ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Marítima y Ciencias del Mar

"Diseño de un protocolo efectivo para la maduración y manejo de biofiltros para sistemas de recirculación en acuicultura en CENAIM"

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniería en Acuicultura

Presentado por:
Shirley Moreno
Víctor Arámbulo

Tutor
Msc. Kleber Herrera

GUAYAQUIL - ECUADOR
Año: 2020

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

College of Engineering in Maritime and Marine Sciences

" Design of an effective protocol for the maturation and handling of biofilters for recirculation systems in aquaculture at CENAIM "

INTEGRATING PROJECT

Prior to obtaining the Title of:

Aquaculture Engineering

By:

Shirley Moreno

Víctor Arámbulo

Tutor

Msc. Kleber Herrera

GUAYAQUIL - ECUADOR

2020

DEDICATORIA

El presente proyecto va dedicado a Dios, quien como guía estuvo presente en el caminar de nuestras vidas, bendiciéndonos y dándonos fuerzas para continuar con nuestras metas trazadas sin desfallecer. A nuestros padres que, con apoyo incondicional, amor y confianza permitieron que logremos culminar nuestra carrera profesional.

A nuestros hijos pilar fundamental en la consecución de las metas trazadas.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo agradecemos a Dios por ser nuestro guía y acompañarnos en el transcurso de nuestras vidas, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito nuestras metas propuestas.

A nuestros padres por ser el pilar fundamental y habernos apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron.

Agradezco a Master Wilfrido Arguello quien con su experiencia, conocimiento y motivación nos orientó en la investigación, por sus consejos, enseñanzas y a nuestro tutor Doctor Kleber Herrera quien de manera incondicional nos guió y apoyo en todo momento.

Agradezco a los docentes que con su sabiduría y conocimiento, motivaron a nuestro desarrollo como personas y profesionales en la Escuela Superior Politécnica del Litoral.

DECLARACIÓN EXPRESA

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Shirley Lorena Moreno Soriano y Víctor Flavio Arámbulo Noboa y damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público e la producción intelectual"

Shirley L. Moreno Soriano

Víctor F. Arámbulo Noboa

EVALUADORES

Firmado electrónicamente por:
WILFRIDO ERNESTO
ARGUELLO GUEVARA

Dr. Wilfrido Arguello

PROFESOR DE LA MATERIA

M. Sc Kleber Herrera

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

El CENAIM está implementando un sistema de recirculación para la acuicultura (SRA) con la finalidad de controlar mejor los parámetros del agua de cultivo y reducir el agua de recambio en todas sus áreas de experimentación.

En el biofiltro, componente del SRA encargado de la filtración biológica, el establecimiento y desarrollo de las bacterias nitrificantes, el tiempo de maduración, es lento debido a su baja tasa de crecimiento existiendo variantes en la forma de alcanzar esta condición. Por ello una estrategia para fomentar el crecimiento de la población y la oxidación del amonio para mantener la calidad de agua es necesaria considerando el ambiente de cultivo.

La propuesta consistió en el enriquecimiento del agua de cultivo con cloruro de amonio como nutriente para las Nitrosomonas y Nitrobacter y bicarbonato de sodio como medio para alcanzar la alcalinidad óptima para el crecimiento, antes de la siembra de los organismos de cultivo.

De la revisión de la información se concluyó que mientras más adaptadas a las condiciones del cultivo estén las bacterias nitrificantes mejor será su respuesta a la filtración de nitrógeno amoniacal total en el sistema, por ello promover el crecimiento de bacterias nativas es la primera opción, y el uso de bacterias nitrificantes aisladas para uso comercial complementará la nitrificación.

El hecho de no poder contar con el desarrollo experimental de la propuesta no permitió precisarla en cuanto tiempo de maduración y los parámetros físicos y químicos del agua asociados a este periodo.

Palabras clave: Sistema de recirculación para acuicultura, Nitrificación, Biofiltro, sustrato portador.

ABSTRACT

The National Center for Aquaculture and Marine Research CENAIM is implementing a Recirculation System for Aquaculture SRA in order to control better the parameters of the culture water and reduce the replacement water in all its areas of experimentation.

In the biofilter, a component of the SRA in charge of biological filtration, the establishment and development of nitrifying bacteria; the maturation time, it is slow due to its low growth rate and there are variants in the way of reaching this condition. Therefore, a strategy to promote population growth and ammonium oxidation to maintain water quality is necessary considering the growing environment.

The proposal consisted in the enrichment of the culture water with ammonium chloride as a nutrient for Nitrosomonas and Nitrobacter and sodium bicarbonate as a means to reach the optimum alkalinity for growth, before sowing the culture organisms.

From the review of the information it can be concluded that the more adapted to the conditions of cultivation are the nitrifying bacteria the better their response to total ammonia nitrogen filtration in the system, therefore promoting the growth of native bacteria is the first option, and the use of nitrifying bacteria isolated for commercial use will complement nitrification.

The fact of not being able to count on the experimental development of the proposal did not allow to specify it in terms of maturation time and the physical and chemical parameters of the water associated with this period.

Keywords: Recirculating aquaculture system, Nitrification, Biofilter, carrier substrate

Índice General

EVALUADORES IV
RESUMEN V
ABSTRACT VI
ABREVIATURAS IX
ÍNDICE DE FIGURAS XI
ÍNDICE DE TABLAS XII
CAPÍTULO 1 1
1. INTRODUCCIÓN 1
1.1 Descripción del problema. 1
1.2 Justificación. 2
1.3 Objetivo. 2
1.3.1 Objetivo General. 2
1.3.2 Objetivos Específicos. 2
1.4 Marco Teórico. 3
1.4.1 Funcionamiento de los SRA. 3
1.4.2 Calidad de agua en un SRA. 4
1.4.3 Filtros biológicos. 5
1.4.4 Tipos de Biofiltros. 6
1.5 Biofiltración. 7
1.5.1 Población de bacterias en el Biofiltro. 7
1.5.2 Nitrificación biológica 8
1.5.3 Activación del biofiltro 9
CAPÍTULO 2 11
2 Metodología. 11
2.1 Area de estudio. 11
2.2 Criterio de siembra de organismos a cultivar para la maduración del biofiltro 13
2.2.1 Cálculo de la capacidad de filtración del MBBR en el sistema. 14
2.2.2 Cálculo de eficiencia del sistema: 17
2.2.3 Maduración previa del sustrato portador. 18
2.3 Control de parámetros de calidad de agua 18
2.4 Introducción de bacterias nitrificantes. 20

2.5 Tiempo de maduración. 20
CAPÍTULO 3 22
3 RESULTADOS Y ANÁLISIS 22
3.1 Propuesta del protocolo para la maduración y manejo de biofiltros en CENAIM. 22
CAPÍTULO 4 25
4 Conclusiones y recomendaciones 25
4.1 Conclusiones 25
4.2 Recomendaciones. 26
Bibliografía 28

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas
SRA	Sistemas de Recirculación para Acuicultura
NAT	Nitrógeno Amoniacal Total
MBBR	Moving Bed Biofilm Reactor

SIMBOLOGÍA

mg	Miligramo
pH	Potencial de Hidrógeno
m	Metro
CO_2	Dióxido de Carbono
ppm	Partes por millón
m^3	Metros cúbicos
g	Gramos
m^2	Metros cuadrados
NH_3^-	Amonio no ionizado
NO_2^-	Nitrito
NO_3^-	Nitrato
mg/l	Miligramos por litro
NH_4^+	Amonio ionizado
CO_3^{2-}	Carbonato
HCO_3^-	Bicarbonato
$NaHCO_3$	Bicarbonato de sodio
Kg	Kilogramo
l/min.	Litros por minuto

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Unidades de operaciones de un SRA. 3
Figura 1.2 Acumulación de residuos nitrogenados. 5
Figura 1.3 Reacción de Nitrificación 5
Figura 1.4 Principio de los Moving Bed Biofilm reactor (MBBR) 7
Figura 1.5 Comportamiento de un biofiltro en proceso de activación. 10
Figura 2.1 Tanques de 500 l 11
Figura 2.2 Tanques de 2000 l 12
Figura 2.3 Maduración-reproducción con 6 tanques de 16000 l 12
Figura 2.4 Reproductores 2 tanques de 60 toneladas. 12
Figura 2.5 Área de experimentación SRA en CENAIM 12

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Tanques de biofiltro por área de cultivo en CENAIM 13
Tabla 2.2 Capacidad de los tanques del área de cultivo y densidad de siembra 15
Tabla 2.3 Parámetros más importantes del agua de mar 19
Tabla 2.4 Parámetros físicos químicos del agua de cultivo 19
Tabla 2.5 Bacterias nitrificantes 20

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

El CENAIM en su departamento de Pisicultura está implementando un laboratorio de producción de larvas, juveniles y mantenimiento de reproductores bajo un esquema de sistemas de recirculación, con el fin de mantener un mejor control sobre la calidad del agua. Hasta el momento, se utilizan sistemas abiertos, existiendo dificultades para controlar los parámetros de cultivo y mantenerlos estables. Así mismo el sector acuícola está interesado en intensificar sus producciones sin detrimento de la calidad de sus productos y en concordancia con los parámetros para una producción amigable con el ambiente, por lo que en la actualidad se direccionan los esfuerzos y recursos hacia el uso de los Sistemas de Recirculación para la Acuicultura (SRA). Ello se debe en gran parte a las ventajas que presentan como, por ejemplo, mejor aprovechamiento del espacio, ahorro de agua, gestión de residuos o la capacidad de controlar las variables que determinan la calidad del agua (Timmons, 2004).

El principio de la recirculación se basa en la reutilización del agua de los tanques de cultivo, tras pasar por un proceso de filtración mecánica, en el que los sólidos en suspensión son eliminados, y además por una filtración biológica que convierte el amoniaco (tóxico) en nitritos y nitratos mediante la nitrificación (Olaya, C; Hurtado-Giraldo, 2016). En este último caso, los biofiltro cumplen la función de remover el nitrógeno amoniacal (NH4+) por medio de la nitrificación.

1.1 Descripción del problema.

El CENAIM tiene un nuevo edificio para futuras experimentaciones con peces marinos bajo un sistema completo de recirculación de agua (SRA). Los SRA’s permiten que los cultivos se desarrollen bajo condiciones óptimas en términos de calidad de agua y equilibrio de los niveles de los compuestos nitrogenados. Uno de los principales problemas de los SRA’s es determinar el momento adecuado para el inicio del funcionamiento del sistema a través de la maduración de los biofiltros y su

posterior manejo. Puesto que, en un cultivo de peces marinos se adicionan alimentos vivos (zooplancton y otros peces pelágicos), alimento seco y se producen excretas de los organismos, todo esto añade compuestos nitrogenados al agua de cultivo que en desequilibrio pueden causar toxicidad y por ende la mortalidad de los animales (Timmons, 2004).

1.2 Justificación.

Dado que el CENAIM contará con tanques de diferentes capacidades y diferentes protocolos para el cultivo de peces en todas sus fases (reproductores, larvas y juveniles). En este proyecto se espera obtener un protocolo de maduración y manejo de biofiltros que sea aplicable a los sistemas de recirculación de CENAIM. Además, que permitan estimar el punto de equilibrio entre los compuestos nitrogenados y la población bacteriana de los biofiltros para determinar el momento adecuado para el inicio de cada cultivo. Con esto, se espera que se reduzca drásticamente el uso del recurso agua, se mantenga la calidad de agua en condiciones óptimas por extensos periodos de tiempo y se mejoren los parámetros productivos (crecimiento y supervivencia) que se han obtenido hasta el momento.

El presente trabajo proveerá de información valiosa sobre la utilización de tipos de protocolos para la maduración de biofiltros que permitan un mayor grado de utilización a nivel local y regional, y permitirá mejorar el balance de la calidad del agua recirculante, determinando el más adecuado para disminuir el impacto a los cuerpos de agua en CENAIM.

1.3 Objetivo.

1.3.1 Objetivo General.

Determinar el mejor procedimiento para la maduración y manejo de biofiltros en un Sistema de recirculación acuícola (SRA) adaptadas a las condiciones de los cultivos en CENAIM.

1.3.2 Objetivos Específicos.

- Relacionar las variables físicas, químicas y biológicas del agua para la determinación óptima del desempeño del biofiltro.
- Establecer la fuente de bacteria nitrificante para la activación del biofiltro.
- Dimensionar la capacidad de carga y la producción de compuestos nitrogenados para los cultivos en CENAIM.
- Determinar el tiempo de maduración del biofiltro para el inicio del cultivo.

1.4 Marco Teórico.

1.4.1 Funcionamiento de los SRA.

En un sistema de recirculación para la acuicultura (SRA) el agua utilizada para la producción de biomasa es recirculada de forma continua luego de pasar por un proceso de filtrado mecánico, filtrado biológico, desgasificación de C_2 y oxigenación. El agua de salida del estanque es tratada dependiendo de los requerimientos de calidad de agua de la especie en cultivo (Lekang, 2007), esta sigue circulando a través del sistema, y solamente un pequeño porcentaje se reemplaza diariamente (Timmons, M; Ebeling, 2007). La figura 1.1 muestra las unidades de operaciones de un SRA.

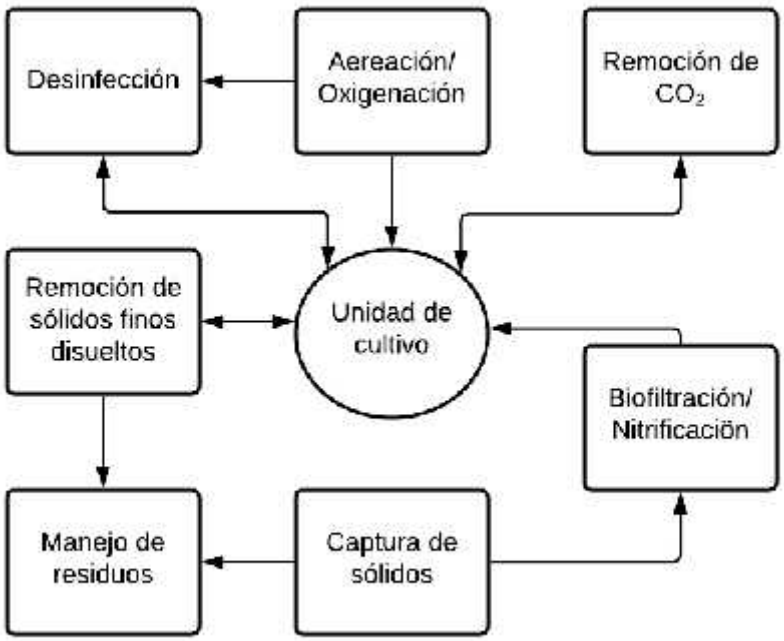

Figura 1.1 Unidades de operaciones de un SRA. (Timmons, M; Ebeling, 2007)

1.4.2 Calidad de agua en un SRA.

La calidad del agua es determinada por variables físicas, químicas y biológicas que indican si es adecuada para un determinado uso. En acuicultura, se dice que el agua es de buena calidad cuando su valor está dentro del rango óptimo para el cultivo de una especie. Cuando el sistema no permite mantener este nivel, los organismos en cultivo tales como los peces, moluscos camarones u otros estarán en condiciones de estrés y por lo tanto será necesario un mayor gasto energético para su desarrollo (Ebeling, Timmons, & Bisogni, 2006).

Como se muestra en la Figura 1.2 la acumulación de residuos nitrogenados en un SRA se debe principalmente a la descomposición bacteriana de restos de alimento balanceado y la excreción de los peces en donde se estima que el 3% del alimento se convierte en Nitrógeno Amoniacal Total (NAT) usando alimento balanceado con un 30% de proteína. El principal desecho excretado es el amoníaco y puede encontrarse en su forma ionizada (N_4^+) o la no ionizada (N_3^-); se conoce como NAT a la suma de ambos. El (N_4^+) es transformado a nitrito (NO_2^-) y posteriormente a nitrato (N_3^-) por las bacterias nitrificantes en el proceso de nitrificación mostrado en la Figura 1.3.

Se recomienda que el valor de NAT para la cría de peces sea inferior a 1,0 mg / l, y el valor de nitratos de 0,2 a 10 mg / l.; también es necesario controlar que el contenido de nitritos en agua y en tanque de cultivo no sean superiores a 0,75 mg/l y 0.5 mg/l lo que puede causar estrés a los peces, además de que concentraciones mayores de 5mg/l son considerados tóxicos. (Velichkova & Sirakov, 2013)

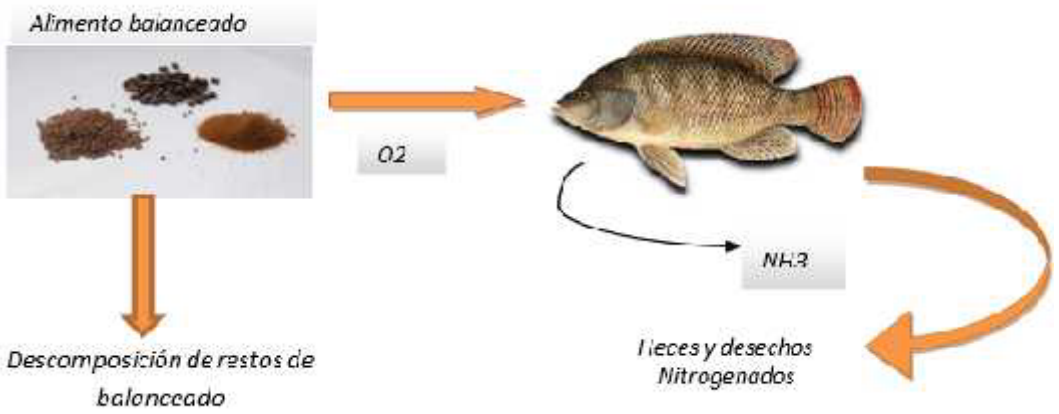

Figura 1.2 Acumulación de residuos nitrogenados. (Ebeling et al., 2006)

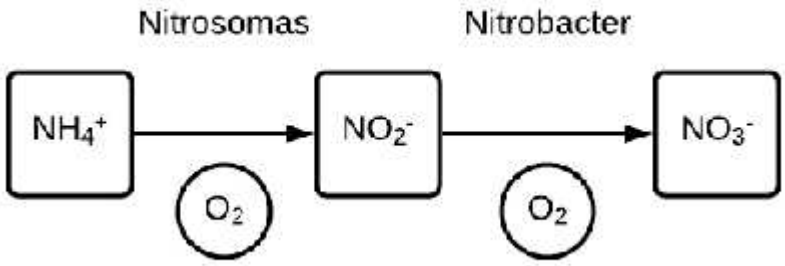

Figura 1.3 Reacción de Nitrificación [Autores]

La concentración relativa de estas formas está en función de la temperatura, el pH y la salinidad. La concentración de la forma no ionizada (N_3^-) crece al aumentar el pH y la temperatura y disminuye a salinidades altas. El NAT se utiliza a menudo como parámetro clave de calidad del agua, que limita el diseño y la operación del SRA (Sotomayor, 2017).

1.4.3 Filtros biológicos.

La conversión del amonio a compuestos nitrogenados menos nocivos en un SRA es realizada por el filtro biológico que contiene bacterias nitrificantes. El biofiltro consiste en un bio-reactor o tanque que contiene sustratos de diferentes materiales, diseñados para tener la máxima superficie de contacto, promoviendo así el crecimiento de la comunidad

bacteriana a través de la producción de una biopelícula (Gutierrez-Wing & Malone, 2006).

1.4.4 Tipos de Biofiltros.

A continuación se describen cuatro tipos diferentes de biofiltros (Sandu, Boardman, Watten, & Brazil, 2002):

- **Los biofiltros sumergidos:** Estos presentan un medio de fijación sumergido constantemente bajo el agua. Los medios de fijación utilizados en este tipo de biofiltro incluyen grava, conchas de ostras, perlas de plástico sólido, anillos plásticos extruidos, entre otros.

- **Los filtros percoladores:** El diseño de filtros percoladores es similar a la de los filtros sumergidos, excepto que el agua residual fluye por gravedad sobre el medio y mantiene la película bacteriana húmeda, pero no completamente sumergida. El filtro percolador puede remover de 23-52% de amonio.

- **Disco rotatorio:** En este sistema, el sustrato para las bacterias nitrificantes consiste en una serie de placas circulares paralelas, que están montadas en un eje con un pequeño espacio entre ellos. Los discos están parcialmente sumergidos y giran sobre el eje, utilizando un motor de engranaje de baja velocidad o una rueda de paletas accionada por el flujo de agua.

- **Lecho Fluidizado:** En este sistema el agua entra en el fondo de un cilindro con velocidad para ampliar el medio de fijación. La arena es uno de los sustratos más comunes utilizados en los filtros de lecho fluidizado como medio de fijación. Sin embargo, debido a su densidad, se requiere una cantidad considerable de agua para hacer que se expanda.

Los reactores de película biológica de lecho móvil (MBBR, siglas en inglés de moving bed biofilm) son biofiltros de lecho fluidizado, usados en plantas de tratamiento de aguas residuales, en la figura 1.4 se puede observar el principio del MBBR reactor. Los MBBR operan en su interior con portadores de plástico, en cuya superficie crece la película

biológica que en condiciones aeróbicas realiza la nitrificación. Los reactores mantienen en suspensión y constante agitación a los portadores en la columna de agua mediante un difusor de aire. El difusor de aire se encuentra ubicado en el fondo del biofiltro proporcionando a los portadores un patrón de movimiento toroidal. El flujo de surgencia central del difusor sirve también para remover el exceso de película biológica de los portadores manteniendo una óptima capa fina para una máxima eficiencia de nitrificación. El impulso de los portadores por la columna central del biofiltro provoca que estos alcancen la superficie y que luego retornen hacia el fondo de la unidad cerca del difusor, donde el patrón de movimiento se repite (T. J. Pfeiffer & Wills, 2011).

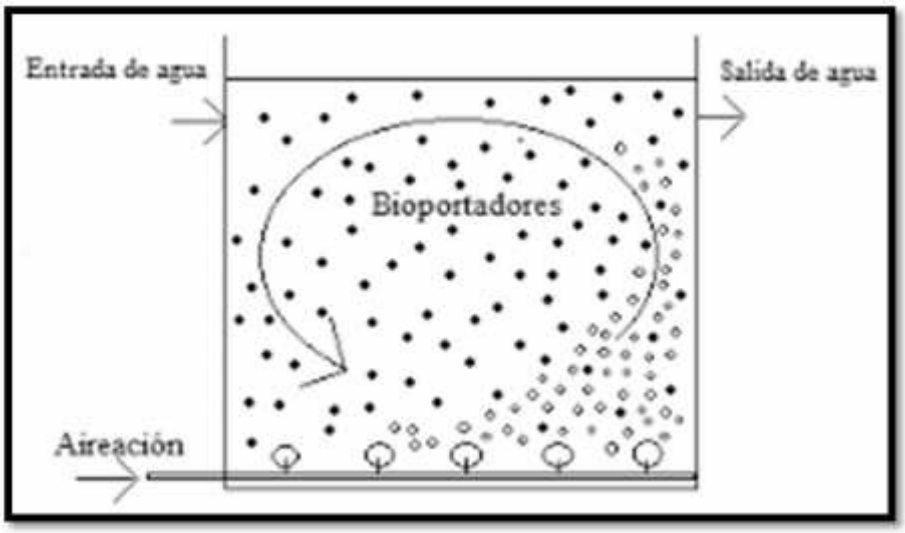

Figura 1.4 Principio de los Moving Bed Biofilm reactor (MBBR) (Rusten, Eikebrokk, Ulgenes, & Lygren, 2006)

1.5 Biofiltración.

1.5.1 Población de bacterias en el Biofiltro.

La mayoría de los biofiltros utilizados en un SRA son de película fija, donde las bacterias nitrificantes crecen sobre la superficie de un sustrato conocido como bioportador sólido, húmedo o sumergido. Se define como una capa de película bacteriana constante, necesaria para la oxidación biológica del amoníaco (T. Pfeiffer & Malone, 2006).

La difusión de nutrientes a través de un biofiltro es fundamental para la actividad y crecimiento de la biopelícula, que es la estructura total de bacterias autotróficas y heterotróficas en conjunto con el resto de los organismos que crecen sobre el sustrato portador. Las bacterias nitrificantes autotróficas, que utilizan el C_2 como fuente de carbono para su crecimiento, estarán en desventaja al competir con las bacterias heterotróficas, bacterias que usan carbono orgánico para su crecimiento, cuando existe disponibilidad de materia orgánica. Las bacterias heterotróficas suelen tener una tasa de crecimiento cinco veces mayor que las autótrofas y dos a tres veces más rendimiento que las nitrificantes (Carroza, Hurtado, & Gutierrez, 2012).

1.5.2 Nitrificación biológica.

El proceso de nitrificación biológica al interior del biofiltro origina la sucesiva oxidación del amoniaco a nitrato. Las tasas de nitrificación están influenciadas por la carga orgánica, la concentración de oxígeno disuelto en el reactor, la concentración del nitrógeno amoniacal total (NAT), la temperatura, el pH, la alcalinidad y el establecimiento previo de la biopelícula (Rusten et al., 2006).

El amoníaco es transformado a nitrito (NO_2^-) por varios géneros de bacterias autótrofas, siendo las más importantes las Nitrosomonas; luego el nitrito es oxidado a nitrato (NO_3^-), por otros géneros de bacterias, donde las más importantes son los Nitrobacter, como se puede observar las ecuaciones 1.1, 1.2 representan la conversiones químicas básicas durante la oxidación de NAT (Chen, Ling, & Blancheton, 2006).

$$N_4^+ + \frac{3}{2} O_2 \rightarrow 2H^+ + H_2O + NO_2^- \quad (1.1)$$

$$NO_2^- + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow NO_3^- \quad (1.2)$$

Existe escasa información sobre la fisiología y diversidad de las bacterias nitrificantes marinas, especialmente de las que metabolizan nitritos conocidos como Nitrobacters, que son de lento crecimiento. Varios estudios han demostrado que la población de

bacterias nitrificantes abarca varias cepas por cada género, las cuales juegan un rol específico en diferentes condiciones de crecimiento (Huang et al., 2018).

1.5.3 Activación del biofiltro.

El biofiltro comienza su operación añadiendo bacterias nitrificantes al sistema, las cuales están presentes en el agua de abastecimiento; otras fuentes pueden ser el sustrato portador del biofiltro de un sistema en funcionamiento, sedimento del fondo de los tanques o restos de desechos de cultivo o con la introducción de una parte de organismos que aportaran nutrientes pero tendrán que soportar altas concentraciones de amonio y nitritos hasta que las bacterias nitrificantes se multipliquen y se adhieran al medio portador. Una de las estrategias para la activación del biofiltro implica sembrar la especie de cultivo simultáneamente. Para esto se debe prestar atención al rápido incremento de las concentraciones de amonio y nitritos para bajarlas a niveles tolerables con recambios de agua. La tasa de alimentación debe ser disminuida o suspendida hasta que la activación del biofiltro se haya conseguido (Delong & Losordo, 2012).

La mejor estrategia para la activación de un biofiltro en un SRA nuevo es la introducción a baja densidad de la especie a cultivar, pero las condiciones del agua serán inadecuadas hasta que el proceso de oxidación del amonio y los nitritos se haya establecido (Roalkvam, Drønen, Dahle, & Wergeland, 2020).

El biofiltro requiere un tiempo de activación, necesario para que las bacterias se adapten y establezcan su comunidad en el sustrato para iniciar el proceso de nitrificación; este proceso se llama también tiempo de maduración y es esencial en este lapso iniciar el registro de datos para establecer el momento en el que el biofiltro alcanza una condición de "estado estacionario". Este punto es alcanzado cuando el NAT en el agua residual se estabiliza y marca una línea horizontal en relación con el tiempo en el diagrama de datos (Colt, 2006). También se indica que el biofiltro se ha adaptado completamente al medio cuando en estado estacionario puede mantener la concentración de NAT y NO_2^- por debajo de 0,7 mg / l bajo una condición de carga de 8,64 g NAT / día. Durante 7 días consecutivos (Sandu et al., 2002). En la figura 1.5 se muestra mediante un diagrama Concentración Vs Tiempo el comportamiento típico del biofiltro en proceso de activación.

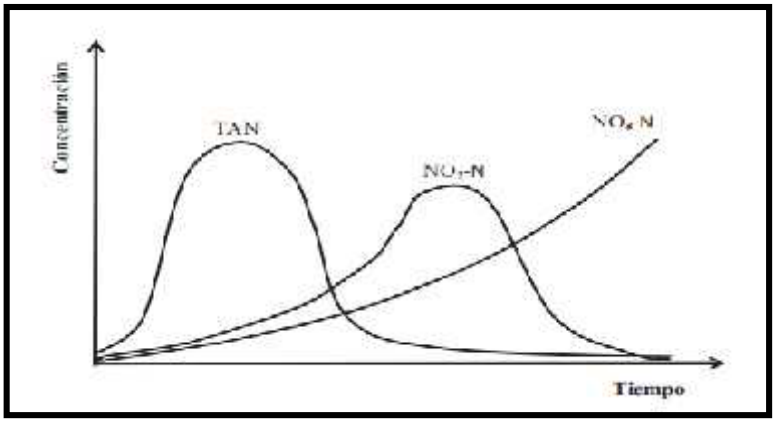

Figura 1.5 Comportamiento de un biofiltro en proceso de activación. **(Lekang, 2007)**

Luego de activar el biofiltro, pueden pasar varias semanas hasta que alcance un estado estacionario, dependiendo de la calidad del agua del sistema, especialmente en ambientes marinos. Para sistemas de agua dulce el tiempo de activación puede ser de 2 a 3 semanas (Rakocy, Masser, & Losordo, 2006). Sin embargo, el ambiente marino a menudo parece detener la nitrificación durante la fase de activación; es necesario el aporte de una fuente de NAT durante 5 semanas consecutivas para activar el filtro biológico en agua de mar. Así mismo, se han registrado tratamientos con 70 días de maduración (Kumar, Joseph, Philip, & Singh, 2010).

Es muy importante considerar el cuidado del grosor de la biopelícula que usualmente varía entre 1 micrómetro y más de un centímetro, la actividad se incrementa con el grosor y por encima de este nivel la difusión de nutrientes se vuelve un factor limitante (Cohen, 2001).

CAPÍTULO 2

2 Metodología.

De la revisión bibliográfica de determinó que la estrategia más viable para la maduración de biofiltros en los SRA del CENAIM, implica enriquecer con nutrientes el sistema antes de sembrar los organismos a cultivar (Delong & Losordo, 2012; Roalkvam et al., 2020). Hay que considerar que debido a la emergencia sanitaria por Covid-19 la ejecución de la propuesta no se realizó experimentalmente.

2.1 Area de estudio.

La presente propuesta se realizó para las instalaciones de SRA del CENAIM ubicadas en San Pedro y Prov. Santa Elena (-2.1532910,-79.9016798); para las unidades de experimentación que cuenta con 24 tanques de 500 L, larvicultura que consta de 8 sistemas de 3 tanques de 500 L, juveniles con 8 sistemas de 3 tanques de 2000 L, maduración-reproducción con 6 tanques de 16000 L, mantenimiento de reproductores con 2 tanques de 60000 L y cuarentena con 96 tanques de 50 L. En la Figura 2.1, 2.2, 2.3 y 2.4 se pueden observar los diversos tanques utilizados en las instalaciones de SRA de CENAIM. En la figura 2.5 se puede observar la distribución del área de experimentación.

Figura 2.1 Tanques de 500 l [Autores]

Figura 2.2 Tanques de 2000 l [Autores]

Figura 2.3 Maduración-reproducción con 6 tanques de 16000 l [Autores]

Figura 2.4 Reproductores 2 tanques de 60 toneladas. [Autores]

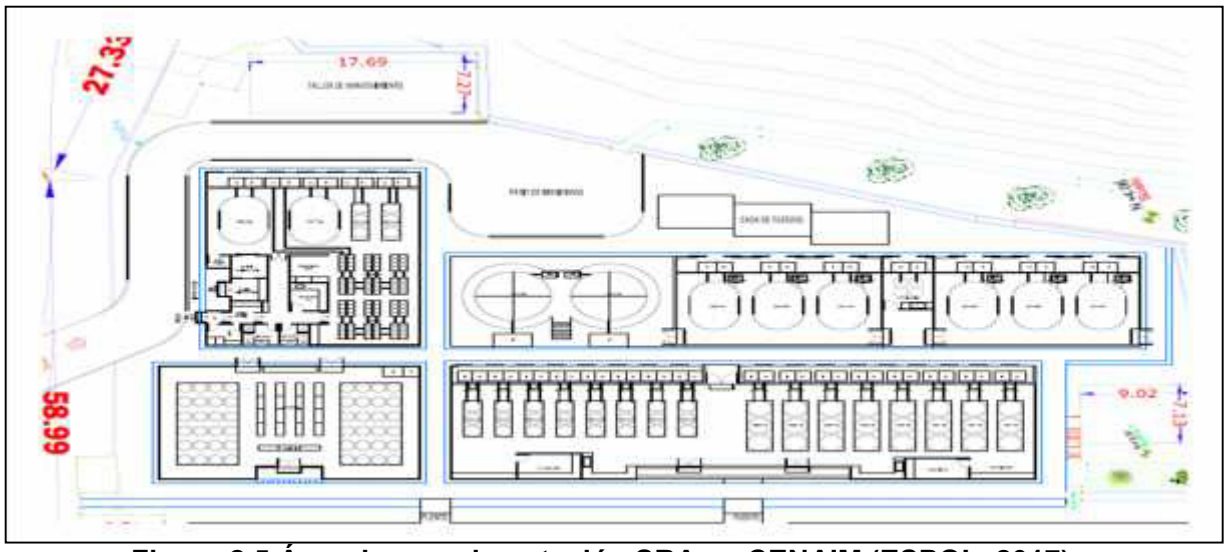

Figura 2.5 Área de experimentación SRA en CENAIM (ESPOL, 2017)

La distribución de los tanques de los biofiltros para cada área y sus datos técnicos se muestra en la tabla 2.1:

Tabla 2.1 Tanques de biofiltro por área de cultivo en CENAIM [Autores]

SECCION O ÁREA DE CULTIVO	N. de TANQUES	VOLÚMEN (L)	TASA DE FLUJO (L/min)	CANTIDAD MAX. DE BIOMEDIOS (m3)
EXPERIMENTACIÓN	1	1222.0	95-340	0.71
LARVICULTURA	8	643.5	64-190	0.34
JUVENILES	8	1222.0	95-340	0.71
MADURACIÓN - REPRODUCCIÓN	6	1817.0	151-757	1.00

2.2 Criterio de siembra de organismos a cultivar para la maduración del biofiltro.

Se considera que fomentar el crecimiento de las bacterias nitrificantes en el biofiltro sin haber introducido los peces en el sistema tiene la ventaja de reducir la posibilidad de someter a los organismos a condiciones de estrés, acortar el ciclo de crecimiento aumentando la tasa de alimentación desde el primer día de siembra y recibir a los animales sembrados con una mejor calidad de agua, lo que mejora la tasa de crecimiento, la supervivencia y la salud de los organismos cultivados (Delong & Losordo, 2012).

De la misma manera se consideró que la estrategia de enriquecer la población de bacterias nitrificantes en el biofiltro en menor tiempo antes de sembrar los peces es mejor que la opción de sembrar a baja densidad peces en un SRA para la activación del biofiltro ya que las condiciones de cultivo para estos organismos serán deficientes hasta que la remoción de amonio se lleve a cabo (Roalkvam et al., 2020).

Por tanto, para el presente proyecto se ha escogido la estrategia en la que la maduración del biofiltro se realizará sin animales sembrados en el sistema, adicionando cloruro de amonio como fuente de nitrógeno y bicarbonato de sodio para potenciar la alcalinidad y proporcionar carbono.

2.2.1 Cálculo de la capacidad de filtración del MBBR en el sistema.

Para el cálculo de la capacidad de biofiltración del sistema, que es la cantidad de unidades de medio portador necesaria para la nitrificación del NAT, expresada en unidad de volumen (m3), se utilizará la ecuación 2.1 propuesta por (Timmons, M; Ebeling, 2007)

$$P = A * \%P * 0.092 \quad (2.1)$$

Dónde:

PNAT: Producción de Nitrógeno amoniacal total (kg/día)

A: tasa de alimentación (kg/día)

%P: Porcentaje de proteína del balanceado

La constante 0.092 en la ecuación deriva de la suposición que las proteínas contienen un 16% de nitrógeno del cual el 80% es asimilado y de esta fracción el 80% es excretado; además del total excretado hasta el 90% es NAT y un 40% máximo de urea (Timmons, 2004).

Se determinó la capacidad de nitrificación por unidad de volumen de medio portador de la biopelícula para el sistema del CENAIM, que se mide en g de NAT removido por m3 de medio por día, denominada tasa volumétrica de conversión de nitrógeno amoniacal total (TVCA). Esta tasa permite hacer una comparación de la eficiencia de la nitrificación entre biofiltros y medios filtrantes (sustrato para la adsorción de bacterias), además es una herramienta para calcular la cantidad de medio necesario para dimensionar el biofiltro de un SRA.

El medio portador elegido es el SWX Bio-Media, que es fabricado de polietileno de alta densidad, con 10 mm de diámetro y 7mm de alto; según la especificación técnica del fabricante tiene una superficie especifica de 899 m^2/m^3 y eficiencia de nitrificación de 400 a 1200 g $N\ {}_4^-\ N/m^3$ por día.

El cálculo del volumen de medio portador que se necesita para la operación en el CENAIM requerirá del valor estimado de su eficiencia para fomentar la nitrificación (400 a 1200 g $N\ {}_4^-\ N/m^3$ por día).

La tabla 2.2 muestra la capacidad de los tanques de cultivo, la biomasa estimada que soportarán los tanques, la tasa de alimentación por día a suministrar y el porcentaje de proteína del alimento dosificado, datos que se necesitarán para la estimación.

Tabla 2.2 Capacidad de los tanques del área de cultivo y densidad de siembra [Autores]

AREA DE CULTIVO	# DE TANQUES	VOLUMEN [m^3]	BIOMASA [Kg/m^3]	% TASA DE ALIMENTACIÓN	% PROTEINA
Experimentación	24	0.5	6	3	50
Larvicultura	24	1.2	6	5	50
Juveniles	24	2.0	10	3	50
Maduración-Reproducción	6	16.0	6	3	50
Reproductores	2	60	10	3	50
Cuarentena	96	0.05	6	3	50

Con la ecuación 2.1 se determinan la producción de Nitrógeno amoniacal total de las diferentes áreas.

Área de Experimentación (CENAIM):

$$\mathbf{P} = \frac{6\text{Kg O}}{\text{m}^3} * 12\ \text{m}^3 * 0.03 \frac{\text{KgA}}{\text{Kg O Día}} * \frac{0.5\text{Kg P}}{\text{Kg A}} * \frac{0.092\ \text{Kg NAT}}{\text{Kg P}} * \frac{1000\ \text{g}}{1\ \text{Kg}} = 99.36\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}$$

Área de Larvicultura (CENAIM):

$$\mathbf{P} \quad = \frac{6\text{Kg O}}{\text{m}^3} * 28.8\ \text{m}^3 * 0.05 \frac{\text{KgA}}{\text{Kg O Día}} * \frac{0.5\text{Kg P}}{\text{Kg A}} * \frac{0.092\ \text{Kg NAT}}{\text{Kg P}} * \frac{1000\ \text{g}}{1\ \text{Kg}} = 397.44\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}$$

Área de Juveniles (CENAIM):

$$\mathbf{P} \quad = \frac{10\text{Kg O}}{\text{m}^3} * 48\ \text{m}^3 * 0.03 \frac{\text{KgA}}{\text{Kg O Día}} * \frac{0.5\text{Kg P}}{\text{Kg A}} * \frac{0.092\ \text{Kg NAT}}{\text{Kg P}} * \frac{1000\ \text{g}}{1\ \text{Kg}} = 662.36\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}$$

Área de Maduración – Reproducción (CENAIM):

$$\mathbf{P} \quad = \frac{6\text{Kg O}}{\text{m}^3} * 96\ \text{m}^3 * 0.03 \frac{\text{KgA}}{\text{Kg O Día}} * \frac{0.5\text{Kg P}}{\text{Kg A}} * \frac{0.092\ \text{Kg NAT}}{\text{Kg P}} * \frac{1000\ \text{g}}{1\ \text{Kg}} = 794.88\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}$$

Área de Reproductores (CENAIM):

$$\mathbf{P} \quad = \frac{10\text{Kg O}}{\text{m}^3} * 120\ \text{m}^3 * 0.03 \frac{\text{KgA}}{\text{Kg O Día}} * \frac{0.5\text{Kg P}}{\text{Kg A}} * \frac{0.092\ \text{Kg NAT}}{\text{Kg P}} * \frac{1000\ \text{g}}{1\ \text{Kg}} = 1656\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}$$

Área de Cuarentena (CENAIM):

$$\mathbf{P} \quad = \frac{6\text{Kg O}}{\text{m}^3} * 4.8\ \text{m}^3 * 0.03 \frac{\text{KgA}}{\text{Kg O Día}} * \frac{0.5\text{Kg P}}{\text{Kg A}} * \frac{0.092\ \text{Kg NAT}}{\text{Kg P}} * \frac{1000\ \text{g}}{1\ \text{Kg}} = 39.74\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}$$

Se determina el total del PNAT de las diversas áreas con la ecuación 2.2.

$$\text{Total de PNAT} = \sum_{\text{Á}} \quad \text{PNAT} \qquad 2.2$$

$$\text{Total de PNAT} = 39.74 + 1656 + 746.88 + 662.36 + 397.44 + 99.36 = 3649.78\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}$$

Se determina el volumen del medio con la ecuación 2.3.

$$\text{Volumen del medio} = \frac{\text{Total de PNAT}}{400\ \frac{\text{g NAT}}{\text{m}^3 * \text{día}}}$$

2.3

$$\text{Volumen del medio} = \frac{3649.78\ \frac{\text{g NAT}}{\text{Día}}}{400\ \frac{\text{g NAT}}{\text{m}^3 * \text{día}}} = 9.12\ \text{m}^3$$

2.2.2 Cálculo de eficiencia del sistema:

Los cálculos de la eficacia de remoción de NAT y NO2 se harán con base en las ecuaciones 2.4 y 2.5 (Malone & Pfeiffer, 2006).

$$\text{TVCA} = \frac{\text{Q(NATe} - \text{NATs)}}{\text{Volumen del medio}}$$

2.4

Dónde:

TVCA= Tasa volumétrica de conversión de amonio

Q= Flujo

NATe= Nitrógeno amoniacal total a la entrada del filtro

NATs= Nitrógeno amoniacal total a la salida del filtro

$$\text{TVCN} = \text{TVCA} + \frac{\text{Q}(\text{NO}_2\text{e} - \text{NO}_2\text{s})}{\text{Volumen del medio}}$$

2.5

Dónde:

TVCN: Tasa volumétrica de conversión de nitrito

NO_2e: Nitrito a la entrada

NO_2s: Nitrito en la salida

Estos cálculos no se pudieron realizar para CENAIM debido a que no se contaba con las mediciones de NAT a la entrada y salida de los tanques de cultivo.

2.2.3 Maduración previa del sustrato portador.

Se realizará una preparación del medio portador SWX Bio-Media previa a su introducción al biofiltro en recipientes con agua del sistema de cultivo, adicionando Cloruro de amonio hasta alcanzar concentraciones de 3 a 5 mg/l, que fomentará el crecimiento y fijación de las bacterias nitrificantes formando la biopelícula. Una vez que la población de bacterias nitrificantes se haya establecido, el sustrato se colocará en el biofiltro para comenzar la maduración en el sistema

2.3 Control de parámetros de calidad de agua.

Antes de introducir las bacterias al biofiltro, se debe ajustar las condiciones físicas y químicas del sistema de modo que promueva el crecimiento de las bacterias nitrificantes, para esto el agua deberá pasar a través del biofiltro y la temperatura del agua será la misma con la que se trabajará en el cultivo. De igual manera la alcalinidad, la dureza, el pH y la salinidad deberán estar en los niveles requeridos por la especie de peces del cultivo. Para promover el desarrollo de las bacterias nitrificantes se necesitará una fuente de carbono adicional al CO_2 presente en el agua siendo esta el Bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) que ingresará al sistema a razón de 14g por litro de agua aumentando la alcalinidad en 10 mg/l. Para fomentar el crecimiento de las Nitrosomonas se necesita una alcalinidad inicial de 150 mg/l y un rango de alcalinidad de 200 a 250 mg/l fomentará el crecimiento de las Nitrobacter. Una vez establecida la colonia de Nitrobacter se deberá retornar a los niveles de alcalinidad de operación del cultivo de peces. Con la alcalinidad a los niveles mencionados el pH se mantendrá en el rango requerido entre 6.8 a 7.2, el límite menor de 6.8 no es alcanzado a menos que haya una alta concentración de CO_2, en este caso la circulación del agua y la aeración reducirán dichos valores (Delong & Losordo, 2012).

Se añadirá cloruro de amonio para fomentar el crecimiento de las bacterias nitrificantes, como referencia 60 ml de cloruro de amonio (con 10% de amonio acuoso) elevará la concentración de 3.7875 litros de agua del sistema a aproximadamente 1.6 mg/l. La

concentración de amonio recomendada para la maduración está en el rango de 3 a 5 mg/l (Delong & Losordo, 2012).

Las tablas 2.3 y 2.4 muestran valores de los parámetros del agua de mar y los requeridos para el cultivo de peces.

Tabla 2.3 Parámetros más importantes del agua de mar (MAE, 2015)

Parámetros	Unidad	Valores máximos
DBO5	mg/l	441
Sólidos Totales	mg/l	957
Nitrito (NO_2)	mg/l	0.02 - 0.04
Nitrato (NO_3)	mg/l	0.06
Amoníaco (NH_3)	mg/l	0.019
Amonio (NH_4)	mg/l	0.01
Fosfato	mg/l	0.08
Silicato	mg/l	0.8
pH	-	8

Tabla 2.4 Parámetros físicos químicos del agua de cultivo [Autores]

Parámetros	Valores máximos
OD	>2ppm
PH	6.8-7.2
Alcalinidad	150-250
CO2	0-20ppm
Amonio N $_3$	0.0-1.0

Nitritos N_2	0.1-4.0
Nitratos N_3	≥50-300 ppm
Temperatura	De la especie de cultivo

2.4 Introducción de bacterias nitrificantes.

La activación del biofiltro requiere tener una fuente de bacterias nitrificantes, que pueden provenir de bacterias aisladas para este propósito a nivel comercial. Existen mezclas preparadas de bacterias nitrificantes, tanto para agua dulce como para agua de mar, disponibles como polvo o suspensiones líquidas concentradas. Se deberá seguir las recomendaciones del proveedor para su activación y la dosificación se hará en varias etapas. Las bacterias nitrificantes pueden también provenir de los sustratos de biofiltros que han estado en operación, lo cual se considera la opción más efectiva por estar ya adaptadas a las condiciones de cultivo.

Tabla 2.5 Bacterias nitrificantes [Autores]

Bacteria responsables de la nitrificación		
Tipo de bacterias	**Género**	**Hábitat**
Oxidadoras de amonio	Nitrosomonas	Suelos, marinas, agua dulce
	Nitrosospira	Suelos, no crecen en agua de mar
	Nitroscoccus	Suelos, marinas, agua dulce
	Nitrosolobus	Suelos
Oxidadoras de nitritos	Nitrobacter	Suelos, marinas, agua dulce
	Nitrospira	Marina
	Nitrococcus	Marina

2.5 Tiempo de maduración.

Con la introducción del sustrato previamente tratado colonizado con las bacterias nitrificantes en el biofiltro se comienza la maduración en el sistema. Se añadirá cloruro de amonio para alcanzar concentraciones de 3 a 5 mg/l de NAT. Se trabajará con un 25% del volumen del sistema para manejar mejor la concentración de nutrientes y la temperatura del agua, que se elevará 2 grados por encima de la temperatura de operación para acelerar los procesos químicos y biológicos de la población de bacterias. El flujo de agua será menor al de operación para evitar desprendimiento de la biopelícula debido al movimiento.

La medición y registro diario de amonio, nitritos, pH, temperatura y alcalinidad no solo tienen el papel de informar si las condiciones de cultivo son las requeridas también dará una visión de la manera en que se desarrollan las poblaciones de Nitrosomonas y Nitrobacter en función de la labor de convertir el amonio y el nitrito respectivamente. El registro de las concentraciones de ambos tiene un patrón definido que comienza con la ausencia de nitrificación (predominio de NH_3 o NH_4^+), predominio de Nitrosomonas (altas concentraciones de NO_2^-) y equilibrio (acumulación de NO_3), es en este momento en el que se puede proceder con la siembra de los peces a cultivar. La dosis de alimentación debe aumentarse lentamente para dar tiempo a la estabilización del proceso de nitrificación.

El tiempo de oxidación del amonio a nitritos y nitratos reportado a nivel experimental comparando sustratos inoculados con bacterias nitrificantes de biofiltros en funcionamiento con sustratos inoculados con un producto comercial de bacterias nitrificantes fue de 4 a 8 días para el primer tipo y de 15 a 18 días para el inóculo comercial (Roalkvam et al., 2020).

La labor de mantenimiento del biofiltro en operación comprende la medición de la concentración de NAT y el control del flujo en el que trabaja el medio portador considerando una relación proporcional entre el flujo y el volumen de NAT removido; se debe tener cuidado de no producir desprendimiento de la biopelícula. Una de las características del medio es que por su diseño y su circulación en el biofiltro no es necesario implementar retro lavado puesto que por la acción del flujo y la aeración se eliminan las capas de células más viejas y menos activas a manera de auto limpieza.

CAPÍTULO 3

3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Propuesta del protocolo para la maduración y manejo de biofiltros en CENAIM.

Existen varios métodos a considerar para la activación y posterior maduración de biofiltros, por lo que es de utilidad establecer la mejor estrategia tomando en cuenta el tiempo requerido para el proceso, la menor exposición de los organismos sembrados a altas concentraciones de amonio y los nutrientes que serán utilizados para fomentar el crecimiento de las bacterias nitrificantes con la finalidad de brindar las condiciones óptimas para el desarrollo de la población en el SRA. A partir de la revisión de los diferentes métodos documentados, se han establecido diversas consignas para la maduración de biofiltros.

No considerar la siembra de la población de peces antes de tener las condiciones físico-químicas y biológicas del agua para la activación y maduración del biofiltro puesto que facilitara una mejor amplitud para su manejo; se consideran rangos de temperatura, concentración de NH_4^+, NO_2^-, volumen de agua y cantidad de nutrientes requeridos para promover el crecimiento que no serían compatibles con las condiciones requeridas para la especie de peces de cultivo, pero si para las bacterias nitrificantes que potenciará tanto su crecimiento como la remoción de los compuestos nitrogenados.

La fuente de bacterias nitrificantes proviene del mismo sistema, por estar adaptadas a las condiciones en las que se desarrolla el cultivo de peces, su origen inicialmente es de sedimentos, heces de peces y restos de balanceado de la alimentación diaria; una vez que son fijadas las bacterias nitrificantes a la superficie del medio portador se usa como inóculo para la activación de nuevos biofiltros. El uso de este tipo de bacterias en tratamiento de aguas residuales disponibles comercialmente ha ayudado a promover la desnitrificación del sistema.

La producción total de compuestos nitrogenados originados por el metabolismo de las proteínas del alimento dosificado a la biomasa de peces fue estimada a $3649.78\ \frac{g\ N}{Día}$; considerando los valores máximos de operación del cultivo referentes a la biomasa, a la tasa de alimentación y el menor valor de eficiencia de remoción de NAT del medio portador descrito por el fabricante el cual es 400 g de NAT/ m^3.día el volumen de medios portadores de la biopelícula requerido para remover esta cantidad de NAT es de 9,12 m^3

Por tratarse de un ambiente marino con gran cantidad de sales disueltas el tiempo de maduración del biofiltro es más prolongado que el de agua dulce; por esta razón es de suma importancia brindar las mejores condiciones para la fijación de las bacterias al medio portador. Para reducir el tiempo de crecimiento de la población de bacterias nitrificantes y por consiguiente la maduración del biofiltro; además de adicionar nutrientes e incrementar la temperatura es necesario realizar un tratamiento previo de los medios para que una vez fijada la biopelícula sean usados en el biofiltro con el SRA en funcionamiento. Se encontró mejores resultados en cuanto a un menor tiempo de maduración usando medios portadores de biofiltros de un SRA en operación.

Con base en lo expuesto, el protocolo para la maduración y manejo de biofiltros en CENAIM es el siguiente:

- Se procederá a madurar el medio portador de las bacterias nitrificantes (SWX Bio-Media) previo a su puesta en el biofiltro.
- Preparación de las condiciones físicas y químicas del agua que va a ser utilizada en el SRA.
- Adición de Cloruro de Amonio como nutriente para fomentar el crecimiento de la población de bacterias nitrificantes hasta llegar a 3 – 5 mg/l de NAT.
- Siembra de los medios portadores de bacterias nitrificantes en el biofiltro.
- Preparar el funcionamiento del SRA con el 20% de su capacidad de agua, sin población de peces en el sistema.
- Monitoreo diario de las concentraciones de amonio, amoníaco, nitritos y nitratos en un punto fijo en la entrada y salida de agua de los tanques de cultivo con la

finalidad de establecer el momento de maduración del biofiltro, lo cual ocurre cuando la concentración de amonio cae a menos de 0,7 miligramos por litro.

- Siembra de los organismos a cultivar comenzando con tasas de alimentación bajas.
- Control diario de los niveles de amonio, amoníaco, nitritos y nitratos para comprobar el funcionamiento correcto del biofiltro.
- Una vez cosechados los organismos en producción realizar el mantenimiento del biofiltro con nutrientes hasta la siembra de nuevos organismos.

CAPÍTULO 4

4 Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

El rol de los biofiltros en un SRA es de suma importancia para la filtración de productos disueltos en el agua de cultivo consiguiendo la oxidación de los compuestos químicos presentes mediante el proceso de nitrificación realizado por las bacterias nitrificantes *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*. Estas a pesar de estar presentes en los más diversos tipos de ambientes tanto terrestres como marinos su replicación en condiciones controladas requieren un control exhaustivo de los parámetros físicos y químicos que promuevan su replicación.

Con las condiciones adecuadas las bacterias se adaptan a diferentes rangos de temperatura, salinidad, pH y alcalinidad; las variaciones en estos parámetros tienen influencia en el proceso de nitrificación ralentizándolo hasta volver a alcanzar niveles de nitrificación aceptables para la población de peces; por lo tanto estos periodos de variación de la tasa de nitrificación deben ser controlados de modo que su duración sea lo más corta posible, por este motivo deben realizarse las mediciones de concentración de amonio, nitritos y nitratos en el agua del sistema.

Para conseguir una adaptación a los parámetros del cultivo de peces es más realista trabajar con parte de la población sembrada en el sistema; pero esto impide trabajar con niveles de amonio que promueven mejor el crecimiento de las bacterias y reducen el tiempo de maduración del biofiltro en el SRA. El uso de bacterias nitrificantes disponibles a nivel comercial ayuda a promover la oxidación de los compuestos nitrogenados, pero su presencia a largo plazo en la población de bacterias no es sostenida.

Es preciso contar con el valor de NAT que produce el SRA por día, ya que con esta referencia se dimensionan tanto los biofiltros como los medios portadores de bacterias,

buscando establecer una mayor eficiencia en la remoción con la cantidad de medio de modo que también el costo-beneficio sea el adecuado, considerando que, a mayor área de adherencia de bacterias nitrificantes, mayor oxidación de amonio.

Aunque la primera maduración de un biofiltro en un SRA requiera más tiempo de implementarse; las maduraciones siguientes podrán contar con medios portadores con poblaciones establecidas de bacterias adaptadas a las condiciones del agua de cultivo; además pueden ser utilizados como inóculos para nuevos biofiltros en donde el mutualismo entre los diferentes microorganismos se haya establecido teniendo una población especializada para la especie de peces que se cultiva.

El hecho de no poder realizar el tratamiento experimental impide considerar el valor de la eficiencia del biofiltro; lo que nos brindaría la información esencial para establecer los parámetros necesarios que nos ayuden a determinar el método con mayor eficacia para la correcta oxidación del amonio. Por otro lado la identificación de las especies de los microorganismos que integran la comunidad en el biofiltro es fundamental; puesto que de esta caracterización se conocerán las poblaciones predominantes que en mutualismo realizan la secuencia de nitrificación.

4.2 Recomendaciones.

El presente protocolo necesita la validación por parte del CENAIM para establecer si su uso es aplicable por lo que es necesario llevar a cabo una experimentación; de modo que el presente trabajo sirva de inicio para la implementación de filtros biológicos en la producción de peces u otros organismos acuáticos.

Se recomienda disponer de una reserva de cepas de bacterias nitrificantes provenientes de medios portadores de biofiltros en funcionamiento; tomando en cuenta que mientras más tiempo ha pasado el biofiltro en funcionamiento se encontrará una comunidad de microorganismos más adaptada al ambiente de cultivo.

La identificación de las diferentes especies presentes en la comunidad de los biofiltros nos ayudará a conocer que combinación de ellas es más eficiente para la oxidación del amonio y del nitrito; adaptándose más rápidamente acortando el tiempo de maduración.

Bibliografía

Carroza, C., Hurtado, F., & Gutierrez, X. (2012). Nitrogenated compounds' biofiltration under alternative bacterium fixation substrates. *Latin American Journal of Aquatic Research*, *40*(3 SPL. ISS.), 772–785. https://doi.org/10.3856/vol40-issue3-fulltext-24

Chen, S., Ling, J., & Blancheton, J. P. (2006). Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering*, *34*(3), 179–197. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.09.004

Cohen, Y. (2001). Biofiltration - The treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology*, *77*(3), 257–274. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00074-2

Colt, J. (2006). Water quality requirements for reuse systems. *Aquacultural Engineering*, *34*(3), 143–156. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.011

Delong, D. P., & Losordo, T. M. (2012). How to start a biofilter. *National Institure of Food and Agriculture*, *3*(4502), 4.

Ebeling, J. M., Timmons, M. B., & Bisogni, J. J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, *257*(1–4), 346–358. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019

ESPOL. (2017). CENAIM. Retrieved from http://www.cenaim.espol.edu.ec/org_div_c_ls

Gutierrez-Wing, M. T., & Malone, R. F. (2006). Biological filters in aquaculture: Trends and research directions for freshwater and marine applications. *Aquacultural Engineering*, *34*(3), 163–171. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.003

Huang, Z., Jiang, Y., Song, X., Hallerman, E., Peng, L., Dong, D., … Li, W. (2018). Ammonia-oxidizing bacteria and archaea within biofilters of a commercial recirculating marine aquaculture system. *AMB Express*, *8*(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/s13568-018-0551-1

Kumar, V. J. R., Joseph, V., Philip, R., & 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. https://doi.org/10.2166/wst.2010.849

Lekang, O.-I. (2007). *Aquaculture engineering*. *Aquaculture Research* (Vol. 38).

https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01844.x

MAE. (2015). Acuerdo 097A. *Registro Oficial No. 387*, (097), 407. Retrieved from http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu155128.pdf

Malone, R. F., & Pfeiffer, T. J. (2006). Rating fixed film nitrifying biofilters used in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, *34*(3), 389–402. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.007

Olaya, C; Hurtado-Giraldo, H. (2016). Estudio preliminar del levante de juveniles de Arawana plateada (Osteoglossum bicirrhosum) en sistemas cerrados de recirculación. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *6*, 96–113.

Pfeiffer, T. J., & Wills, P. S. (2011). Evaluation of three types of structured floating plastic media in moving bed biofilters for total ammonia nitrogen removal in a low salinity hatchery recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, *45*(2), 51–59. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2011.06.003

Pfeiffer, T., & Malone, R. (2006). Nitrification performance of a propeller-washed bead clarifier supporting a fluidized sand biofilter in a recirculating warmwater fish system. *Aquacultural Engineering*, *34*(3), 311–321. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.09.003

Rakocy, J. E., Masser, M. P., & Losordo, T. M. (2006). Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics- integrating fish and plant culture. *SRAC Publication - Southern Regional Aquaculture Center*, (454), 16. https://doi.org/454

Roalkvam, I., Drønen, K., Dahle, H., & Wergeland, H. I. (2020). Comparison of active biofilm carriers and commercially available inoculum for activation of biofilters in marine recirculating aquaculture systems (RAS). *Aquaculture*, *514*(February 2019), 734480. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734480

Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenes, Y., & Lygren, E. (2006). Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Engineering*, *34*(3), 322–331. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.04.002

Sandu, S. I., Boardman, G. D., Watten, B. J., & Brazil, B. L. (2002). Factors influencing the nitrification efficiency of fluidized bed filter with a plastic bead medium. *Aquacultural Engineering*, *26*(1), 41–59. https://doi.org/10.1016/S0144-8609(02)00003-1

Sotomayor, C. (2017). Análisis de la dinámica del oxígeno y el amonio en un sistema de recirculación con agua de mar, para el cultivo experimental de peces, 100.

Timmons, M; Ebeling, J. (2007). *Recirculating Aquaculture*. (Ithaca, Ed.). New York, USA: Cayuga Aqua Ventures.

Timmons, M. B. (2004). *Sistemas de Recirculación para la Acuicultura*. *Cell* (Quebecor W, Vol. 3). Chile.

Velichkova, K. N., & Sirakov, ; Ivaylo Nikolaev. (2013). The Usage of Aquatic Floating Macrophytes (Lemna And Wolffia) as Biofilter in Recirculation Aquaculture System (RAS). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *13*(January), 881–896. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13