Recomendaciones

Evaluar el tiempo de maduración y la eficiencia de filtros de similares volúmenes a los experimentados con diferente diseño, como los filtros de cama dinámica y de lecho fluidizado.

Evaluar la carga máxima de remoción de NAT (mg/L) durante un cultivo experimental, para implementar una propuesta de las UE de los SRA con FLC y con FLD, como una opción de sistemas cultivo para la acuicultura urbana.

Iniciar con camarones de talla más pequeña (post-larva 17) para evaluar el tiempo de crecimiento y la calidad de agua con diferentes densidades en las unidades experimentales de los SRA con FLC y con FLD.

Literatura citada

- American Public Health Association, American Water Works Association, and Federation, W. E. (1995). Standard methods for the examination of water and wastewater. (M. Franson, Ed.) (19th ed.). USA.
- Arredondo, J., Valdivia, R., Hernández, L., y Campos, R. (1996). Evaluación del crecimiento, factor de conversión y calidad del agua del cultivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en un sistema cerrado. *Hidrobiológica*, 6(1-2), 59-65.
- Blackburne, R., Vadivelu, V. M., and Yuan, Z. (2007). Determination of growth rate and yield of nitrifying bacteria by measuring carbon dioxide uptake rate. *Water Environment Research*, 79(12), 2437-2445. doi: 10.2175/106143007X212139
- Brazil, B. L. (2006). Performance and operation of a rotating biological contactor in a tilapia recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 261-274. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.06.005
- Brett, J. R. (1971). Satiation time, and maximum food intake of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 28, 409-415. doi: 10.1139/f71-053
- Cabrera, J., y Aznay, G. (2011). Optimización del procedimiento del cálculo del alimento en estanques de engorde para la eficiencia del cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en Cuba. *Revista electrónica de Veterinaria*, 12(4).
- Castro, W., Zielinski, P., and Sandifer, P. (1975). Performance characteristics of air lift pumps of short length and small diameter. *Journal of the World Aquaculture Society*, 6(1-4), 451-461.
- Chang, Z. W., Chiang, P. C., Cheng, W., and Chang, C. C. (2015). Impact of ammonia exposure on coagulation in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 118, 98-102. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.04.019
- Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA). (2013). Anuario estadístico de acuicultura y pesca. Mazatlán, Sinaloa - México. Consultado el 27 de octubre del 2016, de <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>.
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., and Verstraete, W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 270(1-4), 1-14. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.006
- Daniel, W., and Cross, C. (2013). Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences (Tenth edit.). United States of America.
- De los Reyes, A., and Malone, R. (1996). Design and evaluation of a commercial-scale paddle-washed floating bead filter.pdf. *Aquacultural Engineering*, 1, 183-195.
- Dean, A. (1990). Water and wastewater examination manual. Michigan-USA: Lewis Publishers INC.
- Delong, D. P., and Losordo, T. M. (2012). How to Start a Biofilter. *Southern Regional Aquaculture Center*, 4502(3), 1 - 4.

- Ekasari, J., Azhar, M., Surawidjaja, E., Nuryati, S., De Schryver, P., and Bossier, P. (2014). Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish and Shellfish Immunology*, *41*, 332-339.
- EPA. (1993). Manual: Nitrogen Control. Washington - USA. doi: EPA/625/R-93/010
- FAO. (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma - Italia. Consultado el 27 de octubre del 2016, de <http://www.fao.org/3/a-i3720s/index.html> \n <http://www.fao.org/3/7870db4d-2558-4714-9c56-0cf49f010f3e/i3720s.pdf> \n <http://www.fao.org/fishery/sofia/es>
- Frías, M., y Páez, F. (2001). Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones. *Camaronicultura y Medio Ambiente*. México.
- Fry, J. C. (1993). Biological data analysis: a practical approach. (U. O. Press, Ed.). New York - USA: IRL Press at Oxford University Press.
- Gómez, M., Danglot, C., y Vega, L. (2013). Cómo seleccionar una prueba estadística. *Revista mexicana de pediatría*, *80*(2), 81-85.
- Gomoh - Saidu, M. M. (2009). Temperature impact on nitrification and bacterial growth kinetics in acclimating recirculating aquaculture systems biofilters. Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Gonzalez-Silva, B. M., Jonassen, K. R., Bakke, I., Østgaard, K., and Vadstein, O. (2016). Nitrification at different salinities: Biofilm community composition and physiological plasticity. *Water Research*, *95*, 48-58. doi: 10.1016/j.watres.2016.02.050
- Greiner, A. D., and Timmons, M. B. (1998). Evaluation of the nitrification rates of microbead and trickling filters in an intensive recirculating tilapia production facility. *Aquacultural Engineering*, *18*, 189-200. doi: 10.1016/S0144-8609(98)00030-2
- Guo, H., Xian, J.-A., and Wang, A.-L. (2016). Analysis of digital gene expression profiling in hemocytes of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under nitrite stress. *Fish and Shellfish Immunology*, *56*, 1-11. doi: 10.1016/j.fsi.2016.06.059
- Gutierrez-Wing, M. T., and Malone, R. F. (2006). Biological filters in aquaculture: trends and research directions for freshwater and marine applications. *Aquacultural Engineering*, *34*(3), 163-171. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.08.003
- Hagopian, D. S., and Riley, J. G. (1998). A closer look at the bacteriology of nitrification. *Aquacultural Engineering*, *18*(4), 223-244. doi: 10.1016/S0144-8609(98)00032-6
- Harwanto, D., Oh, S., Park, H., and Jo, J. (2011). Performance of three different biofilter media in laboratory-scale recirculating systems for red seabream *Pagrus major* culture. *Fisheries and Aquatic Sciences*, *14*(November), 371-378.
- Hernández-López, J., and Vargas-Albores, F. (2003). A microplate technique to quantify nutrients. *Aquaculture Research*, *34*, 1201-1204.
- Jensen, J. W. (1985). The potential growth of salmonids. *Aquaculture*, *48*(3-4), 223-231. doi: 10.1016/0044-8486(85)90126-7

- Kuhn, D. D., Smith, S. A., Boardman, G. D., Angier, M. W., Marsh, L., and Flick, G. J. (2010). Chronic toxicity of nitrate to pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309(1-4), 109-114. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.014
- Kumar, R., Achuthan, C., Manju, N. J., Philip, R., and Bright Singh, I. S. (2009). Mass production of nitrifying bacterial consortia for the rapid establishment of nitrification in saline recirculating aquaculture systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(3), 407-414. doi: 10.1007/s11274-008-9905-1
- Kumar, V. J. R., Joseph, V., Philip, R., and Singh, I. S. B. (2010). Nitrification in brackish water recirculating aquaculture system integrated with activated packed bed bioreactor. *Water Science and Technology*, 61(3), 797-805. doi: 10.2166/wst.2010.849
- Lawson, T. B. (1995). *Fundamentals of Aquacultural Engineering*. Boston, MA: Springer US. doi: 10.1007/978-1-4613-0479-1_1
- Lekang, O. I. (2007). *Aquaculture Engineering*. United Kingdom: Blackwell publishing. doi: 10.1002/9780470995945
- Lekang, O. I., and Kleppe, H. (2000). Efficiency of nitrification in trickling filters using different filter media. *Aquacultural Engineering*, 21, 181-199. doi: 10.1016/S0144-8609(99)00032-1
- Liang, Z., Liu, R., Zhao, D., Wang, L., Sun, M., Wang, M., and Song, L. (2016). Ammonia exposure induces oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in hepatopancreas of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish and Shellfish Immunology*, 54, 523-528. doi: 10.1016/j.fsi.2016.05.009
- Libey, G., and Timmons, M. (1998). *Proceedings of the second international conference on recirculating aquaculture*. Roanoke, Virginia - USA: Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Licamele, J. (2009). Biomass production and nutrient dynamics in an aquaponics system by in partial fulfillment of the requirements for the degree of in the graduate college. The University of Arizona.
- Loo, J., Tang, P., Tan, Y., and Wong, C. (2013). The design of a culture tank in an automated recirculating aquaculture system. *International Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2(2).
- Losordo, M., Masser, M., and Rakocy, J. (1992). Recirculating aquaculture tank production systems (an overview of critical considerations). *Southern Regional Aquaculture Center*, 451, 1-7
- Losordo, T., Rackocy, J., and Masser, M. (1992). Recirculating Aquaculture Tank Production Systems. *Southern Regional Aquaculture Center*, 454, 1-7.
- Loyless, J., and Malone, R. (1997). A sodium bicarbonate dosing methodology for pH management. *The Progressive Fish - Culturist*, 59, 198-205.
- Malone, R. (1999). Recirculating aquaculture tank production systems: a review of component options. *Southern Regional Aquaculture Center* 453, 1-12.
- Malone, R., and Beecher, L. (2000). Use of floating bead filters to recondition recirculating waters in warmwater aquaculture production systems. *Aquaculture Engineering*, 22, 57-73. doi: 10.1016/S0144-8609(00)00032-7

- Malone, R. F., and Gudipati, S. (2005). Airlift-polygeyser combination facilitates decentralized water treatment in recirculating marine hatchery systems. Department of Civil and Environmental Engineering (pp. 1-14). San Diego - California.
- Manthe, D. P., and Malone, R. F. (1987). Chemical addition for accelerated biological filter acclimation in closed blue crab shedding systems. *Aquacultural Engineering*, 6(3), 227-236. doi: 10.1016/0144-8609(87)90006-9
- Masser, M. P., Rakocy, J., and Losordo, T. M. (1992). Recirculating aquaculture tank production systems management of recirculating systems. *Southern Regional Aquaculture Center*, 452, 1-12. doi: 10.1016/S0002-8223(99)00856-1
- Mishra, J., Samocha, T., Patnaik, S., Speed, M., Gandy, R., and Abdul-Mehdi, A. (2008). Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. *Aquaculture Engineering*, 38, 2-15.
- Molleda, M. I. (2008). Water quality in recirculating aquaculture systems (ras) for arctic charr (*Salvelinus alpinus*) culture . *The United Nation University, Fisheries Training Programme*. La Habana - Cuba.
- Otoshi, C., Arce, S., and Moss, S. (2003). Growth and reproductive performance of broodstock shrimp reared in a biosecure recirculating aquaculture system versus a flow-through pond. *Aquaculture Engineering*, 29, 93-107.
- Oujifard, A., Seyfabadi, J., Kenari, A., and Rezaei, M. (2012). Growth and apparent digestibility of nutrients, fatty acids and amino acids in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with rice protein concentrate as total and partial replacement of fish meal. *Aquaculture*, 342-343, 56-51.
- Parsons, C., Maita, Y., and Lalli, C. (1989). A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Great Britain: Pergamon Press.
- 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, 311-321. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.09.003
- Rahman, M., Hossain, Y., Jo, Q., Kim, S.-K., Ohtomi, J., and Meyer, C. (2009). Ontogenetic shift in dietary preference and low dietary overlap in rohu (*Labeo rohita*) and common carp (*Cyprinus carpio*) in semi-intensive polyculture ponds. *Ichthyological Research*, 56, 28-36.
- Rajaa, K., Rahmanb, M., Rajkumar, M., Gopalakrishnana, A., and Vijayakumar, R. (2015). Effect of ingestion and waterborne routes under different shrimp densities on white spot syndrome virus susceptibility in three commercially important penaeid shrimps. *Aquaculture Reports*, 2, 120-125.
- Rakocy, J. E., Masser, M. P., and Losordo, T. M. (2006). Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics- integrating fish and plant culture. *Southern Regional Aquaculture Center*, 454, 1-16.
- Reinemann, D. J., and Timmons, M. B. (1989). Prediction of oxygen transfer and total dissolved gas pressure in airlift pumping. *Aquacultural Engineering*, 8, 29-46.
- Ridha, M. T., and Cruz, E. M. (2001). Effect of biofilter media on water quality and biological performance of the Nile tilapia reared in a simple recirculating system. *Science*, 24, 157- 166.

- Rivera, C., Zapata, Á., Pinilla, G., Donato, J., Chaparro, B., y Jiménez, P. (2005). Comparación de la estimación de la clorofila-a mediante los métodos espectrofotométrico y fluorométrico. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 95-103.
- Rossi Rolim, G. M. (2010). Crecimiento y tasa de ingestión de alimento de juveniles de cabrilla sardinera (*Mycteroperca rosacea*) bajo diferentes densidades de cultivo. CIBNOR.
- Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenes, Y., and Lygren, E. (2006). Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 322-331. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.04.002
- Sandu, S. I., Boardman, G. D., Watten, B. J., and Brazil, B. L. (2002). Factors influencing the nitrification efficiency of fluidized bed filter with a plastic bead medium. *Aquacultural Engineering*, 26, 41-59. doi: 10.1016/S0144-8609(02)00003-1
- Sastry, B. N., Delosreyes, A. A., Rusch, K. A., and Malone, R. F. (1999). Nitrification performance of a bubble-washed bead filter for combined solids removal and biological filtration in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 19(2), 105-117. doi: 10.1016/S0144-8609(98)00045-4
- Stickney, R. (2000). *Encyclopedia of aquaculture*. Texas, USA: John Wiley and Sons, Inc.
- Summerfelt, S. T. (2006). Design and management of conventional fluidized-sand biofilters. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 275-302. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.08.010
- Timmons, M. B., Holder, J. L., and Ebeling, J. M. (2006). Application of microbead biological filters. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 332-343. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.07.003
- Timmons, M. B., Summerfelt, S. T., and Vinci, B. J. (1998). Review of circular tank technology and management. *Aquacultural Engineering*, 18(1), 51-69. doi: 10.1016/S0144-8609(98)00023-5
- Timmons, M., and Ebeling, J. (2010). *Recirculating Aquaculture*. (Cayuga Aqua Ventures, Ed.) (Second.). New York - USA.
- Uemoto, H., Shoji, T., and Uchida, S. (2014). Biological filter capable of simultaneous nitrification and denitrification for aquatic habitat in international space station. *Life Sciences in Space Research*, 1(1), 89-95. doi: 10.1016/j.lssr.2014.02.002
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., and Browdy, C. L. (2006). Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, 258, 396-403. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.030
- Williams, K., Smith, D., Barclay, M., Tabrett, S., and Riding, G. (2005). Evidence of a growth factor in some crustacean-based feed ingredients in diets for the giant tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 250, 377 - 390.
- Willingham, W. (1976). Ammonia toxicity. (EPA, Ed.). Denver, Colorado - USA.
- Wortman, B., and Wheaton, F. (1991). Temperature effects on biofilm nitrification. *Aquacultural Engineering*, 10(3), 183-205. doi: 10.1016/0144-8609(91)90023-D

- Wu, G., Zhang, L., Li, T., Lopaschuk, G., Vance, D. E., and Jacobs, R. L. (2012). Choline deficiency attenuates body weight gain and improves glucose tolerance in ob/ob mice. *Journal of Obesity*, 2012. doi: 10.1155/2012/319172
- Wurts, W. a, Mcneill, S. G., and Overhults, D. G. (1994). Performance and design characteristics of airlift pumps for field applications. *World Aquaculture*, 25(December), 51-55.
- Xie, S., Tian, L., Jin, Y., Yang, H., Liang, G., and Liu, Y. (2014). Effect of glycine supplementation on growth performance, body composition and salinity stress of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* fed low fishmeal diet. *Aquaculture*, 418-419, 159-164.