

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA



“Análisis de la dinámica del oxígeno y el amonio en un sistema de recirculación con agua de mar, para el cultivo experimental de peces”

Presentado por:

Carlos Alberto Sotomayor Bello

Tesis para optar el título de:

Ingeniero Pesquero

Lima – Perú

2016

La presente tesis fue aprobada por el siguiente jurado:

M.Eng. María Cristina Miglio Toledo
Presidente

M.Sc. Beatriz Elena Ángeles Escobar
Miembro

Ing. Elsa Victoria Vega Galarza
Miembro

M.Sc. Aníbal Severo Verástegui Maita
Asesor

Lima-Perú
2016

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN.....	5
2.1.1. Generalidades de un sistema de recirculación para acuicultura (SRA)	5
2.1.2. Dinámica de desechos en un SRA	5
2.2. COMPONENTES DE UN SISTEMA DE RECIRCULACIÓN.....	7
2.2.1. Estructuras para el tratamiento mecánico	7
2.2.2. Elementos para el tratamiento biológico	9
2.3. MANEJO DE LA CALIDAD DEL AGUA EN UN SRA	14
2.3.1. Parámetros de calidad de agua.....	15
2.3.2. Manejo de la calidad de agua.....	21
2.4. EFICIENCIA DEL BIOFILTRO	22
III. MATERIALES Y METODOS.....	24
3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DEL EXPERIMENTO	24
3.2. COMPONENTES Y DISTRIBUCIÓN DEL SRA	24
3.3. MATERIALES Y EQUIPOS	25
3.4. METODOLOGÍA.....	26
3.4.1. Esquema experimental.....	26
3.4.2. Procesamiento de análisis de calidad de agua	29
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1. VARIACIÓN DEL OXÍGENO EN EL SISTEMA DE RECIRCULACIÓN.....	33
4.1.1. Distribución de oxígeno en las estaciones de muestreo.....	33
4.1.2. Variación semanal de Oxígeno	34
4.1.3. Variación horaria de la concentración de oxígeno.....	37
4.1.4. Análisis estadístico de la variación horaria de oxígeno en el sistema	43
4.2. VARIACIÓN DEL NAT EN EL SISTEMA DE RECIRCULACIÓN.....	45

4.2.1. Distribución del NAT en los puntos de muestreo.....	45
4.2.2. Variación semanal de la concentración de NAT	45
4.2.3. Variación horaria de la concentración de amonio	48
4.2.4. Análisis estadístico de la variación horaria de amonio en el sistema	52
4.3. RESULTADO DE LOS CONTROLES DE pH, SALINIDAD Y TEMPERATURA.....	54
4.3.1. Variación de pH en el sistema	54
4.3.2. Variación de la temperatura durante el experimento	57
4.3.3. Variación de la salinidad.....	58
4.4. EFICIENCIA DEL BIOFILTRO	59
V. CONCLUSIONES.....	62
VI. RECOMENDACIONES	63
VII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS.....	64
VIII. ANEXOS	72
Anexo 1: Oxígeno Disuelto aproximado disponible en el sistema.....	72
Anexo 2: Distribución semanal de la concentración de oxígeno en cada una de las estaciones de muestreo.	74
Anexo 3: Variación horaria de los porcentajes de saturación de oxígeno en las tres series de muestreos.	77
Anexo 4: Concentración de NH ₃ -N en las diferentes series de muestreo.	79
Anexo 5: Variación horaria de la temperatura en grados centígrados durante las tres series de muestreos.	82
Anexo 6: Análisis estadísticos.....	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estanque de sedimentación rectangular de flujo continuo.....	8
Figura 2: Placas de sedimentación, aumentan la eficiencia en la remoción de sólidos....	9
Figura 3: Diagrama de un filtro percolador	13
Figura 4: Escala de pH para el cultivo de peces	18
Figura 5: Componentes del SRA, CINPIS.	25
Figura 6: Desarrollo del análisis de amonio en probetas.....	30
Figura 7: Esquema de distribución de oxígeno en el sistema.....	34
Figura 8: Variación de la concentración semanal de oxígeno disuelto (mg.L^{-1}).....	36
Figura 9: Variación horaria de OD en mg.L^{-1} en las series de muestreos horarios	40
Figura 10: Variación horaria de OD en mg.L^{-1} , promedio de las 3 series de muestreo.	41
Figura 11: Variación horaria de NAT en las series de muestreos	50
Figura 12: Variación horaria de la concentración promedio de NAT de las 3 series de muestreos en el sistema.	52
Figura 13: Variación del promedio semanal de pH en el sistema.	55
Figura 14: Variación horaria de pH en las series de muestreos.....	56
Figura 15: Variación semanal de temperatura.....	58
Figura 16: Variación semanal de salinidad.....	59

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Distribución de peces por tanque y carga inicial promedio.....	28
Cuadro 2: Distribución de peces por tanque y carga final promedio.	28
Cuadro 3: Concentraciones semanales de OD (mg.L^{-1}) según puntos de muestreo.....	34
Cuadro 4: Concentración promedio semanal y % de saturación de oxígeno en las estaciones de muestreo.	35
Cuadro 5: Calculo de la concentración de oxígeno disuelto a 100 % de saturación	37
Cuadro 9: Concentraciones promedio de NAT, $\text{NH}_3\text{-N}$ en mg.L^{-1} y % de $\text{NH}_3\text{-N}$ presente en el NAT.	46
Cuadro 10: Análisis estadísticos para los datos del amonio.....	53
Cuadro 11: Variación semanal de los valores de pH en los punto de muestreo.....	54
Cuadro 12: Valores de la eficiencia del biofiltro, en cada serie de muestreos.....	60
Cuadro 13: Variación horaria de $\text{NH}_3\text{-N}$, serie de muestreos I.	80
Cuadro 14: Variación horaria de $\text{NH}_3\text{-N}$, serie de muestreos II.....	80
Cuadro 15: Variación horaria de $\text{NH}_3\text{-N}$, serie de muestreos III.....	81

RESUMEN

Los sistemas de recirculación de agua para la acuicultura (SRA) han demostrado ser una herramienta importante para la producción de peces en los países más desarrollados, sobre todo donde los requerimientos cantidad y calidad de agua y disponibilidad de terreno son limitantes, además de las regulaciones ambientales cada vez más estrictas. En este contexto, la presente tesis busca estudiar el comportamiento de los más importantes parámetros de calidad de agua en un SRA que funcione con agua de mar. Es así que se planteó, el análisis de la dinámica del oxígeno y el amonio, ya que son los parámetros limitantes en la producción de peces en este tipo de sistemas. Para ello, se utilizó uno de los sistemas de recirculación (SRA) que se encuentran en el Centro de Investigación Piscícola (CINPIS), de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), en donde se acondicionaron tilapias al agua de mar (la salinidad fluctuó entre 34.5 a 35.5 ‰), produciendo estas los desechos nitrogenados (amonio) necesarios para hacer el estudio. Se obtuvieron valores promedio para el oxígeno entre 6.48 a 6.78 mg.L⁻¹, con porcentajes de saturación de entre 94.08 a 98.43 % respectivamente. En el caso del amonio, tanto para el nitrógeno amoniacal total (NAT), como para el amonio no ionizado (NH₃-N), los valores promedio fluctuaron entre 0.036 a 0.062 mg.L⁻¹ de NAT y 0.007 a 0.0012 mg.L⁻¹ de NH₃-N. Para ambos parámetros, los valores estuvieron dentro de los rangos óptimos para el cultivo de peces en agua de mar. Además, se destaca la función del biofiltro, el cual mostro eficiencia en la remoción de amonio, con tasas que estuvieron en el rango 20.51 a 55.23 %.

Palabras claves: Sistemas de recirculación, acuicultura marina, nitrificación, biofiltro, amonio, oxígeno.

I. INTRODUCCIÓN

La demanda mundial de pescado es cada vez mayor y la mayoría de pesquerías en el mundo están llegando a su máximo rendimiento sostenible, escenario que plantea a la acuicultura como una herramienta indispensable para la producción de productos acuáticos que aporten la cantidad de proteína necesaria para la creciente población mundial. Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2014), el pescado es la principal fuente de proteínas para el 17 % de la población mundial, y para cerca del 25 % de la población en los países de bajos ingresos y con déficit de alimentos, y de esta cantidad de oferta, el 50 por ciento proviene de la acuicultura.

La producción acuícola mundial sigue en crecimiento, la FAO (2014) expone en sus últimas estadísticas, que la acuicultura ha llegado a alcanzar una máxima producción histórica con 90,4 millones de toneladas en 2012. En el mismo contexto, el Informe Perspectivas Agrícolas 2013-2022, desarrollado por la FAO y la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OCDE), sugiere que la acuicultura seguirá en aumento, en ese sentido, el informe prevé que el consumo de pescado criado en cautiverio superará al del pescado silvestre en el año 2015.

Este escenario muestra que la acuicultura a lo largo de las últimas dos décadas ha crecido notablemente, mostrando diferentes formas de cultivo, que van desde sistemas extensivos y de subsistencia hasta sistemas súper intensivos de altas densidades de siembra y altos estándares de producción. Según Krause et al. (2006) la mayor parte de la acuicultura de peces y crustáceos se lleva a cabo en estanques de tierra o grandes tanques con flujo continuo de agua. El cultivo en estanques requiere de grandes extensiones de tierra plana y cantidades significativas de aguas limpias. En el caso de los tanques de flujo continuo, éstos requieren menos extensiones de tierra pero necesitan más agua por kilogramo de pescado producido para mantener las buenas condiciones de crecimiento dentro del tanque, lo que conlleva a un consumo significativo de agua. La falta de espacio para la expansión y nuevos sitios, limitada disponibilidad de agua dulce y la preocupación por la contaminación, son considerados como los principales obstáculos para una mayor expansión de la acuicultura basada en jaulas y la de sistemas

de flujo continuo convencional (Badiola et al. 2010). Siguiendo la misma línea, Kumar et al. (2010), sostienen que la necesidad de aumentar la producción de la acuicultura impulsa a esta industria hacia prácticas más intensivas, debido a las limitaciones en la calidad y cantidad de agua, la disponibilidad y el costo de la tierra, las limitaciones en la descarga de agua y los impactos ambientales. El mismo autor plantea, que los sistemas de recirculación para la acuicultura (SRA), de cero intercambios de agua, son la única solución para estos problemas. Las características de estos sistemas llevaron a que, los principales países europeos productores acuícolas (Reino Unido, Irlanda, Italia y Noruega), hayan promovido a los SRA como una de las posibles soluciones y oportunidades para desarrollar más la acuicultura (Badiola et al. 2010).

Dado que el agua se reutiliza, los sistemas de producción de peces basados en recirculación, utilizan solamente una fracción del agua requerida por las técnicas de producción acuícola tradicional (Krause et al. 2006). Una de las principales ventajas de los SRA son la capacidad de controlar el ambiente y los numerosos parámetros de calidad de agua para optimizar la salud de los peces y sus tasas de crecimiento (Timmons 2002).

Además de las ventajas que plantean los SRA es de suma importancia tener en cuenta el deterioro de la calidad de agua que en ellos puede darse si los tratamientos diseñados para este fin no se controlan adecuadamente. Partiendo de esta premisa, Molleda (2007) sostiene que los problemas de calidad del agua en un SRA se asocian principalmente con el oxígeno disuelto (OD) y los altos niveles de metabolitos (amonio principalmente y nitrito) producto de los residuos de alimento no consumido y los desechos de los peces en cultivo (orina y heces). Adicional a esto, Bocioc et al. (2011) mencionan que la calidad del agua en un sistema de recirculación para el cultivo de peces está determinada por la concentración de oxígeno disuelto, nitrógeno amoniacal desionizado (NH_3), nitrito (NO_2) y CO_2 , además sostienen que la química del agua tiene una influencia decisiva en el desarrollo de los peces, directa o indirectamente, en ella, las sustancias orgánicas o inorgánicas solventes en el agua de cultivo deben encontrarse en cantidades correspondientes a la biológica de la especie, lo que garantiza un desarrollo normal de los mismos. En tal sentido, Díaz et al. (2012) mencionan que los parámetros más importantes de calidad del agua en las actividades acuícolas son el oxígeno disuelto, el amonio, el nitrito y el nitrato, la temperatura, la salinidad y el pH.

La concentración de oxígeno en el agua es el primer factor limitante en los sistemas de recirculación (Mongirdas y Kusta 2006). Los peces utilizan el oxígeno para convertir el alimento en energía y biomasa, dependiendo de la especie para un óptimo crecimiento requieren una concentración de oxígeno disuelto aproximadamente $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (en especies de aguas cálidas) y $7,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (en especies de agua fría) (Molleda 2007). En una investigación realizada por Parker et al. (2012) plantean que el manejo eficaz de la concentración de oxígeno disuelto (OD) es el factor más crítico en el funcionamiento de los sistemas de recirculación de agua para la acuicultura comercial. Los peces, las bacterias nitrificantes en el biofiltro y bacterias heterótrofas que se alimentan de la comida no consumida y los residuos orgánicos, todos necesitan oxígeno.

La descomposición de compuestos de nitrógeno es de gran importancia en la acuicultura, debido a que algunos productos de su degradación, principalmente el amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$), el nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$) y en menor grado el nitrato ($\text{NO}_3\text{-N}$), son tóxicos cuando se acumulan en niveles altos. En los sistemas de recirculación, los residuos de materia orgánica (alimentos no consumidos y heces) son descompuestos por bacterias heterotróficas, en compuestos orgánicos más simples, el producto final de este proceso es el amonio (Bocioc et al. 2011). Martínez (2002) sostiene que la mayoría de peces son amoniotelicos, lo que significa que entre el 70 al 90 por ciento del nitrógeno excretado lo hacen en forma de amonio. Además, el amonio es el metabolito más tóxico de los productos nitrogenados finales, por lo que es el principal limitante de la biomasa y la densidad de peces en los cultivos intensivos.

Por lo anterior expuesto, en esta investigación se analizó la dinámica del oxígeno disuelto (OD) y del nitrógeno amoniacal total (NAT) como principales parámetros a manejar en un SRA con agua de mar. Complementando la investigación, se analizaron también, la temperatura, el pH y la salinidad. Debido a la limitada información que se encuentra en la literatura sobre el potencial de nitrificación en sistemas marinos (Diaz, et al. 2012), además de los beneficios que muestra la aplicación de esta tecnología, esta investigación direccionó sus esfuerzos en conocer la dinámica del oxígeno y el amonio, como principales parámetros de calidad de agua en un SRA con agua de mar natural. Finalmente se analizó la eficiencia del biofiltro en función a la remoción de amonio. La investigación se desarrolló en el Centro de Investigación Piscícola (CINPIS), de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

Los objetivos del trabajo de investigación fueron los siguientes:

Objetivo general

Estudiar la dinámica en las concentraciones de oxígeno y amonio en un sistema de recirculación experimental con agua de mar.

Objetivos específicos

- Conocer la variación horaria del oxígeno y el amonio en los tanques de cultivo del sistema de recirculación.
- Evaluar la eficiencia del biofiltro en función a la remoción de amonio producido en el sistema de recirculación.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN

2.1.1. Generalidades de un sistema de recirculación para acuicultura (SRA)

Los SRA se desarrollaron como una tecnología para la acuicultura intensiva, que se utiliza principalmente cuando la disponibilidad de agua está restringida, permitiendo que se recicle el agua hasta en un 90-99 por ciento. Estos sistemas permiten al operador un mayor control sobre los parámetros de calidad del medio ambiente y del agua, permitiendo las condiciones óptimas para el cultivo de peces (Heinen, citado por Badiola et al. 2012). Los SRA no son sistemas simples, son sistemas donde interaccionan tecnología y biología, ellos requieren de la supervisión constante de su rendimiento. Estos sistemas se han beneficiado del desarrollo continuo, desde los sistemas más simples de tratamiento de agua hasta los que incluyen procesos más sofisticados, hoy en día se consideran métodos de "alta tecnología" (Muir , Rosenthal, citados por Badiola et al. 2012).

Por lo general, los SRAs constan de componentes de filtración mecánica y biológica, bombas y tanques de retención, además pueden incluir una serie de elementos adicionales de tratamiento que mejoren la calidad del agua y proporcionen control sobre las enfermedades dentro del sistema. Un SRA comercial debe de estar respaldado por un proceso de diseño eficiente, además de un balance de masas que identifique y cuantifique todas las entradas, salidas, las conversiones y los procesos de consumo que se producirán dentro de la operación de cultivo. Estos cálculos deben constituir la base para especificaciones de rendimiento, la selección de componentes y la configuración del sistema (Hutchinson et al. 2004).

2.1.2. Dinámica de desechos en un SRA

En el caso de alimentos usados en sistemas de recirculación la EPA (2006) sostiene que la máxima prioridad en la formulación del alimento balanceado es la minimización de la excreción metabólica de nitrógeno que se produce a partir del catabolismo de aminoácidos para proporcionar energía metabólica, relacionada específicamente a la reducción de la excreción de nitrógeno en las heces resultante de la proteína no digerida.

Una de las fuentes de nitrógeno en los sistemas de producción para peces son los aminoácidos obtenidos de la digestión de proteínas. Una vez absorbidos estos aminoácidos pueden ser usados para construir nuevas proteínas o pueden ser desaminados y los residuos utilizados para formar otros compuestos (amonio, urea y ácido úrico) (Brusca, citado por Riaño 2013). La mayoría de peces teleósteos son amoniotélicos, puesto que el exceso de nitrógeno liberado durante la desaminación es excretado en forma de amonio (Riaño 2013).

Una gran parte (30 por ciento a 50 por ciento) de la dieta con la que se alimenta a los peces es proteína. La proteína se compone de carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno. Cuando la proteína es digerida por los peces, se excreta urea y amonio como nitrógeno, que también se conoce como nitrógeno amoniacal total (NAT). La porción no ionizada de NAT es el NH_3 y es extremadamente tóxico para los peces. La cantidad de la forma no ionizada de NAT depende en gran medida del pH en el agua. A un pH de 7.0, menos del uno por ciento del NAT está en su forma más tóxica (Krause et al. 2006).

Una estimación teórica de las cantidades de los diferentes desechos de los peces se basa en un balance de masas simplificado, que vincula el crecimiento, consumo de alimento y la producción de residuos. La producción de residuos se puede expresar mejor por kg de alimento para los niveles de alimentación definidos, tasas de crecimiento y las tasas de conversión de alimento. La calidad y la cantidad de los desechos dependen de la especie de pez y los aspectos relacionados con la alimentación (Bovendeur, Heinsbroek, Einen, Eding y Van Weerd, citados por Eding et al. 2006).

Los datos de producción de desechos son datos básicos para calcular la tasa de flujo de agua y para la determinación de las dimensiones de las unidades de tratamiento de agua tales como los filtros percoladores (Speece, Bovendeur, Heinsbroek y Kamstra, Losordo y Westers, Wheaton, Timmons, Summerfelt y Vinci, citados por Eding et al. 2006).

El tratamiento de desechos en la acuicultura es esencial para convertirla en una actividad sostenible. En ese sentido Blancheton (2000) plantea que el reciclaje de los desechos producidos por los peces en cultivo, utilizando organismos que se alimentan de estos, puede ayudar a mejorar la rentabilidad de los sistemas de producción acuícola.

2.2. COMPONENTES DE UN SISTEMA DE RECIRCULACIÓN

2.2.1. Estructuras para el tratamiento mecánico

Las elevadas densidades de siembra en los SRA, requieren de altas dosis de alimentos, lo que conlleva a un alto nivel de producción de residuos (es decir, las heces y el alimento no consumido). La degradación biológica de estos residuos (materia orgánica en descomposición), producida por microorganismos (bacterias heterótrofas), consume significativas cantidades de oxígeno, esto es lo que Hutchinson et al. (2004) llaman “demanda biológica de oxígeno – DBO”. Esta degradación biológica se produce en todas las superficies del sistema (tanques, tuberías, filtros y partículas sólidas) y en toda la columna de agua. Una filtración mecánica eficiente reducirá en gran medida la demanda biológica de oxígeno dentro de un SRA.

En ausencia de filtración mecánica adecuada, la presencia de altos niveles de sólidos dentro de los SRA, promueve el crecimiento de la población de microorganismos que degradan la materia orgánica disponible debido a "la disponibilidad de alimentos", convirtiéndose en usuarios importantes del oxígeno disuelto dentro del sistema, aumentando significativamente el suministro de oxígeno necesario en el sistema para sostener altos niveles de crecimiento en los peces y la eficiencia necesaria del biofiltro (Hutchinson et al. 2004). Además, el mismo autor manifiesta que la turbidez y la eliminación de sólidos finos, son problemas comunes que también deben ser tratados mediante filtración mecánica.

La sedimentación por gravedad, es una de las tecnologías más sencillas disponibles para controlar el material particulado sólido en los procesos de enjuague y descarga. Los estanques de sedimentación requieren poca energía, su instalación y operación son relativamente económicas, no requieren de destrezas especiales para su operación y pueden ser fácilmente incorporados tanto en las instalaciones existentes como en instalaciones nuevas (Timmons y Vinci 2006).

Algunas desventajas de los estanques o tanques de sedimentación son sus bajas tasas de carga hidráulica y la casi escasa eficiencia de remoción de sólidos pequeños (< 100 μm), además requieren de un espacio considerablemente mayor que el requerido por los sistemas de micro-filtración. Otro potencial inconveniente, es que los restos orgánicos sedimentados permanecen en el sistema hasta que se limpia el estanque de

sedimentación. La disolución de nutrientes y la re-suspensión de los sólidos que se han sedimentado y recogido del fondo de los estanques de sedimentación pueden reducir considerablemente el comportamiento esperado de estos clasificadores (Cripps y Kelly, citados por Timmons y Vinci 2006).

Conceptualmente, todos los estanques de sedimentación de flujo continuo están divididos en cuatro zonas de acuerdo a su función: La zona de entrada (1), que sirve para distribuir uniformemente el agua sobre toda la sección transversal del estanque. En la zona de sedimentación efectiva (2) (los sólidos son separados de la columna de agua), depositándose en la zona de sedimentos (3) (el fondo del estanque). El líquido clarificado generalmente se recolecta de toda la sección transversal del estanque en la zona de salida (4) (Fig. 1).

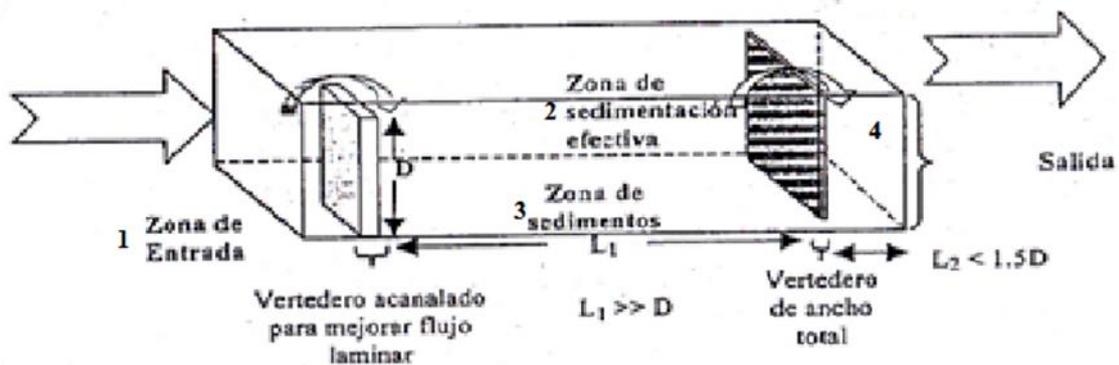


Figura 1: Estanque de sedimentación rectangular de flujo continuo (FUENTE: Timmons, 2002).

Una objeción importante al uso de estanques o tanques de sedimentación es su requerimiento de gran superficie de suelo, que normalmente suele ser costoso. De darse este caso, el área del estanque o tanque de sedimentación puede disminuirse agregando obstáculos, generalmente la estructura de estos está constituida por tubos o pilas de placas paralelas, diseñadas en múltiples formas (cuadras, rectangulares, hexagonales, etc.). Durante la operación, el agua afluyente va hacia un tubo o placa sedimentadora, subiendo a través de los tubos o placas inclinadas, mientras los sólidos se depositan sobre las superficies plásticas. Generalmente la inclinación de los tubos o placas es de 45°- 60° sobre la horizontal. Estos ángulos proporcionan el mayor grado de auto

limpieza gravitatoria de los sólidos decantados del medio hacia el fondo del tanque (Timmons et al. 2002).

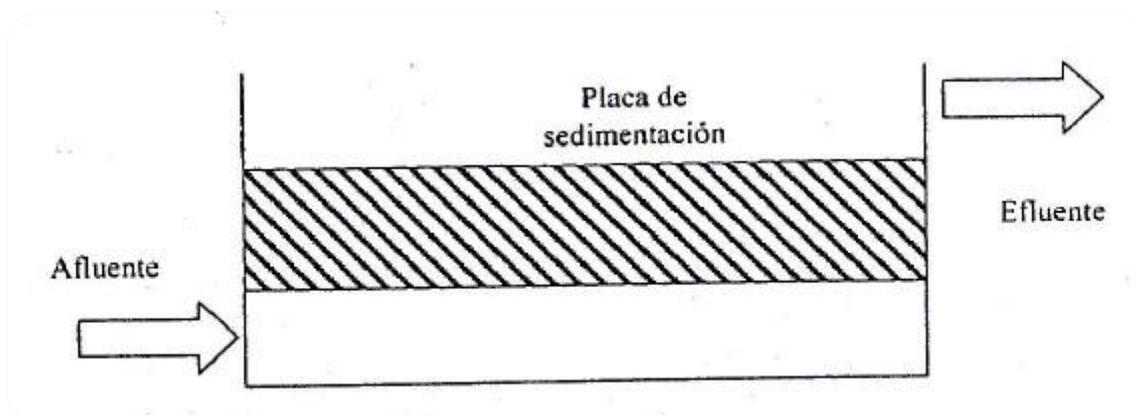


Figura 2: Placas de sedimentación, aumentan la eficiencia de en la remoción de sólidos (FUENTE: Timmons, 2002).

2.2.2. Elementos para el tratamiento biológico

a. Filtración biológica

Uno de los puntos clave en el diseño de un SRA es la filtración biológica mediante el uso de filtros biológicos. Se componen de un bio-reactor o tanque que contiene sustratos de diferentes materiales, diseñado para tener la máxima superficie de contacto con el fin de promover el crecimiento de la comunidad bacteriana a través de la producción de una bio-película (Avnimelech, Gutiérrez-Wing y Malone 2006). Un SRA permite una producción muy alta de peces por unidad de superficie, pero afronta limitaciones importantes. Como se mencionó anteriormente, como resultado de la excreción de peces y la descomposición del alimento no consumido, se producen compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato). El nitrógeno amoniacal es uno de los parámetros más importantes la calidad del agua en el cultivo de peces. Se excreta principalmente como la forma no ionizada (NH_3), aunque las dos formas, no-ionizada y ionizada (NH_3 y NH_4^+) se encuentran en equilibrio en el agua (Lemarié, Colt, Eshchar, citados por Diaz et al. 2012), siendo el amonio no ionizado (NH_3), el más toxico.

La concentración relativa de cada una de estas formas está en función de la temperatura, el pH y la salinidad (Ebeling, Reddy-Lopata, citados por Merino 2011). Las concentraciones de la forma no ionizada (NH_3) aumentan con elevados valores de pH y

temperatura y disminuyen con salinidades más altas (Huchette, citado por Merino 2011). Estos compuestos (NH_3 y NH_4^+), también pueden ser expresados en términos relativos al contenido de nitrógeno y se conoce como Nitrógeno Amoniacal Total (NAT), siendo $\text{NH}_3\text{-N}$ y $\text{NH}_4^+\text{-N}$ denominados como: nitrógeno en forma de amonio no ionizado y nitrógeno en forma de amonio ionizado, respectivamente. El NAT se utiliza a menudo como un parámetro de calidad de agua clave que limita el diseño y operación de los SRA (Lemarié, Colt, Eshchar, citados por Diaz et al. 2012). El proceso de remoción de NAT en el biofiltro se denomina nitrificación y consiste en la sucesiva oxidación del amonio, primero a nitrito y finalmente a nitrato (Timmons 2002).

La capacidad de nitrificación de un biofiltro se debe al biofilm o bio-película que se forma en él. El biofilm se describe a menudo en términos de una estructura en capas, con una capa interior formada por una biomasa inerte que se adhiere sobre la superficie de los medios de fijación, herméticamente superpuesta por una rica población de bacterias nitrificantes y bacterias heterótrofas que dominan la capa exterior (Zhang et al., Ohashi et al., citados por Malone y Pfeiffer 2006). Existen diferentes medios de fijación para los biofiltros, estos pueden ser de grava y arena, bolas de plástico, tubos de plástico, tubería de PVC (Malone y Pfeiffer 2006), entre otros.

El nitrato es el producto final del proceso de nitrificación y de las diferentes formas de nitrógeno inorgánico, es considerado el menos tóxico para los peces, sin embargo, en altas concentraciones puede ser perjudicial, por lo que los niveles de nitrato en general son controlados por recambios de agua (Singer et al., van Rijn et al., van Kessel et al., citados por Díaz et al. 2012).

En general, el nivel aceptable de nitrógeno en forma de amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$) en aguas de cultivo para peces es sólo $0,0125 \text{ mg.L}^{-1}$ (Colt y Armstrong, Meade, citados por Chen et al. 2006). En otro estudio, Losordo y Westers (1994) citados por Chen et al. (2006) determinaron el criterio de diseño para la concentración nitrógeno en forma de amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$), en un SRA en 0.025 mg.L^{-1} .

Para la biofiltración, es necesario proporcionar un "medio de fijación" con una gran área de superficie, donde las bacterias nitrificantes puedan unirse y multiplicarse. Un tipo de bacteria llamado Nitrosomonas utilizan el nitrógeno amoniacal total (NAT) para crecer, convirtiendo el NAT en nitrógeno en forma de nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$). A su vez, el nitrógeno

en forma de nitrito se convierte en nitrógeno en forma de nitrato (NO₃-N) por otro tipo de bacterias nitrificantes llamada Nitrobacter. El nitrato es generalmente no tóxico para los peces en cultivo y su concentración en los SRA se regula normalmente con recambios de agua de relativo bajo nivel (Krause et al. 2006).

El primer paso del proceso de nitrificación es la oxidación de amonio. Para completar este proceso, el amonio se convierte en hidroxilamina por la enzima amonio mono-oxigenasa. Esto es seguido por la conversión de hidroxilamina a nitrito por la enzima hidroxilamina oxidoreductasa. Este primer paso se lleva a cabo por bacterias quimioautotróficas oxidantes de amonio. Los géneros dominantes de bacterias oxidantes de amonio incluyen: Nitrosomonas, Nitrospira y Nitrosococcus (Hovanec y DeLong, Mobarry, Wagner et al., Juretschko, Okabe et al., Kim y Ivanon, Biesterfield et al., Burrell et al., Rowan et al., citados por Cheatham 2009). La reacción general por el cual el amonio se convierte en nitrito libera 84 kcal / mol de energía. A continuación se presenta la ecuación combinando los dos pasos individuales dentro del proceso de oxidación de amonio, en el que se produce de hidroxilamina y después es consumida (Cheatham 2009).



(FUENTE: Cheatham 2009)

El segundo paso del proceso de nitrificación es la oxidación de nitrito, que se lleva a cabo por la enzima nitrito oxidasa. Los géneros principales de bacterias oxidantes de nitrito incluyen al Nitrobacter, la Nitrospira, y el Nitrococcus. Al igual que sus contrapartes oxidantes de amonio, la mayoría de las bacterias responsables de la oxidación de nitrito son también quimioautótrofas gram-negativas aerobias, para producir biomasa utilizan una fuente inorgánica de electrones y carbono inorgánico. La reacción mediante la cual se convierte el nitrito a nitrato libera 17,8 kcal / mol, aproximadamente sólo ¼ de la energía liberada por la oxidación de amonio (Hagopian y Riley, citados por Cheatham 2009).



(FUENTE: Cheatham 2009)

Como se ha mencionado las bacterias nitrificantes son gram-negativas, prefieren agruparse en agregados tanto en ambientes de agua dulce como marinos y son muy preferentes a la formación de bio-películas, donde las bacterias oxidantes de amonio y de nitrito viven en estrecha proximidad entre sí. La preferencia por la formación de la bio-película es tan significativa que se estima que entre el 70 y el 95 por ciento de las bacterias nitrificantes dejan la suspensión y buscan una superficie para su fijación dentro de los treinta minutos de su introducción dentro de algún sistema (Diab y Shilo, Hagopian y Riley, citados por Cheatham 2009). Aunque algunas bacterias oxidantes de nitrito son capaces de usar fuentes de carbono orgánicas, la mayoría de las bacterias nitrificantes son autótrofas. Esto significa, que requieren para sobrevivir y crecer, una fuente de carbono inorgánico, tal como el dióxido de carbono. El carbono inorgánico se fija y se utiliza para generar masa celular (biomasa) a través del ciclo de Calvin (Cheatham 2009).

b. Tipos de biofiltros

Sandu et al. (2002) describe cuatro tipos diferentes de biofiltros:

- **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 hacia abajo por sobre el medio y mantiene la película bacteriana mojada, pero nunca completamente sumergida. El filtro percolador puede remover de 23-52 por ciento de amonio (Wheaton et al., citado por Timmons et al. 2002). Siendo este tipo de biofiltro el utilizado en esta investigación, será expuesto con mayor detalle más adelante.
- **Disco rotatorio:** En este sistema, el sustrato para las bacterias nitrificantes se compone de una serie de placas circulares paralelas, que están montados 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.

c. Biofiltros percoladores

Según Díaz et al. (2012) los filtros percoladores en los que el agua fluye a través de un medio filtrante estacionario por gravedad, son biofiltros atractivos para su aplicación en el cultivo de peces. Presentan tasas de remoción NAT que van de 0,1 a 0,9 $\text{g.m}^{-2}.\text{día}^{-1}$ (Eding et al., citados por Diaz et al. 2012) y una serie de ventajas, como bajos costos de construcción, operación y mantenimiento, un funcionamiento robusto, que significa una mayor tolerancia a las diferencias en las cargas hidráulicas y orgánicas, la capacidad de mantener niveles altos y constantes de oxígeno, además de la eliminación de dióxido de carbono producido por los peces (desgasificación).

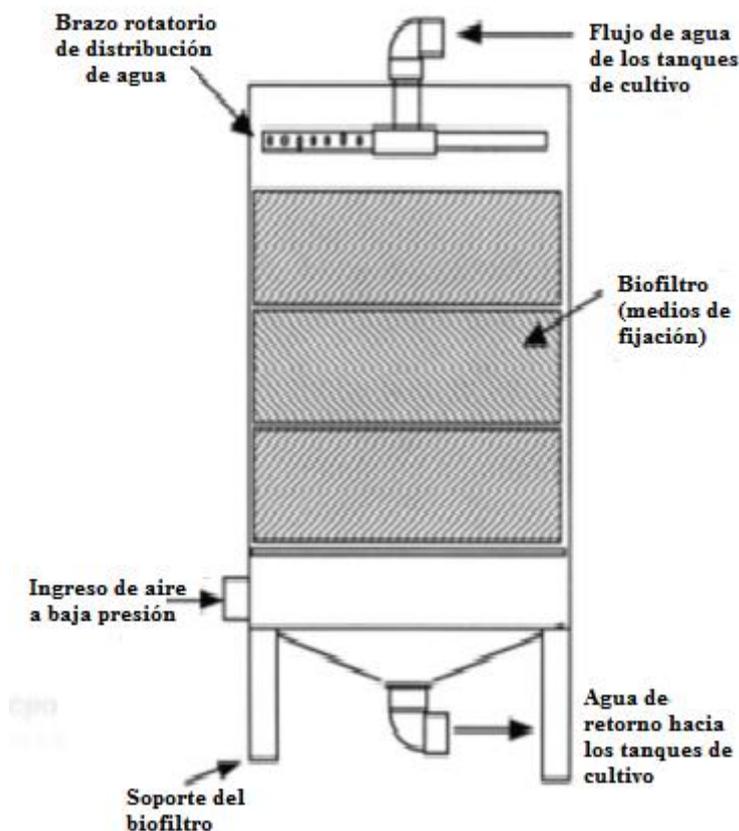


Figura 3: Diagrama de un filtro percolador (FUENTE: Losordo et al. 1999).

Según Losordo et al. (1999) los filtros percoladores, utilizados en los SRA han evolucionado a partir de los que se utilizan en el tratamiento de las aguas residuales domésticas. Este tipo de filtro consta de un sistema de distribución de agua en la parte superior de un reactor o tanque, lleno con un medio de fijación donde se forma la biopelícula de bacterias nitrificantes, estos tienen un área de superficie específica determinada, generalmente alrededor de 100 a 300 m².m⁻³. Los medios de fijación tienen la característica de crear un gran espacio de vacío (aire) dentro del biofiltro (Fig. 3), lo que Timmons et al. (2002) llaman alta fracción de hueco (>90%). Estos biofiltros son operados en una configuración no inundada dentro del sistema (el término no inundado se utiliza para indicar que los medios de fijación en el biofiltro no está completamente sumergido en el agua), lo que facilita la nitrificación, la aireación, y la eliminación de dióxido de carbono del sistema (Losordo et al. 1999).

La principal desventaja de los filtros percoladores es que son relativamente grandes y los medios de fijación para el biofiltro son caros. Además, si el agua recirculada no tiene un pre-filtrado eficiente para eliminar los sólidos en suspensión, los filtros percoladores pueden obstruirse con el tiempo. Las tasas de nitrificación volumétricas que se pueden esperar de este tipo de biofiltros son de aproximadamente 90 gNAT.m⁻³.dia⁻¹ (Losordo et al. 1999).

2.3. MANEJO DE LA CALIDAD DEL AGUA EN UN SRA

En los SRA la calidad de agua está referida a los parámetros críticos relacionados a las necesidades del pez en cultivo, pero también, es necesario tener en cuenta el impacto que la calidad de agua pueda tener sobre los biofiltros (Colt 2006). En un SRA la calidad del agua se determina, principalmente por la concentración de oxígeno disuelto, nitrógeno amoniacal no ionizado, el nitrito y el CO₂. Los niveles de concentración de nitratos, pH y alcalinidad del agua constituye también parámetros importantes de la calidad del agua (Cristea et al., citados por Bocioc et al. 2010).

La química del agua es de suma importancia, el mal funcionamiento de las condiciones de calidad de agua en acuicultura puede reducir la rentabilidad en la producción, debido a que estos problemas conducen al estrés de los peces, propiciando el deterioro de la salud de los mismos, aumentando el riesgo de enfermedades infecciosas y la catastrófica

pérdida de peces (Isla et al. 2008). Asimismo, Bocioc et al. (2010) añaden que una mala calidad del agua conduce a una alta ineficiencia relacionada a la conversión de alimento, lo que lleva a altos costos de funcionamiento en el sistema.

2.3.1. Parámetros de calidad de agua

Oxígeno

El oxígeno disuelto (OD) es uno de los parámetros más importantes que determinan la calidad del agua en un sistema de recirculación, es el limitante para la capacidad de carga y la densidad de siembra dentro de los SRA (Bocioc et al. 2010), de manera que es necesario mantener una alta concentración de oxígeno disuelto para la buena salud de los organismos cultivados y el buen funcionamiento del biofiltro relacionado al mantenimiento de bacterias aeróbicas (Watson y Hill 2006).

Merino (2011) sostiene que las únicas fuentes de ingreso de OD, en un SRA, lo constituyen el que ingresa con el caudal de agua y aquel ingresado por sistemas de tratamiento de gases. Cabe mencionar que la concentración de oxígeno es más alta a bajas temperaturas y más baja a altas temperaturas, condición que según Timmons (2006) es exactamente contraria a lo que los peces necesitan para su metabolismo basal y conversión de alimento. Merino (2011) menciona que la solubilidad del oxígeno disminuye a medida que aumenta la temperatura y salinidad, así como también, la presión barométrica y la altura influyen directamente en la concentración de oxígeno.

Amonio

En el agua, el amonio existe en dos formas: amonio no-ionizado (NH_3) y amonio ionizado (NH_4^+). La concentración relativa de cada una de estas formas es principalmente una función del pH, temperatura y salinidad (Anthonisen et al., citados por Chen et al. 2006). La disociación ácida del amonio se expresa como:



Es común en química acuática expresar los compuestos de nitrógeno inorgánico en términos del nitrógeno que contienen, es decir, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (nitrógeno en forma de amonio ionizado) y $\text{NH}_3\text{-N}$ (nitrógeno en forma de amonio no-ionizado). Esto permite un cálculo más fácil del nitrógeno amoniacal total ($\text{NAT} = \text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NH}_3\text{-N}$) y balances de masa entre las diversas etapas del proceso de nitrificación (Ebeling et al. 2006). El nitrógeno en forma de amonio no-ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$) es la forma más tóxica del amonio debido a su capacidad de moverse a través de las membranas celulares, por lo que la toxicidad del NAT depende del porcentaje de la forma no ionizada. Un aumento en el pH, la temperatura aumenta la proporción de la forma no ionizada de nitrógeno amoniacal (Ebeling 2012) y un aumento en la salinidad disminuye la forma no ionizada de nitrógeno amoniacal. Para estimar la fracción molar de nitrógeno en forma de amonio no-ionizado Merino (2011) propone la siguiente expresión:

$$a = 1 / 1 + 10^{((\text{pKa} + \text{Sk} + 0.0324 (24.85 - T)) - \text{pH})}$$

Dónde:

a = es la fracción molar del amonio no-ionizado

pKa = logaritmo negativo de la constante de disociación ácida para amonio total

Sk = término de corrección para la salinidad

T = temperatura en °C

Emerson et al., citado por Merino (2011) presentó la siguiente expresión para calcular la constante de disociación ácida para en amonio total:

$$\text{pKa} = 0.09018 + 2729.92/T + 273.15$$

Whitfield, citado por Merino (2011), propuso el cálculo del término de corrección para la hidrólisis del amonio total en medio salino con la siguiente fórmula:

$$\text{Sk} = 2.3116 * S / 1000 - 1.005109 * S$$

S = salinidad en ‰ (partes por mil)

Finalmente el nitrógeno en forma de amonio no-ionizado puede ser calculado como:

$$\text{NH}_3\text{-N} = a * \text{NAT}$$

Nitrito

El nitrito es tóxico para los peces alterando múltiples funciones fisiológicas incluyendo la regulación iónica, respiratoria, cardiovascular, endocrina y procesos excretores. Una consecuencia de la acumulación crítica de nitrito es la oxidación de la hemoglobina en metahemoglobina, comprometiendo el transporte de oxígeno en la sangre. La toxicidad del nitrito para los peces varía considerablemente y depende de un gran número de factores externos e internos. Entre las más importantes tenemos: la calidad del agua (pH, temperatura, cationes, aniones, la concentración de oxígeno, entre otros), la duración de la exposición, la especie de pez, el tamaño, la edad y la susceptibilidad individual del pez (Kroupova et al. 2005).

Svobodová et al. (2005) describen tres casos en que la salud de peces se ve gravemente afectada por altas concentraciones de nitrito en el agua y la subsecuente formación de metahemoglobina en sangre. Encontraron altos niveles de metahemoglobina en la sangre del pez gato (*Silurus glanis L.*), la tenca (*Tinca tinca L.*) y la tilapia (*Oreochromis niloticus*), mostrando síntomas de letargo, posición lateral, calambres musculares y agallas de color marrón oscuro. Los tres casos reportados, utilizaron tecnología de recirculación (SRA) y en los tres casos se llegó a la conclusión de que la acumulación de nitrito se debió a un mal funcionamiento del biofiltro.

Nitrato

Sánchez (2011) comenta que aunque el nitrato (producto final de la nitrificación) es la presentación menos tóxica del nitrógeno, algunas investigaciones han reportado efectos nocivos en ciertas especies producidas por altas concentraciones de este compuesto, esta situación es especialmente importante en el caso de organismos marinos debido a su acción inhibitoria de la osmoregulación de estos organismos. Con base en lo anterior, es práctica común el control de los niveles de nitratos en SRA por medio del recambio diario de un cierto porcentaje del agua del sistema, del orden del 5 al 10%.

Es importante denotar el hecho que el nitrato puede ser removido del sistema por medio de un proceso llamado desnitrificación, el cual se lleva a cabo de manera natural por ciertas especies de bacterias que en ausencia de oxígeno y en presencia de etanol liberan en forma de gas el nitrógeno del sistema. No obstante, se hace hincapié que el nitrato es una excelente forma de aportar nitrógeno a los sistemas agrícolas e hidropónicos. Este

es el fundamento de los sistemas acuapónicos, los cuales son sistemas integrados de peces y plantas que obtienen rendimientos considerables y que usan el agua de manera más eficiente que ningún otro sistema de cultivo en la actualidad (Alatorre 2007).

pH

El pH indica la concentración de iones de hidrógeno en agua y se define como el logaritmo negativo de la concentración molar de iones de hidrógeno ($-\log [H^+]$). El rango de pH recomendado para la acuicultura es 6,5 a 9,0 (Wurts y Durborow 1992). Si las lecturas de pH se encuentran fuera de este rango, se reduce el crecimiento de los peces. Con valores por debajo de 4,5 o por encima de 10, se producen mortalidades. En los sistemas de recirculación, la nitrificación producida por las bacterias en el biofiltro y la respiración de los peces disminuyen el pH (Buttner 1993).

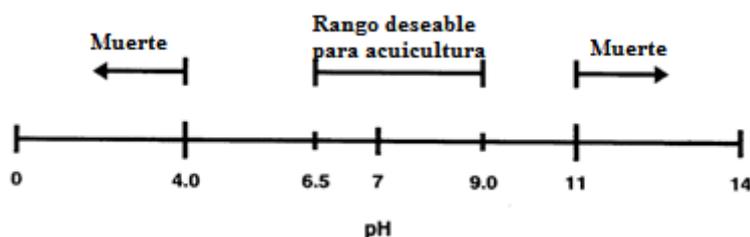


Figura 4: Escala de pH para el cultivo de peces (FUENTE: Wurts y Durborow 1992)

Wurts y Durborow (1992), comentan que los peces y otros vertebrados tienen un pH arterial promedio de 7,4. La sangre de los peces entra en estrecho contacto con el agua (1 o 2 células de separación) a medida que pasa a través de los vasos sanguíneos de las branquias y la piel. Un intervalo deseable de pH en el agua, para actividades acuícolas, estaría cerca del pH de la sangre de los peces (es decir, 7,0 a 8,0).

El agua pura expuesta al aire tiene un pH ácido de aproximadamente 5.6, porque los hidratos de dióxido de carbono en agua forman ácido carbónico, que se disocia a ión de hidrógeno y bicarbonato (HCO_3^-):



Las aguas naturales nunca son puras, porque el agua es un disolvente poderoso. El agua disuelve algunos gases y sólidos con los que entra en contacto, algunas de estas sustancias disueltas afectan el pH del agua. El bicarbonato y carbonato (CO_3^{2-}) están cargados por iones negativos (aniones) comunes en la mayoría de aguas, estos aniones básicos se diluyen en el agua aumentando el pH. El bicarbonato y carbonato son también los aniones principales responsables de la propiedad del agua llamado "alcalinidad", que es la capacidad del agua para neutralizar el ácido. Interacciones químicas entre el dióxido de carbono, iones de hidrógeno, y los aniones que producen alcalinidad tamponan el pH de la mayoría de las aguas naturales en un intervalo de aproximadamente 6 a 8,5 (Tucker y D'Abramo 2008).

Los cambios en el pH son logarítmicos, por lo que la concentración de H^+ u OH^- aumenta o disminuye por un factor de 10 con el cambio de 1 unidad de pH. Esto significa a pH 6 hay 100 veces más iones H^+ que a pH 8. El pH es un parámetro importante en un sistema acuático, debido a que muchas reacciones químicas que afectan el tejido vivo de animales acuáticos son dependientes del pH. El pH del agua de mar es ligeramente básico, siendo relativamente estable entre 8,0 y 8,5 (Wright 2011).

El intervalo óptimo de pH reportado para la nitrificación es 7,0 - 8,8. El intervalo óptimo está determinado por tres efectos que el pH ejerce sobre las bacterias nitrificantes, a) activación - desactivación, b) efecto nutricional asociados con la alcalinidad y c) la inhibición a través de amonio libre y el ácido nitroso libre, (Villaverde et al., citados por Saidu 2009). El peligro que representa el amonio en el medio acuático se debe a su toxicidad a niveles relativamente bajos, esta toxicidad viene dada por la proporción de amonio no ionizado (NH_3) que se encuentra en el agua, esta proporción está controlada por factores físico-químicos entre ellos el pH (Martínez 2002). Esto tiene relación con lo que expresa Alatorre (2007), quien plantea, que con un incremento en el pH la proporción de NAT en su forma más tóxica también se incrementa. De manera que, a bajo pH y bajas temperaturas, el amonio se encuentra en su mayoría en su forma no tóxica, mientras que a altos valores de pH (> 8.5) y altas temperaturas la fracción tóxica de NAT es también alta.

Temperatura

Un parámetro ambiental determinante para el crecimiento de peces en cautiverio es la temperatura, la cual incrementa proporcional y positivamente la tasa de crecimiento hasta alcanzar su nivel óptimo, después de la cual tiene efectos negativos (Pepe-Victoriano et al. 2012).

Martinez (2002) sostiene que se conoce el efecto que tiene la temperatura sobre el metabolismo de los peces, la cual incrementa los costes de mantenimiento de las funciones corporales, acelera el crecimiento y aumenta las demandas energéticas asociadas con la actividad del pez, además repercute en una mayor excreción de amonio. Masser et al. (1999) sostiene que se debe mantener una temperatura dentro del rango óptimo para el crecimiento de la especie cultivada. A temperaturas óptimas los peces crecen rápidamente, convierten el alimento de manera eficiente, y son relativamente resistentes a muchas enfermedades. De igual forma, la eficiencia del biofiltro también se ve afectada por la temperatura, pero no es generalmente un problema en los sistemas de aguas cálidas. La temperatura puede ser regulada con calentadores de inmersión eléctricos, unidades de calefacción a gas o eléctrico, intercambiadores de calor, enfriadores, o bombas de calor.

Salinidad

La salinidad se define como la concentración total de iones disueltos en el agua, y generalmente se expresa en partes por mil (‰ o ppt), gramos de sal por kilogramo de agua de mar. Cada una de las especies acuáticas tiene un rango óptimo de salinidad para su reproducción y crecimiento, aunque la tolerancia a la salinidad de la mayoría de especies acuícolas es bastante amplia (Timmons 2002).

Por otro lado, la salinidad al igual que el pH, incide en el control de la proporción tóxica del amonio (amonio no ionizado) presente en el agua, pero en menor grado (Bower y Bidwell, Jobling, citados por Martinez 2002).

2.3.2. Manejo de la calidad de agua

Los peces utilizan el oxígeno para convertir el alimento en energía y biomasa. Dependiendo de la especie, el pez requiere una concentración mínima de OD, aproximadamente $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (especies de aguas cálidas) a $7,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (especies de agua fría), (Pillay y Kutty, citados por Molleda 2007). Hollingsworth et al. (2006) sostienen que si se prevén que los niveles de oxígeno lleguen a valores menores a 3 mg.L^{-1} , es necesario encender los sistemas de aeración de emergencia o suplementaria.

Es importante mencionar que el oxígeno en forma de gas tiene muy baja solubilidad, pero se puede predecir su concentración mediante la temperatura y la salinidad. De esta afirmación, Mallya (2007) sostiene que se puede mantener menos oxígeno al cien por ciento de saturación de aire en agua de mar caliente, sucediendo lo contrario en agua dulce fría, donde se encuentra mayor disponibilidad de oxígeno al cien por ciento de saturación. Mientras que el contenido de oxígeno del agua establece la disponibilidad absoluta de oxígeno, es la gradiente de presión parcial de oxígeno la que determina la rapidez con que el oxígeno puede pasar del agua a la sangre de los peces para apoyar su tasa metabólica. Esto se debe a que el oxígeno se desplaza por difusión a través de las branquias de los peces.

En este contexto Mallya (2007) recomienda los siguientes requisitos mínimos de oxígeno disuelto:

- Peces de agua fría - 6 mg.L^{-1} (70% de saturación)
- Peces agua dulce tropical - 5 mg.L^{-1} (80% de saturación)
- Peces marinos tropicales - 5 mg.L^{-1} (75% de saturación)

En cuanto al amonio, el $\text{NH}_3\text{-N}$ depende del pH y la temperatura del agua (Losordo, Lekang, citados por Sandu y Halleman 2013) y en menor grado por la salinidad (Diaz et al. 2012). A valores de pH menores de 7.5, la mayor cantidad de amonio está en la forma ionizada, de manera que se pueden tolerar altos niveles de NAT. A un pH más alto, sin embargo, los niveles de amonio no ionizado se vuelven problemáticos.

Francis-Floyd et al. (2010) comentan que si la densidad de la población en cultivo es alta, el amonio debe ser controlado al menos una vez por semana en los tanques de cultivo. Si varios tanques dependen de un biofiltro común (es decir, un sistema de

recirculación), no hay necesidad de comprobar cada tanque individualmente, mantener un registro de todas las pruebas, y si existen concentraciones de amonio altas, aumentar la frecuencia de las pruebas hasta solucionar el problema. Por otro lado, los mismos autores añaden, que bajos niveles de oxígeno disuelto limitan la capacidad de nitrificación de las bacterias (convertir el amonio y el nitrito en nitrato) en el biofiltro, por lo que es importante monitorear y mantener el oxígeno disuelto en altas concentraciones en el sistema.

El nitrógeno es un nutriente esencial para todos los seres vivos, se encuentra en proteínas, ácidos nucleicos, adenosin fosfatos, nucleótidos de piridina y pigmentos. Sin embargo, el nitrógeno se necesita en relativamente pocas cantidades, y las necesidades fisiológicas se satisfacen fácilmente. Las cantidades excedentes se convierten en desechos nitrogenados y es necesario extraerlos. Es particularmente importante descomponer estos compuestos nitrogenados en los sistemas intensivos de recirculación acuícola, debido a la toxicidad del amonio, nitrito y, hasta cierto punto, nitrato (Timmons 2002). El nitrógeno es el nutriente limitante en la mayoría de los sistemas marinos, y como tal presenta un reto para los criterios de diseño. Incluso los niveles moderados de desechos nitrogenados pueden resultar ser significativamente tóxicos. La filtración biológica debe ser capaz de mantener el amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$) y nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$), a niveles cercanos a cero ($<0,01 \text{ mg.L}^{-1}$) para el cultivo de peces en agua de mar (PHILMINAQ 2008).

2.4. EFICIENCIA DEL BIOFILTRO

Kir (2009) plantea la tasa de remoción de amonio (NR en %), para determinar el ciclo de remoción de amonio de los biofiltros. La NR se define como el porcentaje de NAT (nitrógeno amoniacal total) que se reduce después de pasar a través del biofiltro. La NR se calculó utilizando la ecuación 1 (Tseng y Wu, citados por Kir 2009):

$$\text{NR} = ((\text{NAT}_i - \text{NAT}_s) / \text{NAT}_i) * 100 \dots \dots \dots (1)$$

Donde NR es la remoción de amonio, expresado en porcentaje. NAT_i es el nitrógeno amoniacal total de ingreso y el NAT_s es el nitrógeno amoniacal total de salida. Las unidades son expresadas en $mg.L^{-1}$ y el resultado en porcentaje.

Malone y Pfeiffer (2006) proponen la utilización de la tasa de conversión volumétrica de nitrógeno amoniacal total (VTR por sus siglas en ingles), como principal indicador para evaluar la eficiencia de los biofiltros. La VTR se calcula utilizando la ecuación 2:

$$VTR = (NAT_i - NAT_s) * (Q_i / V_b) \dots \dots \dots (2)$$

Donde VTR es la tasa de conversión volumétrica de nitrógeno amoniacal total (en $g.m^{-3}.dia^{-1}$), el NAT_i es el nitrógeno amoniacal de ingreso (en $g.m^{-3}$), el NAT_s es el nitrógeno amoniacal total de salida (en $g.m^{-3}$), el Q_i es el caudal de agua de ingreso en el biofiltro (en $m^3.dia^{-1}$) y V_b es el volumen del biofiltro (en m^3).

De igual modo Dicky et al. (2011), propone para evaluar el biofiltro, la tasa volumétrica de remoción de amonio (VAR, por sus siglas en ingles) en $g.m^{-3}.día^{-1}$ y la tasa de remoción de amonio por área (AAR, por sus siglas en ingles) en $g.m^{-2}.día^{-1}$. Estos valores se calculan mediante las siguientes ecuaciones:

$$VAR = (NAT_{in} - NAT_{out}) \times Q \times V^{-1} \dots \dots \dots (3)$$

(Oh, citado por Dicky et al. 2011)

$$AAR = (NAT_{in} - NAT_{out}) \times Q \times V^{-1} \times S^{-1} \dots \dots \dots (4)$$

(Kamstra, citado por Dicky et al. 2011).

Dónde:

NAT_{in} y NAT_{out} son las concentraciones de NAT en la entrada y salida del biofiltro en $g.m^{-3}$, respectivamente. Q es el flujo total de agua que pasa a través del biofiltro ($m^3.día^{-1}$). V es el volumen del lecho del biofiltro en m^3 , y S es la SSA (superficie específica del medio ($m^2. m^{-3}$)).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DEL EXPERIMENTO

La presente experimento se llevó acabo en el Centro de Investigación Piscícola (CINPIS), de la Universidad Nacional Agraria La Molina, en un invernadero provisto con un Sistema de Recirculación para la Acuicultura (SRA) experimental. El experimento se desarrolló durante dos meses, tiempo comprendido entre el 2 de julio de 2012 y el 31 de agosto de 2012. La altitud en el CINPIS es de aproximadamente 244 m.s.n.m.

La temperatura del agua dentro del SRA en los meses en los que se desarrolló el experimento tuvo un promedio 22.5 °C con una temperatura ambiental promedio dentro del invernadero de 25 ± 1.5 °C, la salinidad del agua dentro del SRA se mantuvo a lo largo del experimento entre 34.5 a 35.5 ‰.

3.2. COMPONENTES Y DISTRIBUCIÓN DEL SRA

El SRA tiene 8 tanques de cultivo con un volumen útil de 0.64 m³ cada uno, sin embargo, en el experimento se utilizó un volumen promedio de trabajo de 0.32 m³ (mitad de su capacidad) en todos los tanques de cultivo. El SRA contó también de un sedimentador de placas de 0.98 m³, un biofiltro con un volumen de trabajo de 0.28 m³ que fue acondicionado con tubos de plástico (ruleros de pelo) como medios de fijación con un área de superficie específica (SSA) de 117 m².m⁻³, un tanque de almacenamiento de 4.95 m³, un tanque colocado a una altura de 10 m aprox. (de regulación) de 2.25 m³ y una electrobomba Dayton® de 0.5 HP preparada para funcionar con agua de mar (véase figura 5). El agua de mar fue extraída del muelle de pescadores artesanales en la Bahía de Miraflores en Chorrillos (las coordenadas de la zona corresponden a los 12° 10' 00.36" S y 77° 02' 12.26" W), el procedimiento se realizó con una motobomba, llenando un camión cisterna con aproximadamente 10 m³ de agua de mar y trasladados al CINPIS en la Universidad Nacional Agraria La Molina.

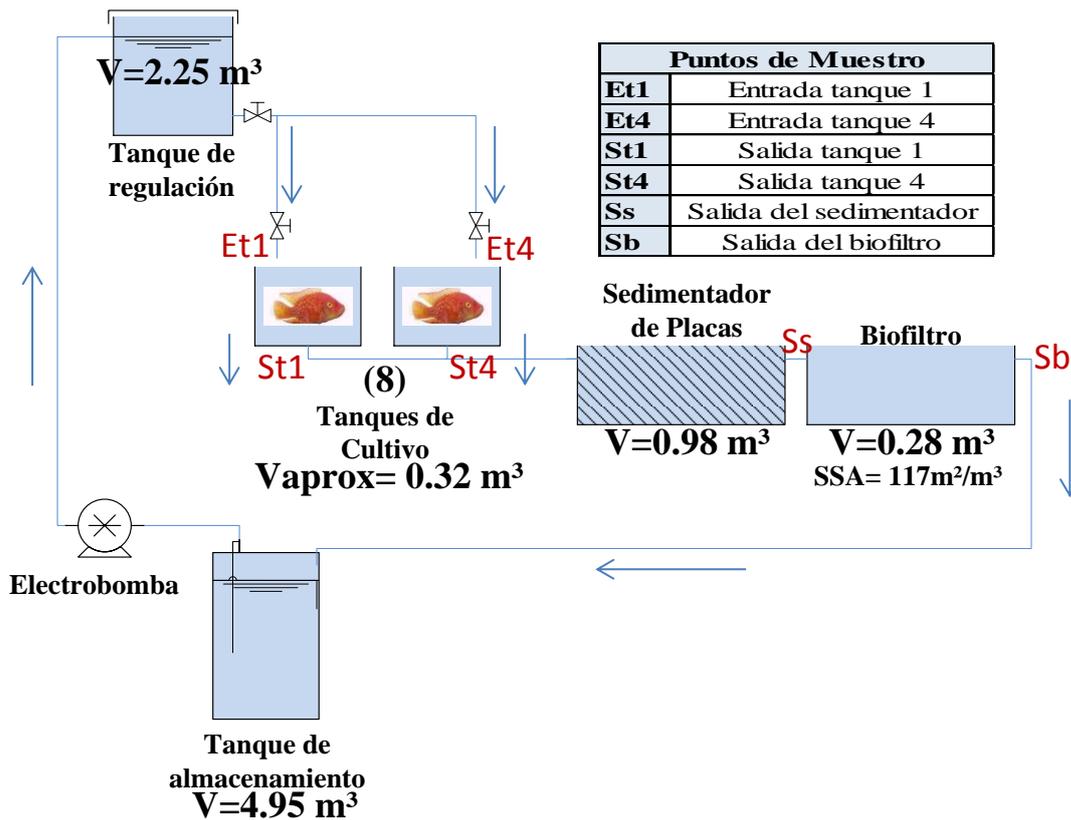


Figura 5: Componentes del SRA y puntos de muestra, CINPIS.

3.3. MATERIALES Y EQUIPOS

MATERIALES

- Alimento balanceado marca NICOVITA del tipo TILAPIA CRECIMIENTO I (32% de proteína)
- Malla para la captura de peces
- Mangueras para limpieza de 1 pulgada de diámetro
- Mesa de trabajo
- Recipientes de plástico de 60 ml para las muestras de agua
- Pipetas de 20, 10, 5, 1 y 0.5 ml.
- Rejillas porta tubos, capacidad 12 unidades
- Tubos de ensayo de 50 y 20 ml
- Vasos de precipitados o Beakers (Tipo Griffin) de 150 y 200 ml

EQUIPOS DE COLECTA DE DATOS

- Balanza digital de 2 kg, precisión de 0.1 gr, marca AWS.
- Densímetro para salinidad marca SERA
- Oxímetro digital marca YSI modelo 550A, mide el oxígeno en mg.L^{-1} con una precisión de $\pm 0.3 \text{ mg.L}^{-1}$, además cuenta con medidor de temperatura y compensador de salinidad
- Potenciómetro digital marca Oakton modelo pH-30, impermeable, con una precisión para pH de ± 0.01
- Refractómetro para salinidad
- Espectrofotómetro 20 Genesys® Spectronic Unicam, con un rango de longitud de onda de 325 a 1100 nm, exactitud de longitud de onda de 2.0 nm
- Termómetro de alcohol marca BOECO

3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. Esquema experimental

Previo al inicio del experimento, se introdujo el agua de mar en el sistema. El agua de mar fue tratada con 25 ml.m^{-3} de formalina para controlar cualquier agente patógeno presente en el agua (Post 1987). Luego de añadida la cantidad necesaria de formalina se dejó recirculando el sistema con aireación en los tanques durante 15 días, tiempo necesario para que formalina sea expulsada del sistema (Post 1987) y no sea dañina para los peces.

En el experimento se utilizaron 110 tilapias (*Oreochromis sp.*), distribuidas en 8 tanques. Antes de introducir los peces al SRA fueron aclimatados al agua de mar, fueron introducidos en un tanque de 0.30 m^3 (303,23 litros) y por un espacio de 20 días la salinidad se fue incrementando a una tasa de 5 por ciento diaria, hasta alcanzar las 35 ‰ (35 g de sal por kilogramo de agua). Esta metodología fue descrita por Martínez (2003).

Luego del tiempo que fue necesario para la aclimatación de los peces y acondicionamiento del agua, las 110 tilapias fueron introducidas al SRA un mes antes de comenzar el experimento para que sus desechos ayuden a activar las bacterias en el

biofiltro. Delong y Losordo (2012) comentan que las bacterias que oxidan el amonio a nitrito y el nitrito a nitrato (*Nitrosomonas* y *Nitrobacter* respectivamente) son bacterias de origen natural y son activadas e inoculadas al sistema con la introducción de los primeros animales, estos investigadores llaman a esta metodología activación en frío (activación del biofiltro). Ebeling (2006) plantea como característica típica para la activación de nuevos biofiltros en un SRA empleando la activación en frío, que se encuentran picos de concentración de amonio en los primeros 14 días, seguido de un pico a los 28 días de nitrito y que la acumulación de nitrato comienza después de 21 días. Para ayudar a la activación del biofiltro, se inocularon bacterias de marca SERA marin bio reefclear durante la segunda y tercera semana de activación (1 L en total, 0.5 L la segunda semana y 0.5 L la tercera semana de activación). El mismo autor sostiene que una vez activado el biofiltro la oxidación de amonio a nitrito y nitrito a nitrato sucede secuencialmente.

Ebeling (2006) sostiene también que está demostrado que la luz inhibe el crecimiento de bacterias y estimula el crecimiento de algas. Por esta razón el biofiltro fue cubierto con una tapa de eternit color negro para obtener la mayor oscuridad posible y de esta manera ayudar al crecimiento y proliferación de bacterias nitrificantes, de igual modo los tanques de cultivo fueron cubiertos con una malla raschel para inhibir el crecimiento de algas y ayudar a mantener la temperatura constante.

Para el inicio del experimento los peces fueron distribuidos en función de sus pesos, de tal manera que, 40 peces fueron colocados en los tanques 4 y 8, dos grupos de 20, con un peso promedio de 31,7 gr. En los tanques 3 y 7, dos grupos de 15, con un peso promedio de 41,9 gr. En los tanques 2 y 6, dos grupos de 11, con peso promedio de 54,5 gr. Y finalmente en los tanques 1 y 5, dos grupos de 9, con peso promedio de 67,9 gr. Esta distribución buscó homogeneizar biomásas, de manera que la carga promedio inicial quedó alrededor de $1.93 \pm 0.018 \text{ Kg.m}^{-3}$ y al final del experimento la carga promedio fue de $2.50 \pm 0.0041 \text{ Kg.m}^{-3}$ (véase cuadro 1 y 2).

Cuadro 1: Distribución de peces por tanque y carga inicial promedio.

N° de Peces	N° de Tanque	\bar{X} peso (g)	Peso total (g)
40	4 y 8	31,6	1264
30	3 y 7	41,8	1254
22	2 y 6	54,5	1199
18	1 y 5	67,8	1220,4
Carga inicial promedio por tanque			$1,93 \pm 0,0018 \text{ Kg.m}^{-3}$

Cuadro 2: Distribución de peces por tanque y carga final promedio.

N° de Peces	N° de Tanque	\bar{X} peso (g)	Peso total (g)
40	4 y 8	39,7	1588
30	3 y 7	54,02	1620,6
22	2 y 6	77,26	1699,72
18	1 y 5	83,37	1500,66
Carga final promedio por tanque			$2,50 \pm 0,0041 \text{ Kg.m}^{-3}$

La alimentación de los peces fue realizada 3 veces al día (8 am, 12 pm y 4 pm). Los peces fueron alimentados a saciedad (*ad libitum*), el peso del alimento fue registrado diariamente. El alimento suministrado fue balanceado extruido para tilapia marca Nicovita Crecimiento I con 32 por ciento de proteína. Para mantener limpios los tanques de cultivo y evitar una mayor concentración de metabolitos tóxicos (amonio y nitrito principalmente) en el sistema, se sifonearon (aspiración materia orgánica en descomposición, heces y alimento no consumido) diariamente los tanques y se limpió una vez por semana el sedimentador de placas extrayendo el sedimento aculado.

Para mantener la concentración de sales (salinidad entre 34.5 y 35.5 ‰) relativamente constante y que no se incremente por acción de la evaporación que se dio en el sistema se adiciono semanalmente alrededor de 100 litros de agua dulce proveniente del CINPIS.

Los caudales de ingreso a los tanques de cultivo se ajustaron en $0.322 \text{ m}^3.\text{h}^{-1}$ para las primeras dos semanas de experimentación, luego se incrementaron a $0.347 \text{ m}^3.\text{h}^{-1}$ hasta el final del experimento, este cambio en los caudales se produjo por el cambio de la bomba de recirculación después de las dos primeras semanas de experimentación, parando el sistema durante dos horas, procedimiento que provocó el reajuste de los caudales. Estos caudales dieron un tiempo de residencia de 0.99 y 0.92 h

respectivamente, valores cercanos al 1.23 h sugerido por Barón et al. (2004) para obtener una alta calidad de parámetros fisicoquímicos en las unidades de cultivo.

Para estudiar la variación horaria del oxígeno y NAT como parámetros principales y el pH y la temperatura como parámetros secundarios se programaron 3 series de muestreo a lo largo de las 24 horas del día, éstos se desarrollaron al inicio del experimento (05/07/12), a la mitad (03/08/12) y al final del experimento (31/08/12), los muestreos y análisis se desarrollaron con un intervalo de tiempo de dos horas, empezando a las 8 de mañana y terminando a las 8 de la mañana del día siguiente.

Para el análisis de los parámetros (oxígeno, NAT, pH, salinidad y temperatura) a lo largo del tiempo que duró el experimento, se programaron muestreos y análisis semanales, los miércoles en tres horas distintas (8 am, 12 pm y 4 pm), durante las 9 semanas de experimentación. En ambos casos, tanto para los muestreos mensuales (horarios) como semanales, se analizaron *in situ*, el oxígeno, pH, T° y salinidad, mientras que el amonio fue analizado en el laboratorio con muestras preservadas.

Los puntos de muestreo fueron distribuidos en el sistema de recirculación, utilizando 2 tanques representativos para la toma de muestras. De manera que los puntos de muestreo fueron los siguientes: entrada de los tanques de cultivo (Et1 y Et4), salida de los tanques de cultivo (St1 y St4), salida del sedimentador de placas (Ss) y salida del biofiltro (Sb) (véase figura 5).

3.4.2. Procesamiento de análisis de calidad de agua

Análisis del nitrógeno amoniacal total (NAT)

Para la determinación del amonio en el agua de mar se utilizó la metodología descrita por Parsons et al. (1984), en ella el agua de mar es tratada en un medio alcalino citrato con hipoclorito de sodio y fenol, en presencia de nitroprusiato de sodio que actúa como un catalizador (véase figura 6). El color azul de indofenol formado con el amonio se mide espectrofotométricamente a 640 nm.

El método siguió el siguiente orden: a 20 ml de muestra, se le agregaron 0.8 ml de fenol, 0.8 ml de nitroprusiato de sodio, más 2 ml de solución oxidante (reactivo alcalino

+ hipoclorito de sodio). Los tubos se dejaron en reposo durante 1 hora para que desarrollen color y luego fueron medidos en el espectrofotómetro, en celdas de 1 cm.



Figura 6: Desarrollo del análisis de amonio en probetas.

Determinación de parámetros In Situ

Durante el experimento se evaluaron, in situ, el oxígeno, el pH, la temperatura y la salinidad. El oxígeno y el pH, se determinaron con un oxímetro digital y pH-metro digital respectivamente, la temperatura fue medida con termómetro de alcohol y la salinidad con un densímetro y refractómetro para comparar la precisión.

Procesamiento de datos

El procesamiento y análisis de los datos además del desarrollo de gráficos se utilizó el software Microsoft Excel 2010.

Para el análisis estadístico de las concentraciones de NAT y oxígeno en las diferentes series de muestreo horarias se compararon los siguientes puntos de muestreo y se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas:

Para el oxígeno se compararon las concentraciones de entrada y salida de los tanques de cultivo (Et1, Et4 vs. St1, St4), además de la salida del sedimentador y la salida del

biofiltro (Ss vs. Sb). En el caso del NAT se compararon las concentraciones de entrada y salida de los tanques de cultivo (Et1, Et4 vs. St1, St4), la salida de los tanques de cultivo y la salida del sedimentador (St1, St4 vs. Ss) y la salida del sedimentador versus la salida del biofiltro (Ss vs. Sb).

Prueba T Student se utilizó para determinar si existieron diferencias significativas entre los datos analizados. Para analizar la comparación de medias entre dos grupos de datos apareados después de algún tratamiento, Barón y Téllez (2000) mencionan que el método a utilizarse es la prueba T-Student.

Para determinar si la prueba de comparación de medias T-Student es apropiada, es necesario saber si existe homogeneidad de varianzas en los datos a analizar. Berenson et al. (2006) proponen para probar si dos poblaciones independientes tienen la misma variabilidad expresada por la homogeneidad de varianzas, utilizar el F-Test.

La prueba de normalidad de las poblaciones (Test de Shapiro-Wilk) es de suma importancia, ya que para poder utilizar la prueba de comparación de medias T-Student, es necesario también, que exista normalidad en la distribución de datos. Para saber si los datos se ajustan o no a una distribución normal, es necesario valorar los datos desde una perspectiva objetiva, Gónzales et al. (2006) sostienen que el contraste de Shapiro-Wilk, es el más adecuado cuando el tamaño de muestra es pequeño (menor a 50).

Cuando las concentraciones comparadas no cumplieron los supuestos de homogeneidad de varianzas y distribución normal de datos se utilizaron las siguientes pruebas no paramétricas:

Test de Wilcoxon (no paramétrica): al ser una prueba no paramétrica, no necesita de cumplir con los supuestos de homogeneidad de varianzas y distribución normal de datos. Barón y Téllez (2000) mencionan que esta prueba es para analizar la diferencia entre los grupos de datos, pero añaden que es una prueba menos exigente que la T-Student.

Test de la mediana (prueba no paramétrica): de la misma forma que el test de Wilcoxon, no necesita cumplir con los supuestos de homogeneidad de varianzas y que los datos presente una distribución normal. Este Test al igual que la prueba T-Student y el test de

Wilcoxon, determina si existe diferencia significativa entre los promedios de los grupos de datos comparados (Gómez et al.2003).

Una parte representativa de los análisis estadísticos para ambos casos (NAT y oxígeno) pueden verse en el anexo 5.

Todas estas pruebas se realizaron con el software estadístico R versión 3.1.2.

Indicadores de Eficiencia

Finalmente, la eficiencia del biofiltro se calculó mediante la metodología descrita en la sección 2.4.

Remoción de amonio (NR en %):

$$\mathbf{NR = ((NAT_i - NAT_s) / NAT_i) * 100}$$

La tasa de conversión volumétrica de nitrógeno amoniacal total (VTR por sus siglas en inglés):

$$\mathbf{VTR = (NAT_i - NAT_s) * (Q_i / V_b)}$$

La tasa de remoción de amonio por área (AAR, por sus siglas en inglés):

$$\mathbf{AAR = (NAT_{in} - NAT_{out}) \times Q / (V \times S)}$$

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. VARIACIÓN DEL OXÍGENO EN EL SISTEMA DE RECIRCULACIÓN

4.1.1. Distribución de oxígeno en las estaciones de muestreo

El promedio total de las concentraciones durante el experimento fueron: en la entrada de los tanques de cultivo 6.78 mg.L^{-1} equivalente a un 98.43 % de saturación, a la salida de los tanques de cultivo la concentración promedio fue de 6.53 mg.L^{-1} (94.71 % saturación), a la salida del sedimentador se encontró una concentración promedio de 6.48 mg.L^{-1} (94.09 % saturación), y a la salida del biofiltro se encontró un promedio de 6.51 mg.L^{-1} de OD lo que reveló un porcentaje de saturación de 94.51 %.

Castelló (1993) sostiene que hay especies muy sensibles a la cantidad de oxígeno disuelto en el agua dulce como marina y expone una serie de ejemplos: La trucha (*Oncorhynchus mykiss*) tiene unas necesidades mínimas de 5 mg.L^{-1} , aunque los niveles óptimos son de 10 a 11 mg.L^{-1} . El salmonete (*Mullus surmuletus*) requiere del orden de 8.8 mg.L^{-1} . En el caso de especies marinas, los valores mínimos para la lubina (*Dicentrarchus labrax*) son de 3 mg.L^{-1} , siendo los óptimos en el 90% de saturación de oxígeno y para el lenguado (*Solea solea*) el mínimo es también de 3 mg.L^{-1} , siendo letal una concentración de 1 mg.L^{-1} . De manera que los valores obtenidos en este experimento muestran concentraciones y porcentajes de saturación correctos para el cultivo en agua de mar dependiendo de la especie que se quiera cultivar. Estos promedios de concentración y porcentajes de saturación fueron obtenidos de los muestreos semanales (véase cuadro 3, 4 y anexo 2). El esquema de distribución de las concentraciones promedio de oxígeno disuelto se puede observar en la figura 7.

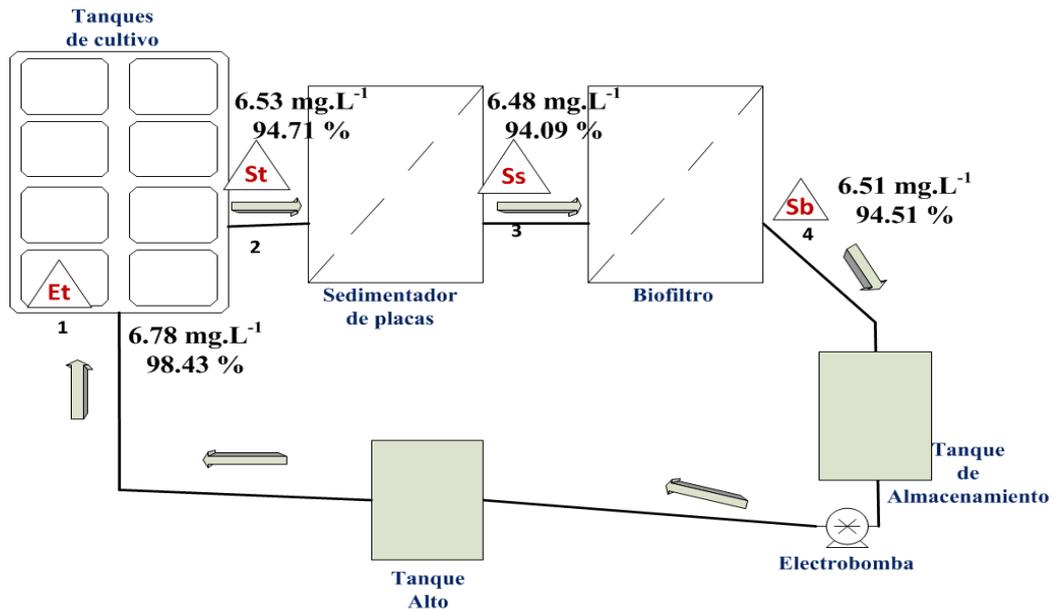


Figura 7: Esquema de distribución de oxígeno en el sistema

4.1.2. Variación semanal de Oxígeno

El cuadro 3 muestra cómo fue variando la concentración promedio de oxígeno disuelto durante el tiempo que duró el experimento en cada punto de muestreo, mientras que en el cuadro 4 muestra la concentración total promedio de oxígeno y los porcentajes de saturación para cada punto de muestreo.

Cuadro 3: Concentraciones semanales de OD (mg.L^{-1}) según puntos de muestreo.

Estación de muestreo	Sem 1	Sem 2	Sem 3	Sem 4	Sem 5	Sem 6	Sem 7	Sem 8	Sem 9	Prom.	Desv. Estan.
Et1	5,70	6,49	7,04	6,73	6,89	7,35	6,98	7,08	7,25	6,83	0,50
St1	5,41	6,15	6,66	6,31	6,63	7,16	6,82	6,93	7,04	6,57	0,54
Et4	5,54	6,37	6,90	6,59	6,77	7,23	6,92	7,06	7,19	6,73	0,52
St4	5,19	6,05	6,64	6,17	6,49	7,04	6,81	6,90	7,04	6,48	0,60
Ss	5,24	6,10	6,57	6,23	6,53	7,03	6,75	6,90	6,99	6,48	0,57
Sb	5,37	6,16	6,64	6,31	6,60	7,04	6,64	6,86	6,98	6,51	0,52

Cuadro 4: Concentración promedio semanal y % de saturación de oxígeno en las estaciones de muestreo.

Estaciones de muestreo	Concentración promedio de OD mg.L ⁻¹	% Saturación promedio
Et	6,78	98,43
St	6,53	94,71
Ss	6,48	94,09
Sb	6,51	94,51

Según los datos mostrados, el OD a lo largo del experimento mostró concentraciones promedio que se encontraron dentro de los rangos óptimos para el cultivo de peces marinos, $> 5 \text{ mg.L}^{-1}$ (75% de saturación) Mallya (2007). La figura 8 muestra la tendencia en las variaciones de las concentraciones de OD, las concentraciones más bajas se observaron en la primera semana de experimentación, estas concentraciones estuvieron en el rango de 5.19 a 5.41 mg.L^{-1} a la salida de los tanques de cultivo y 5.54 a 5.70 mg.L^{-1} en la entrada de los tanques de cultivo, con porcentajes de saturación por encima de 75 %. De cualquier modo, estas concentraciones, que fueron las más bajas encontradas en el experimento se encuentran dentro de los valores óptimos para el cultivo de peces según lo plantea Alatorre (2007), quien comenta que muchas especies de peces pueden tolerar concentraciones de oxígeno disuelto entre 2 y 3 mg.L^{-1} por periodos prolongados, aunque lo ideal es que se encuentre arriba de los 5 mg.L^{-1} .

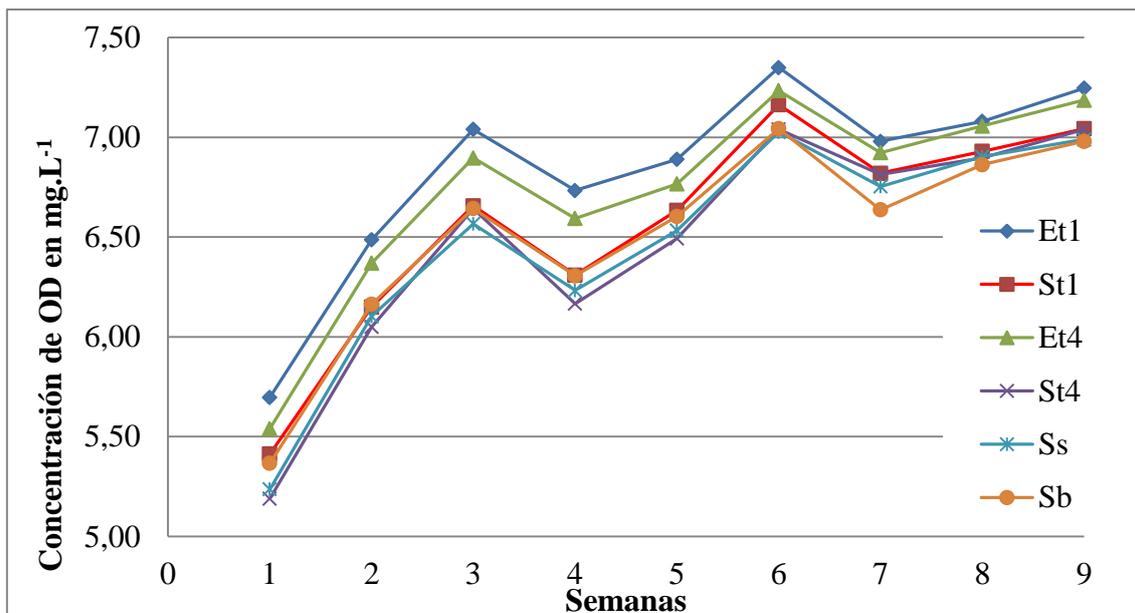


Figura 8: Variación de la concentración semanal de oxígeno disuelto (mg.L^{-1}).

Entre la segunda y la octava semana de experimentación, las concentraciones promedio de OD mostraron una tendencia ascendente, teniendo una mínima promedio en la segunda semana de 6.05 mg.L^{-1} (89.5 % de saturación) y máxima promedio en la sexta semana 7.35 mg.L^{-1} (106.08 % de saturación). A partir de la tercera semana de prueba, los valores de concentración de OD se mantuvieron cercanos o ligeramente por encima del valor de cien por ciento de saturación. Este incremento en las concentraciones de oxígeno a lo largo del experimento está relacionado a la temperatura, ya que a lo largo del experimento esta fue decreciendo (a menor temperatura mayor disponibilidad de oxígeno).

Las concentraciones de OD a 100 % de saturación para las temperaturas de 21, 22 y 23 °C (temperaturas que fluctuaron durante el experimento), fueron de 7.03, 6.90 y 6.76 mg.L^{-1} respectivamente (cuadro 5), lo que demuestra que a partir de la segunda semana de experimentación, las concentraciones de este parámetro estuvieron cercanas y en algunos casos ligeramente encima de los valores de 100% de saturación.

Cuadro 5: Calculo de la concentración de oxígeno disuelto a 100 % de saturación (Datos tomados de Vernier International)

100% de saturación a 244 msnm		Constante de corrección de salinidad (k)	Salinidad en ‰	[] a 100% de saturación corrección T°, Salinidad y altitud
Temp C°	[] en mg/L			
21	8,73	0,04854	35	7,03
22	8,56	0,04754	35	6,90
23	8,40	0,04662	35	6,77
Fórmula		$OD_{SAT} = OD - (K*S)$		

Helfrich y Libey (1991) sugieren mantener el suministro de oxígeno en una concentración suficiente alta, de manera que los peces se encuentren sanos, al igual que las poblaciones de bacterias en el biofiltro y además satisfacer la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) producida por los desechos de los peces y el alimento no consumido. Estos autores sugieren mantener los niveles de oxígeno, cerca de la saturación o incluso ligeramente en sobresaturación en todo momento. Y esto es lo que ocurrió con el oxígeno en casi la totalidad del tiempo de experimentación, encontrándose en muchos casos valores cercanos y por encima del nivel de saturación de oxígeno.

4.1.3. Variación horaria de la concentración de oxígeno

La figura 9 muestra la variación horaria de las concentraciones de oxígeno disuelto y los valores obtenidos en las tres series de muestreos para cada uno de los puntos de muestreo.

En la figura 9, se puede observar que en las tres series de muestreos los valores se encuentran dentro de los rangos óptimos requeridos para el cultivo de peces en agua de mar, tanto las concentraciones como los porcentajes de saturación calculados estuvieron por encima de los valores mínimos, 5 mg.L⁻¹ y 75% de saturación (Mallya 2007). Fue en la primera serie de muestreos donde se encontraron menores concentraciones para el periodo de experimentación, correspondiendo para esta serie 5.18 mg.L⁻¹, con un porcentaje de saturación de 76.63%, valores que se encontraron a la salida del sedimentador de placas (Ss); mientras que la concentración máxima para la primera

serie fue de 6.37 mg.L^{-1} , con un porcentaje de saturación de 94.23%, valores que se encontraron a la entrada del tanque de cultivo 1(Et1).

En el segundo muestreo horario, los valores de OD se incrementaron, mostrando concentraciones más altas y porcentajes de saturación de oxígeno cercanos y en algunos casos por encima del 100%. De modo que la concentración mínima encontrada fue de 6.77 mg.L^{-1} , con un porcentaje de saturación de 96.30%, valores que se encontraron a la salida del sedimentador de placas (Ss); la concentración máxima encontrada fue de 7.51 mg.L^{-1} , con un porcentaje de saturación de 106.83%, valores encontrados en la entrada del tanque de cultivo 1 (Et1).

Para el tercer muestreo horario, los valores de OD mantuvieron un comportamiento similar a los valores encontrados en el segundo muestreo, encontrándose también concentraciones cercanas o por encima del valor de saturación. En esta serie la concentración máxima encontrada fue 6.46 mg.L^{-1} , valor que corresponde a una saturación del 95.56%, valores encontrados a la salida del tanque 4 (St4); el máximo valor de OD encontrado fue de 7.36 mg.L^{-1} , lo que representa un valor de saturación de 108.88%, valores encontrados en la entrada del tanque de cultivo 1 (Et1).

Del análisis de los valores máximos y mínimos en el sistema de recirculación, en las tres series de muestreos horarios, se observa que las máximas concentraciones de oxígeno se encontraron en la entrada de los tanques de cultivo (esto se observa también, con los valores promedio para las 3 series de muestreo, cuadro 6 y figura 10). Watson y Hill (2006) sostienen como regla general para cultivos marinos, mantener los niveles de OD por encima de los 5 mg.L^{-1} . Esto demostró un correcto funcionamiento del sistema, manteniendo las concentraciones más altas de este parámetro en los tanques de cultivo, aportando el oxígeno suficiente para el beneficio de los peces cultivados.

Un incremento en los valores de concentración de OD se observó en la segunda y la tercera serie de muestreos, esto se debió a que las temperaturas encontradas en esas series de muestreo bajaron ligeramente. Las concentraciones encontradas por encima del 100 por ciento de saturación en el ingreso de los tanques, pueden explicarse por incremento en la presión que se da al momento de ingresar el agua a la tubería después de pasar por la bomba sumado al intenso burbujeo causado por la caída de agua en el tanque de almacenamiento. Según el libro Datos Técnicos de Hidráulica: Bombas

(2005) las bombas basan su funcionamiento en encerrar un volumen de líquido para transportarlo desde la aspiración hasta la impulsión con un aumento de la presión, el cuerpo de bomba o voluta recibe el líquido salido del impulsor y por su construcción especial transforma su energía cinética en presión.

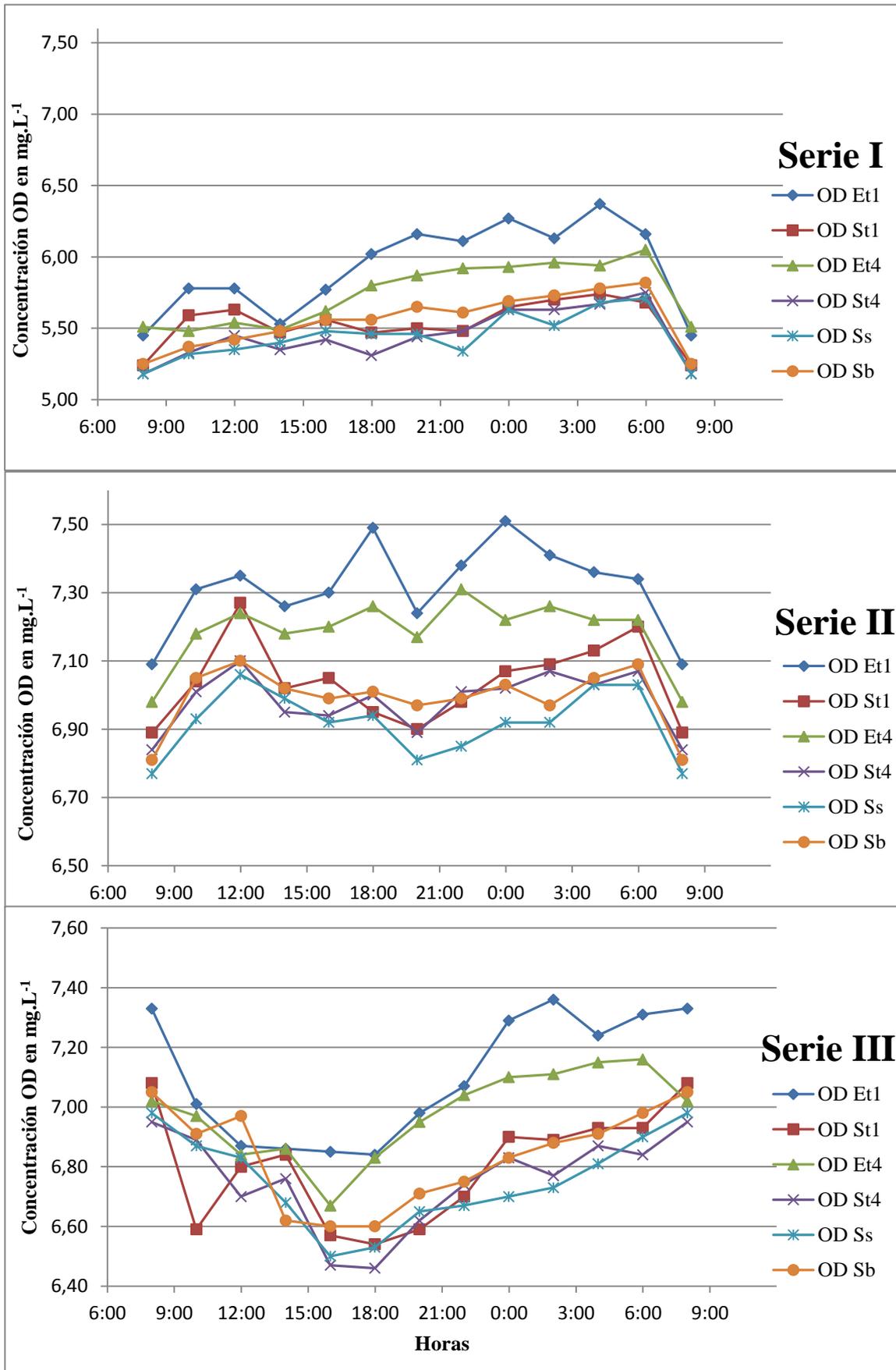


Figura 9: Variación horaria de OD en mg.L^{-1} en las series de muestras horarios

Cuadro 6: Concentraciones promedio de OD en mg.L^{-1} de las series de muestreo I, II y III.

Horas	OD Et1	OD St1	OD Et4	OD St4	OD Ss	OD Sb
8:00	6,62	6,40	6,50	6,32	6,31	6,37
10:00	6,70	6,41	6,54	6,41	6,37	6,44
12:00	6,67	6,57	6,54	6,42	6,41	6,50
14:00	6,55	6,44	6,51	6,35	6,36	6,37
16:00	6,64	6,39	6,50	6,28	6,30	6,38
18:00	6,78	6,32	6,63	6,26	6,31	6,39
20:00	6,79	6,33	6,66	6,32	6,31	6,44
22:00	6,85	6,39	6,76	6,41	6,29	6,45
0:00	7,02	6,54	6,75	6,49	6,42	6,52
2:00	6,97	6,56	6,78	6,49	6,39	6,53
4:00	6,99	6,60	6,77	6,52	6,51	6,58
6:00	6,94	6,60	6,81	6,55	6,55	6,63
8:00	6,62	6,40	6,50	6,32	6,31	6,37

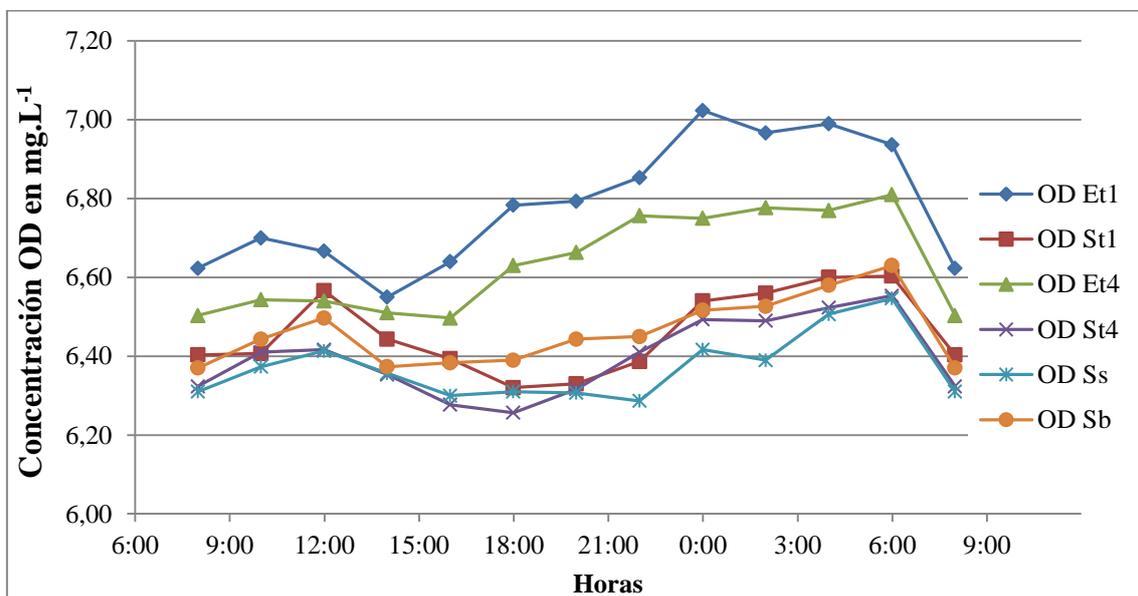


Figura 10: Variación horaria de OD en mg.L^{-1} , promedio de las 3 series de muestreo.

La variación horaria de oxígeno disuelto en las tres series de muestreos como en el promedio de estas, mostró un comportamiento cíclico relacionado a la temperatura, ya que se observó que mientras bajó la temperatura durante horas de la noche las

concentraciones de oxígeno disuelto tendieron a incrementarse (los valores de variación de temperatura pueden verse en el anexo 6).

Nolting; citado por Eding et al. (2006) observaron en un análisis hecho a dos filtros percoladores con agua de mar a escala piloto, niveles de saturación de oxígeno de 84-91% en el flujo entrante y la saturación de 84-96% en el flujo saliente. Esto demuestra, que a pesar de existir consumo de oxígeno por parte de las bacterias nitrificantes, este consumo es inferior al aporte de oxígeno que se da en el biofiltro. Se observó un comportamiento similar en el biofiltro usado en este experimento, registrándose porcentajes de saturación promedio en el flujo entrante (S_s) de 80.46, 98.41 y 99.94 % para las 3 series de muestreos y en el flujo saliente (S_b) de 82.12, 99.45 y 101.12 % de saturación, lo que demuestra también aporte de oxígeno en este punto (véase anexo 3).

Con relación a la nitrificación y como el oxígeno influye en ésta, Knowles et al., citado por Chen et al. (2006) analizaron la cinética de nitrificación en sistemas de cultivo mixtos, reportando que el OD afectó muy poco a la tasa de crecimiento de Nitrosomonas en concentraciones alrededor de 2 mg.L^{-1} . Además afirmaron, que el Nitrobacter era más sensible al OD y mostró una tasa de crecimiento reducida con concentraciones de OD de menos de 4 mg.L^{-1} . Las concentraciones de oxígeno que se encontraron en el sistema para este experimento, estuvieron muy por encima de estos valores, siendo concentraciones favorables para el crecimiento de bacterias nitrificantes en el biofiltro.

Krause et al. (2006) comentan que para un buen crecimiento de los peces y un biofiltro saludable, la concentración de oxígeno disuelto en el tanque y biofiltro debe mantenerse por encima de 5 y 2 mg.L^{-1} , respectivamente. Las concentraciones encontradas en el SRA, en los análisis de variación horaria como en los controles semanales, mostraron estar por encima de estos valores, con valores alrededor del 100% de saturación.

Timmons y Vinci (2006) plantean que usando sólo la aireación como un medio de proporcionar oxígeno disuelto, un sistema puede soportar densidades de alrededor de $40 \text{ kg}_{\text{pez}}.\text{m}^{-3}$. En este experimento, las densidades fluctuaron entre $1.93 \pm 0.0018 \text{ kg}_{\text{pez}}.\text{m}^{-3}$ a $2.50 \pm 0.0041 \text{ kg}_{\text{pez}}.\text{m}^{-3}$ (carga inicial y carga final), valores comparativamente bajos, lo que puede explicar las altas concentraciones de oxígeno y porcentajes de saturación encontrados en el experimento.

Wheaton (2002) expone que la demanda de oxígeno por parte de las bacterias es alta en muchos sistemas de recirculación y debe añadirse a la demanda de oxígeno producida por los peces, para calcular la demanda total de oxígeno en un SRA, que es la que debe ser suministrada al sistema. Típicamente, plantea el mismo autor, la demanda total de oxígeno (peces + bacterias) es al menos 1,5 veces más, que la demanda de oxígeno de los peces (pudiendo ser mayor en algunos sistemas de recirculación). Durante el experimento, en promedio, la demanda de oxígeno producida por los peces en el sistema se encontró entre 0.017 y 0.019 kgO₂.dia⁻¹, multiplicando por 1.5, como sugiere Wheaton (2002) se tuvo una demanda total aproximada de entre 0.026 a 0.029 kgO₂.dia⁻¹ (según los caudales de manejo 0.322 y 0.347 m³.h⁻¹). Con los caudales de manejo utilizados para cada tanque de cultivo y con una concentración promedio de OD de ingreso para cada tanque de 6.71 gr.m⁻³, el oxígeno disponible en el sistema se mantuvo en el rango de 0.416 a 0.448 kgO₂.dia⁻¹. Estos valores demuestran que el oxígeno disponible en el sistema se encontraba en la capacidad de sostener una carga mucho mayor de peces (para los cálculos véase anexo 1).

Además de la temperatura, la variación horaria de las concentraciones de oxígeno están influenciadas por la alimentación. Ya que alrededor de las horas programadas para la alimentación (8:00, 12:00 y 16:00), las concentraciones de oxígeno tendieron a bajar, para luego subir por efecto de la temperatura y permanecer relativamente constantes durante el resto de las horas del día (véase cuadro 6 y figura 10). Algo similar ocurre en un estudio hecho por Tran-Duy et al. (2008) ellos exponen que las concentraciones de oxígeno tuvieron cambios abruptos desde el momento justo antes de la alimentación al momento exacto después de la alimentación, para permanecer luego constantes.

4.1.4. Análisis estadístico de la variación horaria de oxígeno en el sistema

El análisis estadístico se basó en encontrar si existió diferencia significativa entre las concentraciones comparadas, comparación entre la entrada y la salida de tanques de cultivo (Et1 vs. St1, Et4 vs. St4) y la salida del sedimentador versus la salida del biofiltro (Ss vs. Sb). Con relación a las pruebas estadísticas utilizadas, es importante comentar que la prueba estadística paramétrica T-Student para evaluar si existe diferencia significativa entre los datos comparados, necesita que los grupos de datos analizados cumplan con los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad en

la distribución de las observaciones (Pértega y Pita 2001). De no cumplirse con los supuestos, la prueba T-Student puede ser sustituida por las pruebas no paramétricas de Wilcoxon y de La Mediana, estas no necesitan que las observaciones cumplan con esos supuestos (Barón y Téllez, Gómez et al.2003). Estas pruebas estadísticas también se utilizan para saber si existe diferencia significativa entre los datos comparados.

El cuadro 7, muestra el resultado de los test realizados para cada punto de muestreo y series de muestreo. Se observa, que para los puntos de muestreos ubicados en la entrada y la salida de los tanques de cultivo (Et1-St1; Et4-St4), en las tres series de muestreos, existió diferencia significativa en las concentraciones, esto se explica, por el consumo de oxígeno que se dio por parte de los peces en cada uno de los tanques. En el caso del análisis realizado en las estaciones ubicadas en la salida del sedimentador y la salida del biofiltro (Ss-Sb), se encontró, que no existe diferencia significativa en las concentraciones, de manera que el consumo o aporte de oxígeno que pudiera haberse dado en esta parte del sistema no fue estadísticamente significativa.

Cuadro 7: Análisis estadísticos para los datos del oxígeno (OD)

Oxígeno	Supuestos				Test para analizar si existen diferencias entre las medias					
	Homogeneidad de varianzas (F-Test)		Distribución normal Test de Shapiro		Prueba Paramétrica T-Student		Test de Wilcoxon		Test de La Mediana	
	homogeneidad	No homogeneidad	Dist. normal	No Dist. normal	Dif. significativa	No Dif. significativa	Dif. significativa	No Dif. significativa	Dif. significativa	No Dif. significativa
Estaciones de muestreo										
Serie de muestreos I										
Et1 - St1	✓		✓		✓					
Et4 - St4	✓			✓			✓		✓	
Ss - Sb	✓		✓			✓				
Serie de muestreos II										
Et1 - St1	✓			✓			✓		✓	
Et4 - St4	✓			✓			✓		✓	
Ss - Sb	✓			✓				✓		✓
Serie de muestreos III										
Et1 - St1	✓			✓			✓		✓	
Et4 - St4	✓			✓			✓		✓	
Ss - Sb	✓		✓			✓				

4.2. VARIACIÓN DEL NAT EN EL SISTEMA DE RECIRCULACIÓN

4.2.1. Distribución del NAT en los puntos de muestreo

Las concentraciones promedio de nitrógeno amoniacal total (NAT) y el amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$), se distribuyeron de la siguiente manera: en la entrada de los tanques de cultivo la concentración promedio de NAT y $\text{NH}_3\text{-N}$ fue de 0.040 y 0.0007 mg.L^{-1} respectivamente; a la salida de los tanques de cultivo la concentración promedio de NAT y $\text{NH}_3\text{-N}$ fue de 0.062 y 0.0012 mg.L^{-1} ; a la salida del sedimentador se encontró una concentración promedio de NAT y $\text{NH}_3\text{-N}$ de 0.061 y 0.0012 mg.L^{-1} , y finalmente a la salida del biofiltro se encontró una concentración de NAT y $\text{NH}_3\text{-N}$ de 0.036 y 0.0007 mg.L^{-1} respectivamente. Estos valores en la concentraciones para NAT y para $\text{NH}_3\text{-N}$, se encontraron dentro de los valores propicios para el cultivo de peces en agua de mar, ya que en todo momento las concentraciones se encontraron por debajo de los límites críticos para el NAT (<1.0 PHILMINAQ (2008)) y el $\text{NH}_3\text{-N}$ (<0.0125 mg.L^{-1} Colt y Armstrong; Meade; citados por Chen et al. (2006)). Las concentraciones promedio presentadas resultaron del análisis semanal de las concentraciones de NAT y $\text{NH}_3\text{-N}$ (los valores pueden observarse en los cuadro 9 y 10).

4.2.2. Variación semanal de la concentración de NAT

El comportamiento del promedio de las concentraciones de NAT en mg.L^{-1} a lo largo del experimento se puede apreciar en la figura 10, en ella se puede distinguir, que los valores de concentración de NAT se encuentran en todas las semanas por debajo del límite crítico (< 1 mg.L^{-1} , PHILMINAQ 2008) para el cultivo de peces en agua de mar.

Cuadro 8: Variación de la concentración semanal de NAT y NH₃-N

Puntos de muestreo	Promedio semanal de la variación de NAT (mg.L ⁻¹).								
	Sem 1	Sem 2	Sem 3	Sem 4	Sem 5	Sem 6	Sem 7	Sem 8	Sem 9
Et1	0,029	0,057	0,051	0,094	0,035	0,021	0,019	0,009	0,018
St1	0,040	0,093	0,077	0,155	0,050	0,039	0,051	0,026	0,046
Et4	0,019	0,065	0,054	0,121	0,030	0,027	0,022	0,007	0,036
St4	0,039	0,084	0,074	0,142	0,053	0,040	0,055	0,017	0,040
Ss	0,037	0,111	0,071	0,147	0,055	0,046	0,035	0,007	0,036
Sb	0,031	0,061	0,060	0,081	0,028	0,023	0,024	0,007	0,013
Puntos de muestreo	Promedio semanal de variación NH ₃ -N (mg.L ⁻¹).								
	Sem 1	Sem 2	Sem 3	Sem 4	Sem 5	Sem 6	Sem 7	Sem 8	Sem 9
Et1	0,0005	0,0017	0,0009	0,0016	0,0003	0,0003	0,0005	0,0002	0,0003
St1	0,0007	0,0028	0,0013	0,0027	0,0005	0,0005	0,0012	0,0004	0,0007
Et4	0,0003	0,0020	0,0009	0,0021	0,0003	0,0003	0,0005	0,0001	0,0005
St4	0,0007	0,0026	0,0013	0,0025	0,0005	0,0005	0,0014	0,0003	0,0006
Ss	0,0006	0,0034	0,0012	0,0026	0,0005	0,0006	0,0009	0,0001	0,0005
Sb	0,0005	0,0018	0,0010	0,0014	0,0003	0,0003	0,0006	0,0001	0,0002

Cuadro 6: Concentraciones promedio de NAT, NH₃-N en mg.L⁻¹ y % de NH₃-N presente en el NAT.

Puntos de muestreo	Promedio NAT (mg/L)	NH ₃ -N (mg/L)	% de NH ₃ -N presente en NAT
Et1	0,037	0,0007	1,87
St1	0,064	0,0012	1,88
Et4	0,042	0,0008	1,87
St4	0,061	0,0011	1,87
Ss	0,061	0,0012	1,90
Sb	0,036	0,0007	1,91

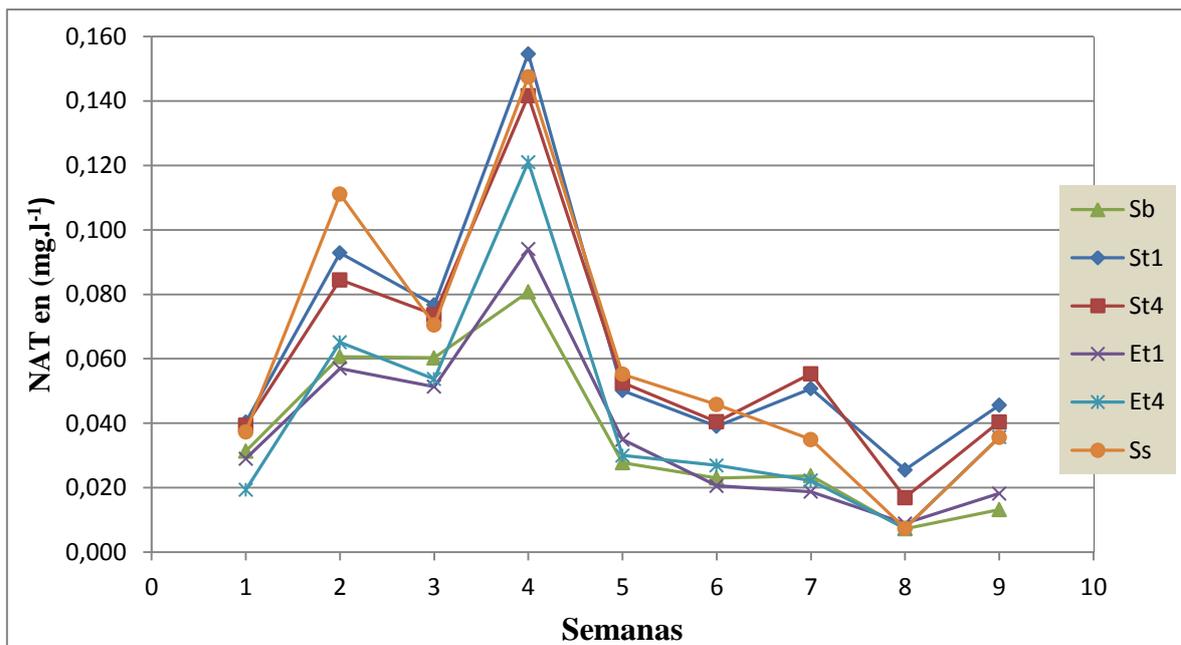


Figura 10: Variación semanal de NAT (mg.L⁻¹) promedio, en los puntos de muestreo.

Con relación al NH₃-N, forma más toxica de amonio en el agua, la figura 11 y el cuadro 9 muestra la variación de los valores promedio de concentración de amonio no-ionizado en el experimento, estos valores mostraron también estar por debajo del límite crítico (< 0.0125 mg.L⁻¹ planteado por Colt y Armstrong; Meade; citados por Chen et al. 2006).

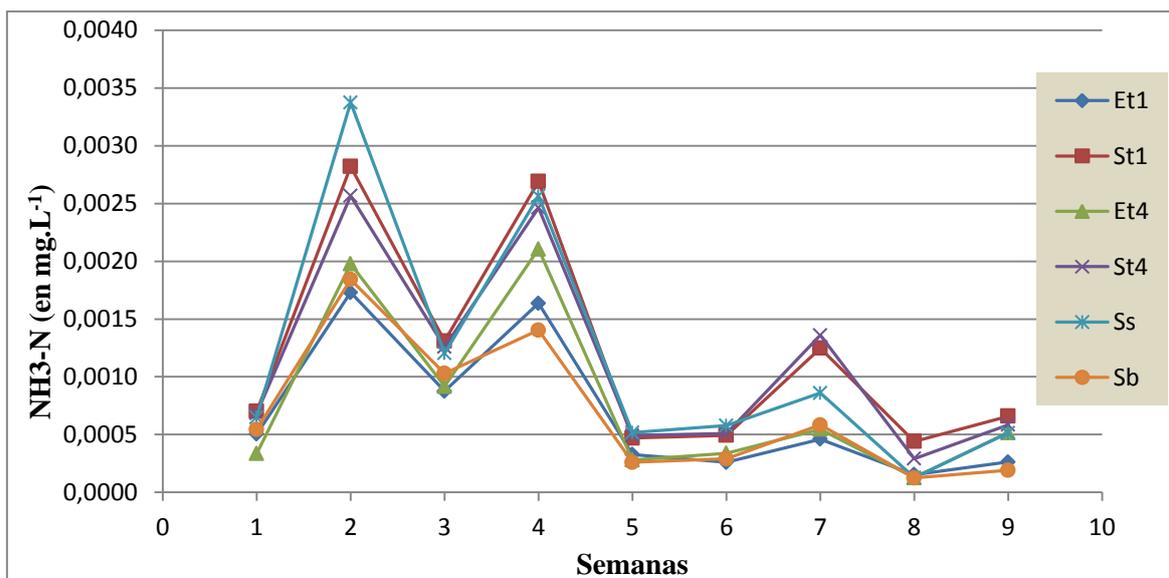


Figura 11: Variación semanal de NH₃-N (mg.L⁻¹), en las estaciones de muestreo.

Según lo planteado por Trussell, citado por Tetzlaff y Heideinger (1992) la temperatura y el pH controlan la proporción de amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$) dentro del nitrógeno amoniacal total (NAT) en el agua, siendo el pH el que tiene el mayor efecto. Según sugiere Tetzlaff y Heideinger (1992) al aumentar el pH (menos de acidez) el porcentaje en el NAT de su forma molecular tóxica ($\text{NH}_3\text{-N}$, amonio no ionizado) aumenta logarítmicamente, a una temperatura de 20°C y un pH de 7.0, alrededor de 0.4% del amonio total (NAT) está en su forma molecular toxica ($\text{NH}_3\text{-N}$). Los datos obtenidos en este experimento, demuestran que para un pH promedio de 7.74 y una temperatura promedio de 22.3°C , el porcentaje promedio de la forma molecular toxica del amonio fue alrededor de 1.33% del nitrógeno amoniacal total.

4.2.3. Variación horaria de la concentración de amonio

La figura 11 muestra la variación horaria de las concentraciones de NAT para las 3 series de muestreos. En los 3 casos, la salida de los tanques de cultivo (St1 y St4) y la salida del sedimentador de placas (Ss) fueron los puntos que mostraron los promedios mayores a lo largo del día. Para la serie de muestreos 1, se encontraron 0.035 mg.L^{-1} tanto para la St1 como para St4, para la Ss se encontró 0.039 mg.L^{-1} ; para la serie de muestreos 2, 0.072 mg.L^{-1} en la St1 y 0.077 mg.L^{-1} en la St4, en la Ss se encontró 0.076 mg.L^{-1} ; en la serie de muestreos 3, 0.083 mg.L^{-1} en la St1 y 0.081 mg.L^{-1} en la St4, la estación Ss mostró una concentración promedio de 0.097 mg.L^{-1} .

Las menores concentraciones promedio se encontraron para los 3 casos en las entradas de los tanques de cultivo (Et1 y Et4) y la salida del biofiltro (Sb). En la serie de muestreos 1, se encontró 0.026 mg.L^{-1} en Et1 y 0.025 mg.L^{-1} en Et4, en el caso de la Sb se encontró 0.031 mg.L^{-1} ; para la serie de muestreos 2, 0.054 mg.L^{-1} en Et1 y 0.050 mg.L^{-1} en Et4, en la Sb se encontró 0.055 mg.L^{-1} ; finalmente en la serie de muestreos 3, 0.041 mg.L^{-1} en Et1 y 0.044 mg.L^{-1} en Et4, en la Sb 0.043 mg.L^{-1} . En todos los casos, se puede observar que los valores están por debajo del valor crítico, $< 1 \text{ mg.L}^{-1}$ propuesto por PHILMINAQ (2008).

Nótese, que entre las estaciones Ss y Sb, correspondiente a la entrada y la salida del biofiltro, las menores concentraciones promedio se encontraron a la Sb, evidenciando nitrificación en el biofiltro. Es importante mencionar, que las menores concentraciones se encontraron en la entrada de los tanques de cultivo, lo que muestra que también existe algún grado de nitrificación en los tanques de almacenamiento y las tuberías del sistema.

La variación de las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$, en los diferentes puntos de muestreo, tiene el mismo comportamiento que las concentraciones NAT. Con relación a los promedios de las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$, los mayores valores se encontraron en la salida de los tanques de cultivo y la salida del sedimentador (St1, St4 y Ss), mientras que los promedios menores se encontraron en la entrada de los tanques de cultivo (Et1 y Et4) y la salida de biofiltro (Sb). Los valores de $\text{NH}_3\text{-N}$ se encontraron por debajo del límite crítico $<0.0125 \text{ mg.L}^{-1}$ descrito por Colt y Armstrong, 1981; Meade, 1985; citados por Chen et al.(2006). Para ver las tablas completas de los valores obtenidos y los promedios para el $\text{NH}_3\text{-N}$ en cada serie de muestreos véase el anexo 10.4. La figura 11 muestra como varían las concentraciones de NAT en las 3 series de muestreos.

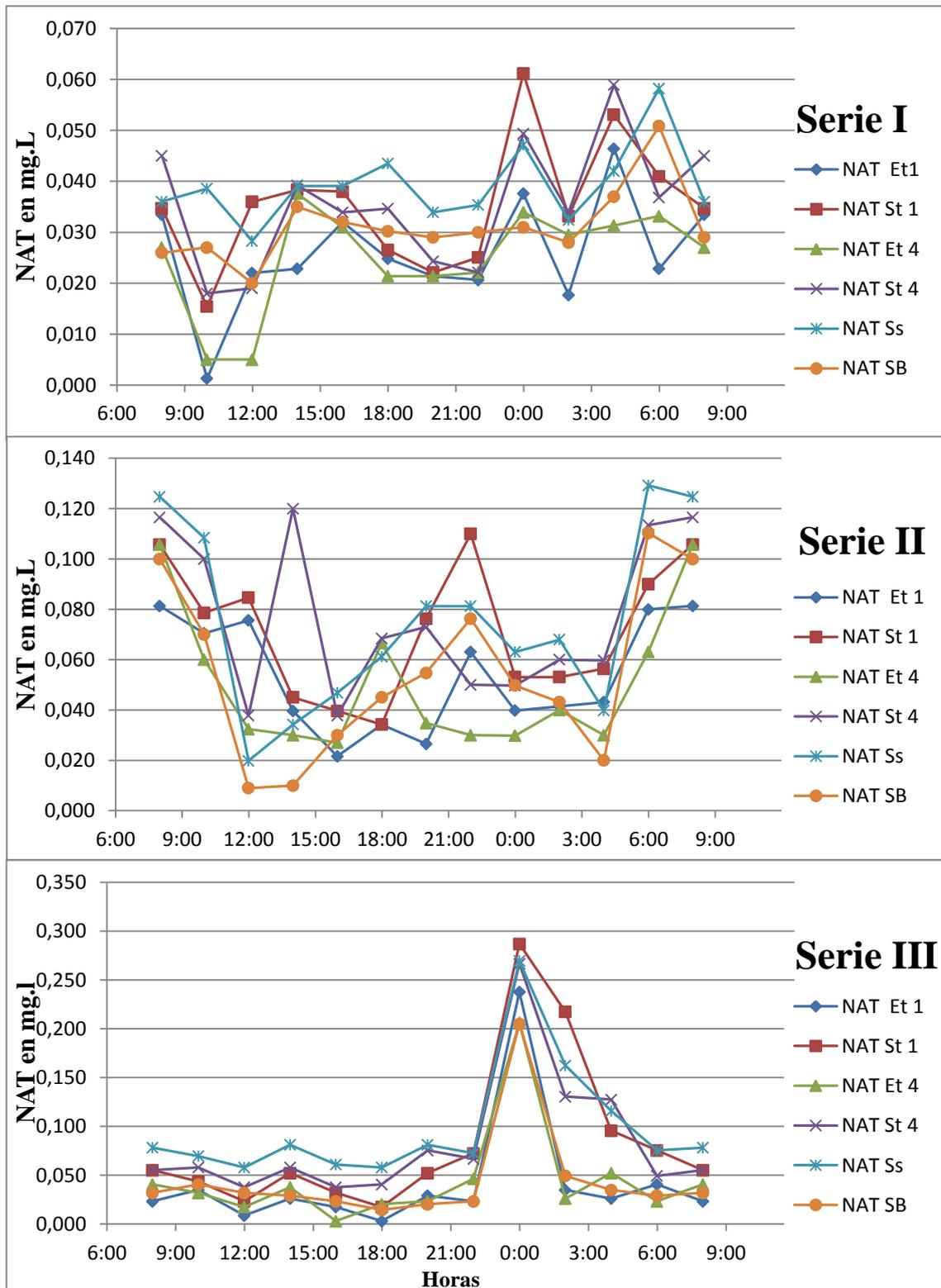


Figura 11: Variación horaria de NAT en las series de muestreos

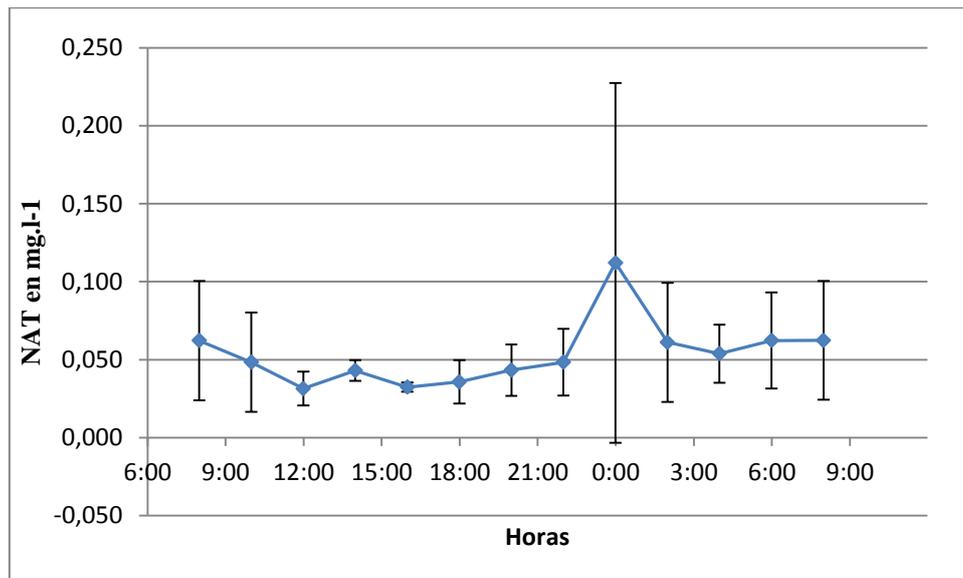


Figura 12: Variación horaria de la concentración promedio de NAT de las 3 series de muestreos, en el sistema.

Isaka et al., citado por Wang et al. (2013) sugirieron que las concentraciones de NAT liberado en el sistema, superiores a $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ contribuyen a la inhibición de la oxidación bacteriana de nitrito. Según Kim et al., Yoon, citados por Wang et al. (2013) la concentración de NAT presente en el sistema juega un papel importante en el proceso de nitrificación, presentando un mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las bacterias que oxidan el nitrito que sobre las bacterias que oxidan el amonio. Las concentraciones de NAT liberadas al sistema durante este experimento se encontraron por debajo de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$, indicativo de que el amonio y el nitrito presentes en el sistema se oxidaron de manera eficiente a nitrato, no presentando efectos nocivos en los peces cultivados.

Con relación al nitrito y al nitrato, se puede decir a pesar de no haber analizado estos parámetros, que se presume que estos estuvieron dentro de los rangos permisibles para el cultivo de peces en agua de mar ya que el sistema no presentó mortalidades durante la investigación. Según comenta Ebeling (2006) concentraciones altas de nitrito se dan durante el proceso de activación del biofiltro alrededor del día 28 (tiempo que se en una activación en frío, sin inocular bacterias) de manera que para este experimento el tiempo debió haber sido menor ya que se inocularon bacterias para acortar el proceso de

activación. En el caso del nitrato posibles concentraciones altas fueron controlaron con las adiciones de agua dulce que se dieron para compensar la evaporación.

Brett y Zala, citados por Martínez (2002) plantean de manera general que el pico de máxima excreción de amonio está relacionado a la alimentación del pez. En este contexto, en un estudio realizado por Verástegui et al. (2001) en un SRA con trucha arco iris (*Oncorhynchus mykissplantean*) plantean que la producción de amonio tuvo un comportamiento cíclico inmediatamente después del inicio de la alimentación, y su valor máximo se dio 8 horas después de la entrega de la primera ración de alimento. Este comportamiento cíclico en la excreción de amonio, se observa también en este experimento, ya que después de la última alimentación suministrada (4 pm) en las tres series de muestreos, se encontraron picos en la concentración de amonio en la salida de los dos tanques (St1 y St4), alrededor de las 8 horas después de la última alimentación suministrada, esto se puede observar con mayor detalle cuando se observa el cuadro 9 y la figura 12, que muestran los promedios generales para las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$.

Por otro lado, Echevaria et al., citados por Martínez (2002) mencionan que probablemente en los peces se presenten dos tipos de oscilación en la excreción de amonio, el primero relacionado con la luz (ciclos de oscuridad) y el segundo controlado por los periodos de alimentación y ayuno, manifiestan que la alimentación del pez todos los días a la misma hora lleva a una anticipación en el comportamiento del mismo, produciendo un incremento en la excreción antes de las comidas. Este comportamiento se manifestó en este experimento en la segunda serie de muestreos, se encontró a las 8 de la mañana antes de su alimentación un incremento en la concentración de amonio previo a la alimentación.

4.2.4. Análisis estadístico de la variación horaria de amonio en el sistema

Para el análisis estadístico del amonio se utilizaron las mismas pruebas estadísticas utilizadas para el oxígeno, los datos tuvieron que cumplir los mismos supuestos para su análisis.

Cuadro 7: Análisis estadísticos para los datos del amonio

Amonio	Supuestos				Test para analizar si existen diferencias entre las medias					
	Homogeneidad de varianzas (F-Test)		Distribución normal Test de		Prueba Paramétrica T-		No-Paramétricas			
	homogeneidad	No homogeneidad	Dist. normal	No Dist. normal	Dif. significativa	No Dif. significativa	Test de Wilcoxon		Test de La Mediana	
Estaciones de muestreo	homogeneidad	No homogeneidad	Dist. normal	No Dist. normal	Dif. significativa	No Dif. significativa	Dif. significativa	No Dif. significativa	Dif. significativa	No Dif. significativa
Serie de muestreos I										
Et1 - St1	✓		✓			✓				
Et4 - St4	✓		✓			✓				
St1 - Ss	✓		✓			✓				
St4 - Ss	✓		✓			✓				
Ss - Sb	✓			✓			✓		✓	
Serie de muestreos II										
Et1 - St1	✓			✓				✓		✓
Et4 - St4	✓			✓				✓		✓
St1 - Ss	✓		✓			✓				
St4 - Ss	✓			✓				✓		✓
Ss - Sb	✓		✓			✓				
Serie de muestreos III										
Et1 - St1	✓			✓				✓		
Et4 - St4	✓			✓				✓		
St1 - Ss	✓			✓				✓		✓
St4 - Ss	✓			✓				✓		✓
Ss - Sb	✓			✓			✓		✓	

El cuadro 10 muestra el resultado de los análisis estadísticos desarrollados para el amonio, en él se observa: para las 3 series de muestreos en el caso de las comparaciones hechas entre las estaciones Et1-St1, Et4-St4, St1-Ss, St4-Ss que no se encontró diferencias significativas. En el caso de las comparaciones hechas entre las estaciones Ss-Sb, se encontró diferencias significativas en las series de muestreo I y III, lo que demuestra que existió nitrificación en el biofiltro. Para la serie de muestreo II, no se encontró diferencia significativa, de cualquier modo las concentraciones de amonio a la salida del biofiltro fueron menores que en el ingreso lo que demuestra que también existió nitrificación en el biofiltro para esta serie de muestreos.

4.3. RESULTADO DE LOS CONTROLES DE pH, SALINIDAD Y TEMPERATURA

4.3.1. Variación de pH en el sistema

Variación semanal

El pH en el sistema a lo largo del experimento se mantuvo dentro de los rangos sugeridos para el cultivo peces en agua de mar, 6.0 a 9.0 (PHILMINAQ 2008). Los valores de pH promedio por semana en cada punto de muestreo en el sistema, se pueden apreciar en el cuadro 11. Durante todo el experimento, se encontró como valor mínimo en la primera semana un pH de 7,62 en la Et1 y como valor máximo en octava semana un pH de 8,02. Lo que demuestra que los valores de pH fueron adecuados, ya que según expone Aquafarmer, citado por Molleda (2007) los cambios en el pH deben ser menores a 0.5 y deben encontrarse en el rango de 6 a 9 para el cultivo en agua de mar.

Cuadro 8: Variación semanal de los valores de pH en los punto de muestreo

Puntos de muestreo	sem 1	sem 2	sem 3	sem 4	sem 5	sem 6	sem 7	sem 8	sem 9
Et1	7,62	7,85	7,81	7,74	7,66	7,64	7,87	7,95	7,68
St1	7,62	7,91	7,73	7,71	7,64	7,63	7,87	8,02	7,66
Et4	7,65	7,95	7,73	7,73	7,68	7,67	7,94	7,65	7,65
St4	7,63	7,97	7,72	7,69	7,66	7,65	7,97	7,66	7,71
Ss	7,65	7,97	7,74	7,71	7,72	7,62	7,98	7,64	7,7
Sb	7,65	7,98	7,68	7,62	7,66	7,59	7,99	7,65	7,69
\bar{X} sistema	7,64	7,94	7,73	7,70	7,67	7,63	7,94	7,76	7,68

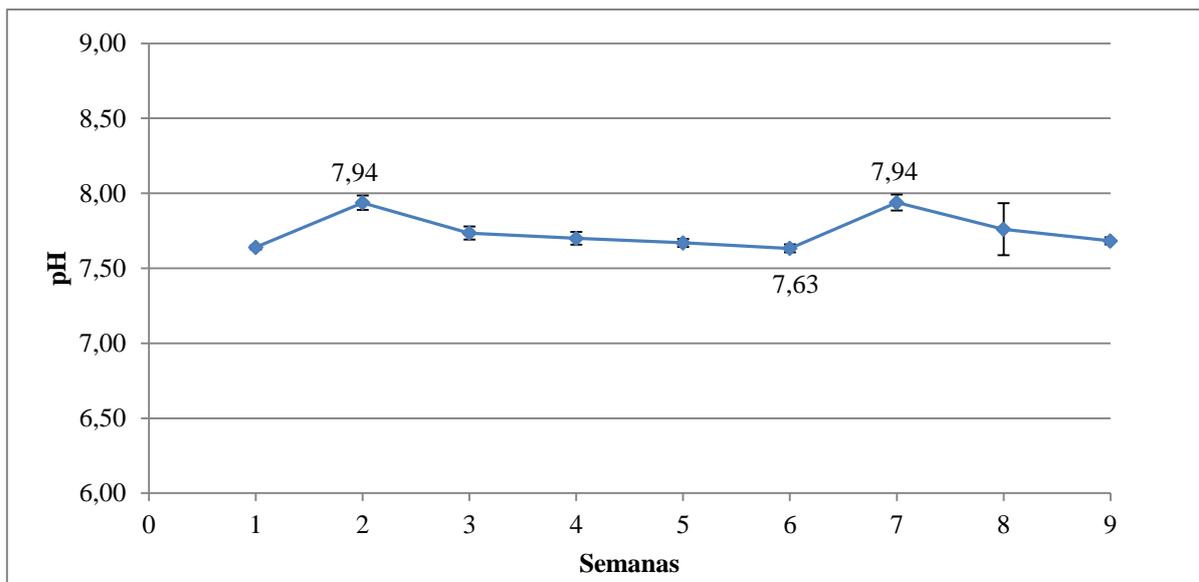


Figura 13: Variación del promedio semanal de pH en el sistema.

La figura 13, muestra la variación semanal de los promedios de pH en el sistema. En la figura se puede apreciar que las variaciones son mínimas, por tanto se concluyó que el pH fue constante durante las nueve semanas de experimentación, variando entre 7,63 y 7,94 como valores promedio en los diferentes puntos de muestreo. Es importante destacar, que todos los valores a lo largo del experimento se encontraron entre el intervalo de 6.0 – 9.0, recomendado por PHILMINAQ (2008) para el cultivo de peces en agua de mar. Molleda (2007) obtuvo valores similares durante un experimento con agua de mar para el cultivo de *Salvelinus alpinus* L. con valores de pH que se mantuvieron durante dos semanas entre 8 al inicio y 7.4 al final.

Variación horaria de pH

La variación horaria de pH para las 3 series de muestreos, se puede observar en la figura 14, los valores para la serie I se encuentran entre el intervalo de 7.59 - 7.79. Para la serie de muestreo II, los valores se encuentran entre 7.37-8.09. Mientras que en la serie de muestreos III, los valores se encuentran entre 7.51-7.69. Se observa una ligera tendencia a encontrar valores mayores en horas cercanas al medio día, tendencia que se encuentra más marcada en la segunda serie de muestreos. Los valores durante las 3 series de muestreos se encontraron dentro rango recomendado para el cultivo de peces en agua de mar (6.0-9.0), propuesta por PHILMINAQ, (2008).

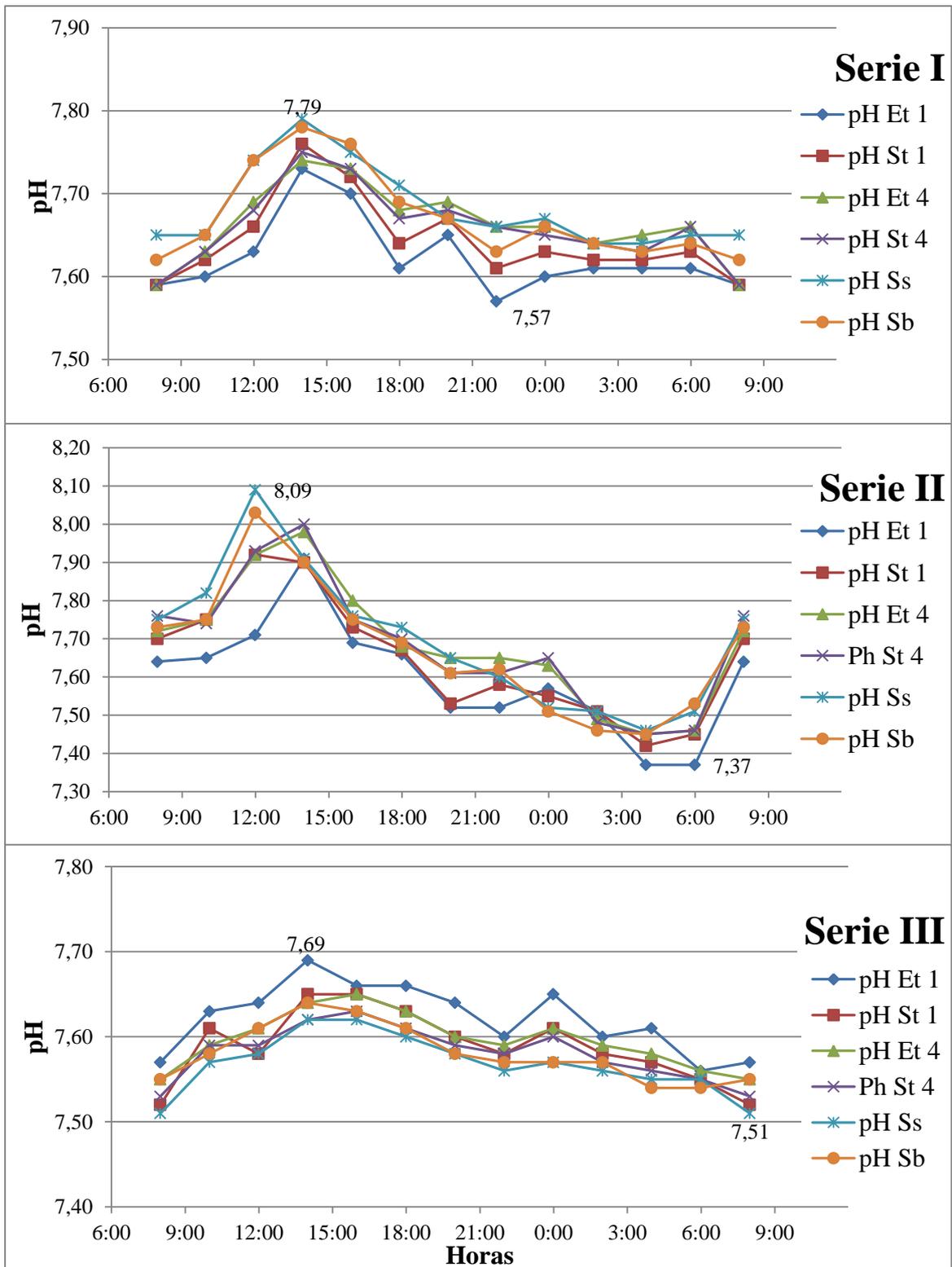


Figura 14: Variación horaria de pH, en las series de muestreos.

Wang et al. (2009) comentan que con un pH que fluctuó entre 7,67 y 8,34, el amonio y el nitrito se oxidan más rápidamente. En el caso de este experimento el pH fluctuó entre 7.63 y 8.09 intervalo bastante similar al que encontraron Wang et al. (2009), lo que pudo ayudar a una rápida oxidación de amonio y nitrito.

Según lo planteado por Trussell, citado por Tetzlaff y Heideinger (1992), la temperatura y el pH controlan la proporción de amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$) dentro nitrógeno amoniacal total (NAT) en el agua, siendo el pH el que tiene el mayor efecto. Según sugiere Tetzlaff y Heideinger (1992) al aumentar el pH (menos de acidez), el porcentaje en el NAT de su forma molecular tóxica ($\text{NH}_3\text{-N}$, amonio no ionizado) aumenta logarítmicamente, a una temperatura de 20°C y un pH de 7,0, alrededor de 0,4% del amonio total (NAT) está en su forma molecular toxica ($\text{NH}_3\text{-N}$). Los datos obtenidos en este experimento, demuestran que para un pH promedio de 7.74 y una temperatura promedio de 22.3°C , el porcentaje promedio de la forma molecular toxica del amonio fue alrededor de 1.33% del nitrógeno amoniacal total.

Castelló (2013) sostiene que la alcalinidad, que es medida en mg.L^{-1} de CaCO_3 , es una propiedad de los cuerpos de agua que indica la capacidad de estos para evitar cambios bruscos de pH al aumentar compuestos ácidos en ellos. El mismo autor indica que aguas naturales con una alcalinidad de alrededor $80 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ son adecuadas para el correcto desarrollo de los procesos biológicos, además indica como referencia que el agua de mar natural tiene una alcalinidad promedio de 120 mg.L^{-1} . Boyd (2001) plantea que la alcalinidad del agua se debe principalmente a sales de ácidos débiles y bases fuertes, estas sustancias actúan como amortiguadoras que ayudan a evitar fluctuaciones drásticas de pH en el agua de mar, es por este motivo que el pH a lo largo del experimento no presento variaciones drásticas ya que la alcalinidad de agua de mar mantuvo contraladas las variaciones de pH.

4.3.2. Variación de la temperatura durante el experimento

La temperatura durante el experimento fluctuó entre 21,66 a 23,33 grados centígrados, con un promedio de $22,37^\circ\text{C}$. La variación semanal se puede apreciar en la figura 15. Considerando los promedios semanales, la mayor temperatura se encontró en la

primera semana (23,33 °C) y el valor más bajo se encontró en la séptima y la última semana de experimentación (21,66 °C).

Sun y Chen, Nerici et al., citados por Riaño (2013) plantean que a mayor temperatura mayor tasa de excreción de amonio, debido al aumento en las tasas metabólicas a través de la desaminación de los aminoácidos ingeridos en la dieta. Los valores de temperatura durante el experimento, no fueron los ideales (para la especie utilizada en el experimento), aunque se encontraron dentro de lo permisible. Esta baja temperatura a lo largo del tiempo de experimentación puede haber influenciado, junto con el buen funcionamiento del biofiltro, en mantener los valores de NH₃-N por debajo de los valores críticos.

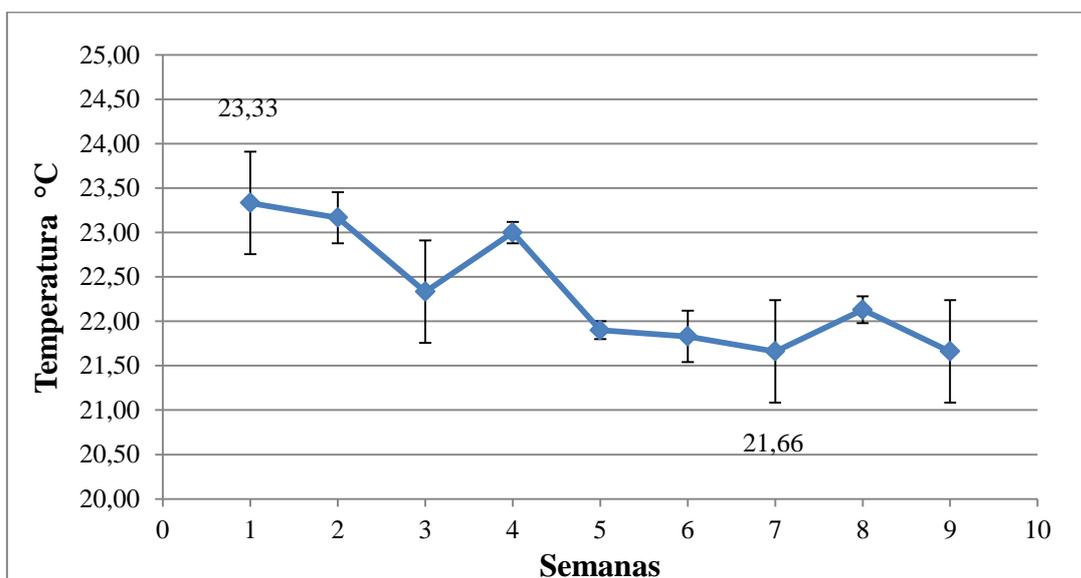


Figura 15: Variación semanal de los promedios de temperatura.

4.3.3. Variación de la salinidad

La salinidad se controló diariamente durante el experimento. Las mediciones diarias de este parámetro se hicieron con un densímetro para acuario de la marca SERA y las semanales con un refractómetro. La salinidad se mantuvo relativamente constante, los valores fluctuaron entre 34,5 a 35,5 ‰ (véase figura 16), presentando una desviación estándar de 0,42. Los incrementos en este parámetro, producidos por la evaporación del

agua, se contrarrestaron con la adición de agua dulce al sistema en volumen similar al evaporado (entre 100 y 110 L por semana).

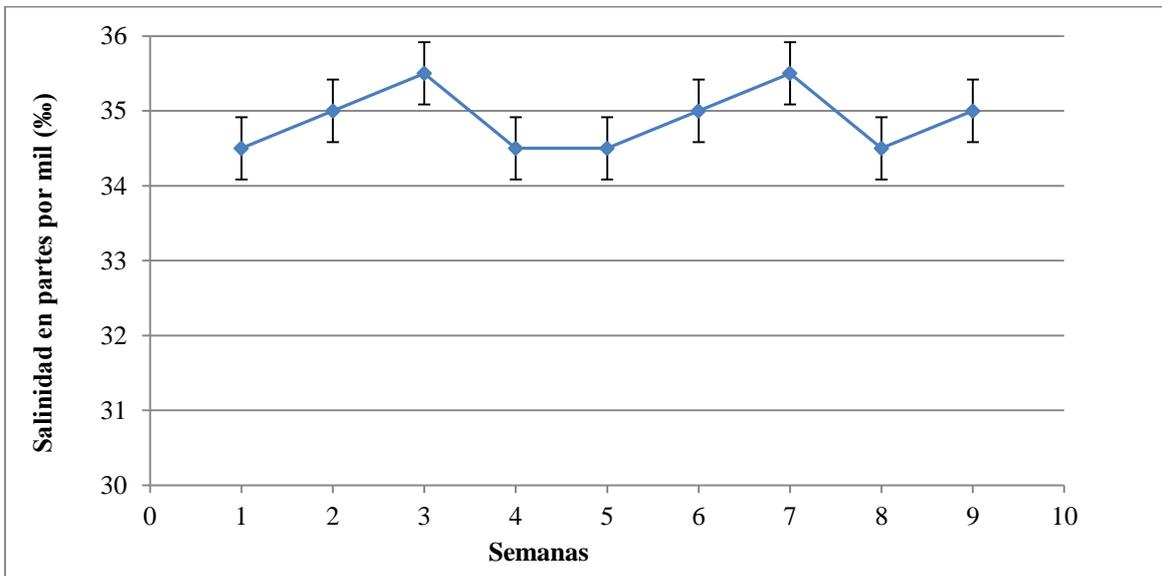


Figura 16: Variación semanal de salinidad

4.4. EFICIENCIA DEL BIOFILTRO

Eficiencia del biofiltro en la remoción de amonio

La eficiencia de remoción de amonio por parte del biofiltro, se calculó mediante la tasa de remoción de amonio (NR%), ecuación descrita por Tseng y Wu; citados por Kir, (2009); además se calculó la tasa de conversión volumétrica de NAT (VTR) con la ecuación descrita por Malone y Pfeiffer (2006), y la tasa de remoción de amonio por área (AAS) ecuación descrita por Dicky et al. (2011), para este experimento la SSA (superficie específica de los medios de fijación) fue de $117 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$, dato necesario para el cálculo de la AAS.

Cuadro 92: Valores de la eficiencia del biofiltro, en cada serie de muestreos.

	Serie I	Serie II	Serie III
Volumen de trabajo biofiltro (m ³)	0,28	0,28	0,28
Caudal de ingreso al biofiltro (m ³ .día ⁻¹)	61,82	66,62	66,62
Caudal de ingreso a cada tanque de cultivo (m ³ .h ⁻¹)	0,322	0,347	0,347
Concentración promedio de NAT Ss (gr.m ⁻³)	0,039	0,076	0,097
Concentración promedio de NAT Sb (gr.m ⁻³)	0,031	0,055	0,043
NR% = Tasa de remoción de NAT	20,51	26,9	55,23
VTR = Tasa de remoción volumétrica de NAT (g.m ⁻³ .día ⁻¹)	1,77	4,84	12,74
AAS = tasa de remoción de amonio por área (g.m ⁻² .día ⁻¹)	10,16	44,37	116,90
NR = ((NAT_{in} - NAT_{out}) / NAT_i) * 100	Tasa de remoción de NAT		
VAR = (NAT_{in} - NAT_{out}) × Q x V⁻¹	Tasa de remoción volumétrica de NAT		
AAR = (NAT_{in} - NAT_{out}) × Q x V⁻¹ x S⁻¹)	Tasa de remoción de NAT por área		

Los datos utilizados para los cálculos en cuadro 15 son: las concentraciones de NAT de ingreso y salida del biofiltro (puntos de muestreo Ss y Sb), los caudales de ingreso al biofiltro (m³.día⁻¹), el volumen del biofiltro (m³) y la superficie específica de los medios de fijación (S=117 m².m⁻³).

Como se puede observar en el cuadro 12, la tasa de remoción de amonio (NR%), se incrementó en cada una de las tres serie de muestreos, 13.48, 26.90, 55.23 %. En el caso de la tasa de conversión volumétrica de NAT (VTR), esta también aumentó para cada serie de muestreo a lo largo del experimento, mostrando los valores de 1.11, 4.84, 12.74 gr.m⁻³.día⁻¹ y los mismo sucedió para la tasa de remoción de amonio por área (AAS), presentando los siguientes valores para cada serie de muestreo 10.16, 44.37 y 116.90 gNAT.m⁻².día⁻¹. Esto demuestra, que la eficiencia del biofiltro fue aumentando con el aumento de la concentración de NAT (0.036, 0.076 y 0.097 g.m⁻³, en cada serie de muestreos). A esto se refiere Wang et al. (2009) cuando comenta que la capacidad de oxidación del amonio está relacionada con la concentración de amonio presente en el sistema, ya que, mientras en su experimento se fue incrementando la concentración de NAT también fueron incrementando la tasa de remoción de NAT, la tasa de conversión volumétrica y la tasa de remoción de amonio por área. Además, Wang et al. (2009) reportan que en un análisis hecho a un SRA de agua de mar con cero recambios, una

tasa media de remoción volumétrica de amonio de $4.84 \text{ gNAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ (en este experimento se fue incrementado gradualmente la carga de amonio con una solución sintética de NAT hasta alcanzar 0.5 mg.L^{-1} en el inicio del experimento), esta tasa es igual a la encontrada en este experimento en la segunda serie de muestreos horarios realizado al NAT, pero para una carga de NAT menor.

Zhu y Chen, citados por Interdonato (2012) comentan que la eficiencia del biofiltro se evalúa de acuerdo a su capacidad de nitrificación, la cual es proporcional a la concentración de NAT, concentración que debe mantenerse por debajo de 1 mg.L^{-1} como valor de seguridad. En ese sentido, los valores de NAT en este experimento se encontraron en todo momento por debajo del valor planteado por los investigadores mencionados. Además, como se puede apreciar en el cuadro 15 y en relación a la proporcionalidad que menciona Interdonato (2012), podemos observar que a medida que aumentan las concentraciones de amonio a lo largo del desarrollo del experimento, también aumentan la tasa de remoción de NAT (NR%), la tasa de conversión volumétrica de NAT (VTR) y la tasa de remoción de NAT por área (AAS).

V. CONCLUSIONES

1. Las concentraciones para el oxígeno disuelto (6.78 mg.L^{-1} y 98.43% de saturación, promedio en la entrada de los tanques de cultivo) siempre se encontraron por encima de los límites críticos propuestos para este parámetro (5 mg.L^{-1} y 75% de saturación), incluso en gran parte del experimento se encontraron valores por encima del valor de saturación. Estos valores se manejaron sin aireación externa y para una carga de peces de entre 1.93 a $2.50 \text{ Kg}_{\text{pez}}\cdot\text{m}^{-3}$.
2. En el caso del nitrógeno amoniacal total (NAT) (0.040 mg.L^{-1} concentración promedio en la entrada de los tanques) y el amonio no ionizado ($\text{NH}_3\text{-N}$) (0.0008 mg.L^{-1} concentración promedio en la entrada de los tanques), el SRA mostró valores por debajo de los límites críticos (<1 y $<0.0125 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente) durante todo el experimento.
3. Las variaciones horarias para el oxígeno en el SRA, mostraron valores promedios que estuvieron entre 6.42 y 6.68 mg.L^{-1} , además de presentar una variabilidad relativamente similar en el promedio de las tres series de muestreos. Además mostró estar relacionada directamente con la alimentación y temperatura, ya que las concentraciones tendieron a bajar durante las horas de alimentación y subir en las horas que la temperatura bajo.
4. La variación horario de las concentraciones de amonio (NAT y $\text{NH}_3\text{-N}$), mostró que las concentraciones de amonio tienden a incrementarse alrededor de las $00:00$ horas, 8 horas después de la última alimentación, lo que demuestra que las concentración de NAT está influenciada por la alimentación.
5. La eficiencia del biofiltro mostró los siguientes valores entre el primer y el ultimo muestreo: NR% entre 13.93 y 55.23% ; el VTR entre 1.11 y $12.74 \text{ grNAT}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{día}^{-1}$ y el AAS entre 10.16 y $116.90 \text{ grNAT}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}$, lo que demuestra la proporcionalidad con los valores de amonio, la remoción se incrementó mientras los niveles de amonio se incrementaron.

VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la performance del sistema de recirculación con una mayor densidad de peces, para llevar los valores de oxígeno y amonio a valores extremos, y determinar el componente que sería crítico en la operación del SRA.
2. Ampliar la investigación a nivel de dinámica a otros parámetros, como es el nitrito, nitrato y alcalinidad, ello permitirá tener un manejo más seguro del sistema de recirculación.
3. En vista de la eficiencia del SRA empleado para una capacidad de carga que se encontró entre 1.93 a 2.50 Kg_{pez}·m⁻³, se recomienda trabajar con especies marinas nativas, cuya sensibilidad a los parámetros de calidad de agua es mayor.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS

- Alatorre Jácome, O. 2007. Calidad de agua y principios de diseño en los sistemas de recirculación acuícola (RAS). (en línea). Tesina Ing. en Invernaderos. Santiago de Querétaro, MX. Universidad Autónoma de Querétaro. 79 p. Consultado el 19 de oct. de 2015. Disponible en: <http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/2163/1/RI001665.pdf>
- Badiola, M; Mendiola, D; Bostock, J. 2010. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*. 51 (26–35).
- Barón López, RJ; Téllez Montiel, F. 2000. Apuntes de Bioestadística. (en línea). Consultado el 15 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.bioestadistica.uma.es/baron/apuntes/ficheros/cap04.pdf>
- Barón, B; Buckle, F; Hernández, M. 2004. Intensive culture of *Litopenaeus vannamei* Boone 1931, in a recirculating seawater system. *Ciencias Marinas*, 30(1), 179-188.
- Berenson, ML; Levine, DM; Krehbiel, TC. 2006. Estadística para administración. (en línea). Pearson Educación. 635p. Consultado el 23 de octubre de 2015. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=Aw2NKbDJJoZoC&oi=fnd&pg=PR23&dq=Estad%C3%ADstica+para+administraci%C3%B3n&ots=dWshKhu9Pz&sig=Y6esdK8bmVF_Wc3jksxl1JdtcdM#v=onepage&q=Estad%C3%ADstica%20para%20administraci%C3%B3n&f=false
- Blancheton, JP; Piedrahita, R; Belaud, A; Moutounet, Y; Fievelstadt, S; Lemarié, G. 2006. Gas control in land based aquaculture, physiological and technical aspects. *Aqua*, 9-13p.
- Bocioc, E; Cristea, V; Patriche, N; Grecu, I; Ion, SP; Coadă, MT; Ionescu, TI. 2011. Water quality monitoring into a recirculating aquaculture system for intensive rearing of carp (*Cyprinus carpio*) juveniles fed with probiotics supplement. *Lucrari stiintifice - Seria Zootehnie*. Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara Ion Ionescu de la Brad (Romania). Vol 5: 289-294.

- Bombas Ideal, SA. 2005. Datos técnicos de Hidráulica: Bombas. (en línea). Oficina de Ingeniería Bombas Ideal SA, Ed. Signo Gráfico, SL, Massalfassar, Valencia, España. ES. 136p. Consultado el 26 de marzo de 2016. Disponible en: <http://www.bombas-ideal.com/Catalogos/LIBRO%20HIDRAULICA%20%5BD-250112%5D.pdf>
- Buttner, JK; Soderberg, RW; Terlizzi, DE. 1993. An Introduction to water chemistry in freshwater aquaculture. University of Massachusetts, Dartmouth Massachuset. No. 170-1993. 4p.
- Castelló, OF. 1993. Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Ediciones Universidad de Barcelona. ES. 2 Ed (Vol. 4). 747p.
- Castelló, OF. 2013. Piscicultura Marina en Latinoamérica. Bases científicas y técnicas para su desarrollo. Ediciones Universidad de Barcelona. ES. 312p.
- Cheatham, AK. 2009. Responses of Nitrifying Bacteria to Aquaculture Chemotherapeutic Agents. Tesis Doctoral. Virginia Polytechnic Institute and State University, US. 248p.
- Chen, S; Ling, J; Blancheton, JP. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 179-197.
- Colt, J; Lamoureux, J; Patterson, R; Rogers, G. 2006. Reporting standards for biofilter performance studies. *Aquacultural Engineering*. 34 (377-388).
- Díaz, V; Ibáñez, R; Gómez, P; Urtiaga, AM; Ortiz, I. 2012. Kinetics of nitrogen compounds in a commercial marine Recirculating Aquaculture System. *Aquacultural Engineering*, 50, 20-27.
- Dicky, H; Sung-Yong, O; Jae-Yoon, J. 2011. Comparison of the nitrification efficiencies of three biofilter media in a freshwater system. *Fisheries and aquatic sciences*, 14(4), 363-369.
- DeLong, DP; Losordo, T. 2012. How to Start a Biofilter. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication No. 4502. 4p.

- Ebeling, JM; Timmons, MB; Bisogni, JJ. 2006. An engineering analysis of the stoichiometry of autotrophic, heterotrophic bacterial control of ammonia–nitrogen in zero-exchange production. In Proceedings of the 6th International Conference on Recirculation Aquaculture. Roanoke, VA (pp. 28-37).
- Ebeling, JM; Timmons, MB; and Bisogni, JJ. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257(1), 346-358.
- Ebeling, JM. 2006. Water Quality. Recirculating aquaculture systems short course. University of Arizona. US.
- Eding, EH; Kamstra, A; Verreth, JAJ; Huisman, EA; and Klapwijk, A. 2006. Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: a review. *Aquacultural engineering*, 34(3), 234-260.
- EPA (United States Environmental Protection Agency). 2006. Compliance Guide for the Concentrated Aquatic Animal Production Point Source Category. Engineering and Analysis Division Office of Science and Technology US. EPA 821-B-05-001 (293p).
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Departamento de Pesca y Acuicultura. 253 p.
- Francis-Floyd, R; Watson, C; Petty, D; Pouder, DB. 2010. Ammonia in aquatic systems. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. US. 4p.
- Gómez Gómez, M.; Danglot Banck, C; Vega Franco, L. 2003. Sinopsis de pruebas estadísticas no paramétricas. Cuándo usarlas. (en línea). *Rev. Mex Pediatría*, 70(2), 91-99. Consultado el 06 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2003/sp032i.pdf>
- González, N; Abad, J; Lévy, JP. 2006. Normalidad y otros supuestos en análisis de covarianzas. (en línea). 27 p. Consultado el 06 de julio de 2015. Disponible en: <http://gide.unileon.es/admin/UploadFolder/covarianzas.pdf>

- Gutierrez-Wing, MT; Malone, RF. 2006. Biological filters in aquaculture: trends and research directions for freshwater and marine applications. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 163-171.
- Helfrich, LA; Libey, G. 1991. Fish farming in recirculating aquaculture systems (RAS). Virginia State Cooperative Service. US. 19 p.
- Hollingsworth, CS; Baldwin, R; Wilda, K; Elis, R. 2006. Best management practices for finfish Aquaculture in Massachusetts. Western Massachusetts Center for Sustainable Aquaculture, University of Massachusetts, US. 53p.
- Hutchinson, W; Jeffrey, M; O'Sullivan, D; Casement, D; Clarke, S. 2004. Recirculating aquaculture systems: minimum standards for design, construction and management. Inland Aquaculture Association of South Australia. 70p.
- Interdonato, F. 2012. Recirculating aquaculture system (RAS) biofilters: focusing on bacterial communities complexity and activity. Tesis Doctoral. Università Degli Studi di Messina, IT. 124p.
- Kir, M. 2009. Nitrification performance of a submerged biofilter in a laboratory scale size of the recirculating shrimp system. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9(2). 209-214.
- Krause, J; Kuzan, D; Defrank, M; Mendez, R; Pusey, J; Braun, C. 2006. Design guide for recirculating aquaculture system. Rowan University. Mullica Hill Road Glassboro, NJ 08028, 43p.
- Kroupova, H; Machova, J; Svobodová, Z. 2005. Nitrite influence on fish: a review. *VETERINARNI MEDICINA-PRAHA*. Czech.50(11), 461.
- Kumar, V; Joseph, V; Philip, R; Singh, I. 2010. Nitrification in brackish water recirculating aquaculture system integrated with activated packed bed bioreactor. *Water Science and Technology*. 61(3) 797-804.
- Lazo Calle, O. 2006. Balance de amonio y oxigeno de un sistema de recirculación para acuicultura experimental. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. PE. 25p.

- Losordo, TM; Masser, MP; Rakocy, J. 1999. Recirculating aquaculture tank production systems. A Review of Component Options. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC), United States Department of Agriculture (USDA), US. No 453.
- Mallya, YJ. 2007. The effects of dissolved oxygen on fish growth in aquaculture. (en línea). The United Nations University Fisheries Training Programme, Final Project. 30p.
- Malone, RF; Pfeiffer, TJ. 2006. Rating fixed film nitrifying biofilters used in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural engineering*, 34(3), 389-402.
- Martínez Contreras, MT. 2003. Adaptación y crecimiento de las tilapias (*Oreochromis niloticus*, *Oreochromis aureus*, *Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) en agua de salada. Universidad de Colima. México. 15p.
- Martinez López, ER. 2002. Efecto de la dieta y otros factores sobre la excreción de amonio y el aprovechamiento del nitrógeno por la Dorada (*Sparus aurata*), y su incidencia en los cultivos de esta especie. Tesis Ph.D. Barcelona, ES. Universitat Politècnica de Catalunya (UPC). 177p.
- Masser, MP; Rakocy, J; Losordo, TM. 1999. Recirculating aquaculture tank production systems. Management of recirculating systems. (en línea). SRAC Publication, No 452.
- Merino, GE. 2011. Tecnología de recirculación aplicada a los cultivos marinos. Universidad de Ciencias del Mar. Coquimbo. CL. 8p.
- Molleda, MI. 2007. Water Quality in Recirculating Aquaculture Systems for Arctic Charr (*Silvinus alpinus* L.) Culture. UNU-Fishries Training Programme. Final Project. 54p.
- Mongirdas, V; Kusta, A. 2006. Oxygen mass balance in a recirculation aquaculture system for raising European Wels (*Silurus glanis* L.). *Ekologija*, 4, 58-64. Consultado el 15 de agosto de 2015.
- OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico). 2013. OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2013-2022. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México, MX. 338p.

- Parker, E; Couturier, M; Barfey, T. 2012. Oxygen Management at a Commercial Recirculating Aquaculture Farm producing Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Smolts. *Atlantech Companies* 1(1): 1-5.
- Parsons, TR; Maita, Y; and Lalli CM. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. 1^a ed. UK. Wheaton and Co. Ltd. Exeter. 188p.
- Pepe-Victoriano, R; Silva, A; Vega, A; Araya, M; Cornejo, L. 2012. Efecto del Aumento de la Temperatura, Frecuencia de Alimentación y Ración de Alimento en el Crecimiento de Juveniles de Turbot (*Psetta máxima*). *International Journal of Morphology*, 30(3), 902-907.
- Pértega Díaz, S; Pita Fernández, S. 2001. Métodos paramétricos para la comparación de dos medias. T de Student. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Universitario de La Coruña. EP. CAD ATEN PRIMARIA; 8: 37-41.
- PHILMINAQ (Mitigating Impact from Aquaculture in the Philippines). 2008. Water Quality Criteria and Standards for Freshwater and Marine Aquaculture. Annex 2. 34 p.
- Post, G. 1987. Libro de texto de Salud de Peces. T. F. H. Publication Inc. United States. 286p.
- Riaño Castillo, ER. 2013. Efecto de diferentes niveles de proteína en la dieta y temperatura sobre el crecimiento y excreción de nitrógeno amoniacal total en goldfish (*Carassius auratus*), bajo condiciones de laboratorio. Tesis Pregrado. Bogotá, CO. Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de Ciencias Básicas. Programa de Biología Aplicada. 69 p.
- Saidu, MMG. 2009. Temperature impact on nitrification and bacterial growth kinetics in acclimating recirculating aquaculture systems biofilters. Tesis doctoral, Louisiana State University. 190 p.
- Sánchez Ortiz, IA. 2011. Sistemas de Recirculación Intensivos y con bajo Recambio: Factores Limitantes y Opciones de Solución. (en línea). *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola*, 5(5). Consultado el 05 de setiembre de 2015.

Disponible

en:

<http://revistas.udenar.edu.co/index.php/reipa/article/viewFile/1560/1898>

- Sandu, S; Hallerman, E. 2013. Biodegradation of Nitrogen in a Commercial Recirculating Aquaculture Facility. *Intech- Biodegradation - Engineering and Technology*. Chapter 13 (341-363).
- Sandu, SI; Boardman, GD; Watten, BJ; Brazil, BL. 2002. Factors influencing the nitrification efficiency of fluidized bed filter with a plastic bead medium. *Aquacultural Engineering* 26:41-59.
- Svobodová, Z; Máchová, J; Poleszczuk, G; Húda, J; Hamáčková, J; Kroupova, H. 2005. Nitrite poisoning of fish in aquaculture facilities with water-recirculating systems. *Acta Veterinaria Brno*, 74(1), 129-137.
- Tetzlaff, BL; Heideinger, RC. 1992. Basic principles of biofiltration and system design. Cooperative Fisheries Research Laboratory, Southern Illinois University. Bulletin No 9.1 (1-19).
- Timmons, MB. 2006. Mass Balances, Loading Rates, and Fish Growth. *Recirculating aquaculture systems short course*. University of Arizona. US.
- Timmons, MB; Vinci, BJ. 2006. Gas transfer. *Recirculating aquaculture systems short course*. University of Arizona. US.
- Timmons, MB; Ebeling, JM; Wheaton, FW; Summerfelt, ST; Vinci, BJ. 2002. *Sistemas de Recirculación para la Acuicultura*. Eds. G Parada Rebolledo y M Hevia Werkmeister. 2 ed. Santiago, CL. Fundación Chile. 747p.
- Tran-Duy, A; Schrama, JW; van Dam, AA; and Verreth, JA. 2008. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 275(1), 152-162.
- Tucker, CS; D'Abramo, LR. 2008. Managing high pH in freshwater ponds. Southern Regional Aquaculture Center. No 4604.
- Verástegui, A; Vega, E; Lazo, O. 2001. Balance de amonio y oxígeno en un sistema de recirculación para acuicultura experimental. *Anales Científicos*. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). 152p.

- Vernier International (Ciencias con lo mejor de Vernier). Oxígeno Disuelto. (en línea). 12p. Consultado el 05 de mayo de 2015. Disponible en: http://www.vernier.com/files/sample_labs/CMV-41-oxigeno_disuelto.pdf
- Wang, GY; Yang, J; Ma, F; Chen, L; Li, WG; Guo, J. 2009. Ammonia conversion characteristics in a closed recirculating aquaculture system. In *Bioinformatics and Biomedical Engineering. 3rd International Conference on* (1-4p.). IEEE.
- Wang, Y; Weili, Z; Li, Z; Wu, W; Zhang, Z. 2013. Sustainable nitrification in fluidised bed reactor with immobilised sludge pellets. (en línea). *Water SA*, 39(2), 285-294.
- Watson, CA; Hill, JE. 2006. Design criteria for recirculating, marine ornamental production systems. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 157-162.
- Wheaton, F. 2002. Recirculating aquaculture systems: an overview of waste management. In *Proceedings of the 4th International Conference on Recirculating Aquaculture*, Roanoke, VA, US. 02-11 p.
- Wright, JP. 2011. pH Control in Recirculating Aquaculture Systems for Pāua (*Haliotis iris*). Tesis MSc. en Blg. Marina. Victoria University of Wellington, Nueva Zelanda. 143 p.
- Wurts, WA; Durborow, RM. 1992. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center. Stoneville, Mississippi: N° 464 (1-4p).

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Oxígeno Disuelto aproximado disponible en el sistema.

- **Concentración promedio de OD en la entrada de cada tanques:**

6.71 mg.L⁻¹ (valor obtenido de las concentraciones promedio en las tres series de muestreos horarios en la entrada de los tanques de cultivo)

- **Caudales de funcionamiento en los tanques de cultivo:**

$$C_1 = 0.322 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1} \text{ y } C_2 = 0.347 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$$

- **OD promedio disponible por día en el sistema:**

$$C_1 * (6.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ o } \text{g} \cdot \text{m}^{-3}) = 0.052 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1} \times 8 \text{ (por el número de tanques de cultivo)}$$
$$= \mathbf{0.416 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1}}$$

$$C_2 * (6.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ o } \text{g} \cdot \text{m}^{-3}) = 0.056 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1} \times 8 = \mathbf{0.448 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1}}$$

- **Demando promedio de OD en el sistema:**

$$0.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ o } \text{g} \cdot \text{m}^{-3} \times 8 \text{ (por el número de tanques de cultivo)} = 2.24 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$$

$$C_1 * 2.24 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} = 0.017 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1} \times 1.5 \text{ (Wheaton (2002))} = \mathbf{0.026 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1}}$$

$$C_2 * 2.24 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} = 0.019 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1} \times 1.5 = \mathbf{0.029 \text{ KgO}_2 \cdot \text{dia}^{-1}}$$

El oxígeno disuelto promedio disponible en el sistema se calculó multiplicando los caudales de manejo con la concentración promedio encontrada en la entrada de los tanques de cultivo. El valor 0.28 mg.L⁻¹ o g.m⁻³ es la demanda promedio de oxígeno disuelto por tanque durante el experimento (diferencia entre el promedio de las concentraciones de entrada y salida de los tanques de cultivo en las tres series de muestreo), es por eso que se multiplica por 8 (que es el número de tanques de cultivo utilizados en el experimento) para encontrar la demanda promedio de los 8 tanques (2.24 g.m⁻³). Finalmente, para encontrar la demanda promedio de oxígeno disuelto por día en el sistema, se multiplicó el caudal de agua (0.322 y 0.347 m³.h⁻¹) por la demanda promedio de los 8 tanques (2.24 g.m⁻³) y por 1.5 coeficiente utilizado por Wheaton

(2002) para cubrir la demanda de oxígeno total en el sistema, encontrándose $0.0255 \text{ KgO}_2.\text{dia}^{-1}$ y $0.0285 \text{ KgO}_2.\text{dia}^{-1}$ como los valores promedio para expresar la demanda para los diferentes caudales utilizados en el experimento.

Anexo 2: Distribución semanal de la concentración de oxígeno en cada una de las estaciones de muestreo.

SEMANA 1 (4 de julio)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 23°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	5,66	5,72	5,71	5,70	84,27
St1	5,61	5,48	5,15	5,41	80,08
Et4	5,71	5,49	5,42	5,54	81,95
St4	5,37	5,17	5,03	5,19	76,78
Ss	5,43	5,16	5,12	5,24	77,47
Sb	5,56	5,29	5,25	5,37	79,39

SEMANA 2 (11 de julio)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 23°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	5,81	6,77	6,88	6,49	95,96
St1	5,52	6,58	6,35	6,15	90,98
Et4	5,82	6,74	6,55	6,37	94,23
St4	5,4	6,6	6,15	6,05	89,50
Ss	5,54	6,54	6,23	6,10	90,29
Sb	5,59	6,56	6,34	6,16	91,17

SEMANA 3(18 de julio)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 22°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	7,02	7,08	7,02	7,04	102,18
St1	6,81	6,70	6,46	6,66	96,61
Et4	6,99	6,84	6,86	6,90	100,10
St4	6,73	6,70	6,50	6,64	96,42
Ss	6,64	6,63	6,43	6,57	95,31
Sb	6,70	6,65	6,58	6,64	96,42

SEMANA 4 (25 de julio)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 23°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	6,69	6,7	6,81	6,73	99,61
St1	6,33	6,34	6,26	6,31	93,34
Et4	6,59	6,64	6,55	6,59	97,53
St4	6,19	6,19	6,12	6,17	91,22
Ss	6,29	6,23	6,18	6,23	92,21
Sb	6,37	6,3	6,25	6,31	93,29

SEMANA 5 (01 de agosto)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 22°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	6,73	7,05	6,89	6,89	100,00
St1	6,52	6,72	6,66	6,63	96,27
Et4	6,61	6,85	6,84	6,77	98,21
St4	6,4	6,5	6,58	6,49	94,24
Ss	6,46	6,59	6,55	6,53	94,82
Sb	6,52	6,65	6,64	6,60	95,84

SEMANA 6 (08 de agosto)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 22°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	7,45	7,25	7,35	7,35	106,68
St1	7,2	7,19	7,1	7,16	103,97
Et4	7,32	7,22	7,16	7,23	104,98
St4	7,09	7,07	6,96	7,04	102,18
Ss	7,09	7,04	6,95	7,03	101,98
Sb	7,09	7,05	6,99	7,04	102,23

SEMANA 7 (15 de agosto)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 22°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	6,97	6,95	7,02	6,98	101,31
St1	6,88	6,77	6,81	6,82	98,98
Et4	6,97	6,84	6,96	6,92	100,48
St4	6,8	6,8	6,84	6,81	98,89
Ss	6,76	6,72	6,78	6,75	98,02
Sb	6,8	6,45	6,66	6,64	96,32

SEMANA 8 (22 de agosto)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 22°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	7,04	7	7,2	7,08	102,76
St1	6,8	6,88	7,11	6,93	100,58
Et4	7,01	6,98	7,18	7,06	102,42
St4	6,7	6,85	7,14	6,90	100,10
Ss	6,77	7,04	6,9	6,90	100,19
Sb	6,74	7,05	6,8	6,86	99,61

SEMANA 9 (29 de agosto)				Promedio Día	% Saturación a 35 ppt y 244 msnm
T = 22°	Oxígeno (mg/l)				
	8:00	12:00	16:00		
Et1	7,35	7,19	7,2	7,25	105,18
St1	7,17	6,92	7,04	7,04	102,23
Et4	7,25	7,1	7,21	7,19	104,31
St4	6,99	7,08	7,05	7,04	102,18
Ss	6,98	6,94	7,05	6,99	101,45
Sb	7,03	6,85	7,06	6,98	101,31

Anexo 3: Variación horaria de las concentraciones y los porcentajes de saturación de oxígeno en las tres series de muestreos.

SERIE DE MUESTREOS I						
Horas	OD Et1	OD St1	OD Et4	OD St4	OD Ss	OD Sb
8:00	5,45	5,24	5,51	5,18	5,18	5,25
10:00	5,78	5,59	5,48	5,33	5,32	5,37
12:00	5,78	5,63	5,54	5,45	5,35	5,42
14:00	5,53	5,47	5,49	5,35	5,40	5,48
16:00	5,77	5,56	5,62	5,42	5,48	5,56
18:00	6,02	5,47	5,80	5,31	5,46	5,56
20:00	6,16	5,50	5,87	5,44	5,46	5,65
22:00	6,11	5,48	5,92	5,48	5,34	5,61
0:00	6,27	5,65	5,93	5,63	5,63	5,69
2:00	6,13	5,70	5,96	5,63	5,52	5,73
4:00	6,37	5,74	5,94	5,67	5,68	5,78
6:00	6,16	5,68	6,05	5,75	5,71	5,82
8:00	5,45	5,24	5,51	5,18	5,18	5,25
SERIE DE MUESTREOS II						
Horas	OD Et1	OD St1	OD Et4	OD St4	OD Ss	OD Sb
8:00	7,09	6,89	6,98	6,84	6,77	6,81
10:00	7,31	7,04	7,18	7,01	6,93	7,05
12:00	7,35	7,27	7,24	7,1	7,06	7,1
14:00	7,26	7,02	7,18	6,95	6,99	7,02
16:00	7,3	7,05	7,2	6,94	6,92	6,99
18:00	7,49	6,95	7,26	7	6,94	7,01
20:00	7,24	6,9	7,17	6,89	6,81	6,97
22:00	7,38	6,98	7,31	7,01	6,85	6,99
0:00	7,51	7,07	7,22	7,02	6,92	7,03
2:00	7,41	7,09	7,26	7,07	6,92	6,97
4:00	7,36	7,13	7,22	7,03	7,03	7,05
6:00	7,34	7,2	7,22	7,07	7,03	7,09
8:00	7,09	6,89	6,98	6,84	6,77	6,81
SERIE DE MUESTREOS III						
Horas	OD Et1	OD St1	OD Et4	OD St4	OD Ss	OD Sb
8:00	7,33	7,08	7,02	6,95	6,98	7,05
10:00	7,01	6,59	6,97	6,89	6,87	6,91
12:00	6,87	6,8	6,84	6,7	6,83	6,97
14:00	6,86	6,84	6,86	6,76	6,68	6,62
16:00	6,85	6,57	6,67	6,47	6,5	6,6
18:00	6,84	6,54	6,83	6,46	6,53	6,6
20:00	6,98	6,59	6,95	6,62	6,65	6,71
22:00	7,07	6,7	7,04	6,74	6,67	6,75
0:00	7,29	6,9	7,1	6,83	6,7	6,83
2:00	7,36	6,89	7,11	6,77	6,73	6,88
4:00	7,24	6,93	7,15	6,87	6,81	6,91
6:00	7,31	6,93	7,16	6,84	6,9	6,98
8:00	7,33	7,08	7,02	6,95	6,98	7,05

Horas	OD Et1	OD St1	OD Et4	OD St4	OD Ss	OD Sb
8:00	80,62	77,51	81,51	76,63	76,63	77,66
10:00	85,50	82,69	81,07	78,85	78,70	79,44
12:00	85,50	83,28	81,95	80,62	79,14	80,18
14:00	81,80	80,92	81,21	79,14	79,88	81,07
16:00	85,36	82,25	83,14	80,18	81,07	82,25
18:00	89,05	80,92	85,80	78,55	80,77	82,25
20:00	91,12	81,36	86,83	80,47	80,77	83,58
22:00	90,38	81,07	87,57	81,07	78,99	82,99
0:00	92,75	83,58	87,72	83,28	83,28	84,17
2:00	90,68	84,32	88,17	83,28	81,66	84,76
4:00	94,23	84,91	87,87	83,88	84,02	85,50
6:00	91,12	84,02	89,50	85,06	84,47	86,09
8:00	80,62	77,51	81,51	76,63	76,63	77,66
Promedio	87,60	81,87	84,91	80,59	80,46	82,12
Horas	OD Et1	OD St1	OD Et4	OD St4	OD Ss	OD Sb
8:00	100,85	98,01	99,29	97,30	96,30	96,87
10:00	103,98	100,14	102,13	99,72	98,58	100,28
12:00	104,55	103,41	102,99	101,00	100,43	101,00
14:00	103,27	99,86	102,13	98,86	99,43	99,86
16:00	103,84	100,28	102,42	98,72	98,44	99,43
18:00	106,54	98,86	103,27	99,57	98,72	99,72
20:00	102,99	98,15	101,99	98,01	96,87	99,15
22:00	104,98	99,29	103,98	99,72	97,44	99,43
0:00	106,83	100,57	102,70	99,86	98,44	100,00
2:00	105,41	100,85	103,27	100,57	98,44	99,15
4:00	104,69	101,42	102,70	100,00	100,00	100,28
6:00	104,41	102,42	102,70	100,57	100,00	100,85
8:00	100,85	98,01	99,29	97,30	96,30	96,87
Promedio	104,09	100,10	102,22	99,32	98,41	99,45
Horas	OD Et1	OD St1	OD Et4	OD St4	OD Ss	OD Sb
8:00	108,43	104,73	103,85	102,81	103,25	104,29
10:00	103,70	97,49	103,11	101,92	101,63	102,22
12:00	101,63	100,59	101,18	99,11	101,04	103,11
14:00	101,48	101,18	101,48	100,00	98,82	97,93
16:00	101,33	97,19	98,67	95,71	96,15	97,63
18:00	101,18	96,75	101,04	95,56	96,60	97,63
20:00	103,25	97,49	102,81	97,93	98,37	99,26
22:00	104,59	99,11	104,14	99,70	98,67	99,85
0:00	107,84	102,07	105,03	101,04	99,11	101,04
2:00	108,88	101,92	105,18	100,15	99,56	101,78
4:00	107,10	102,51	105,77	101,63	100,74	102,22
6:00	108,14	102,51	105,92	101,18	102,07	103,25
8:00	108,43	104,73	103,85	102,81	103,25	104,29
Promedio	105,08	100,64	103,23	99,97	99,94	101,12

Anexo 4: Variación de las concentración de NAT y NH₃-N en las diferentes series de muestreo.

SERIE DE MUESTREOS 1						
Horas	NAT Et1	NAT St 1	NAT Et 4	NAT St 4	NAT Ss	NAT SB
8:00	0,033	0,035	0,027	0,045	0,036	0,026
10:00	0,001	0,015	0,005	0,018	0,039	0,027
12:00	0,022	0,036	0,005	0,019	0,028	0,020
14:00	0,023	0,038	0,038	0,039	0,039	0,035
16:00	0,032	0,038	0,031	0,034	0,039	0,032
18:00	0,025	0,027	0,021	0,035	0,043	0,030
20:00	0,021	0,022	0,021	0,024	0,034	0,029
22:00	0,021	0,025	0,022	0,022	0,035	0,030
0:00	0,038	0,061	0,034	0,049	0,047	0,031
2:00	0,018	0,033	0,029	0,034	0,032	0,028
4:00	0,046	0,053	0,031	0,059	0,042	0,037
6:00	0,023	0,041	0,033	0,037	0,058	0,051
8:00	0,033	0,035	0,027	0,045	0,036	0,029
SERIE DE MUESTREOS 2						
Horas	NAT Et 1	NAT St 1	NAT Et 4	NAT St 4	NAT Ss	NAT SB
8:00	0,081	0,106	0,106	0,117	0,125	0,100
10:00	0,070	0,079	0,060	0,100	0,108	0,070
12:00	0,076	0,085	0,032	0,038	0,020	0,009
14:00	0,040	0,045	0,030	0,120	0,034	0,010
16:00	0,022	0,040	0,027	0,038	0,047	0,030
18:00	0,034	0,034	0,067	0,068	0,061	0,045
20:00	0,027	0,076	0,035	0,073	0,081	0,055
22:00	0,063	0,110	0,030	0,050	0,081	0,076
0:00	0,040	0,053	0,030	0,050	0,063	0,050
2:00	0,041	0,053	0,040	0,060	0,068	0,043
4:00	0,043	0,056	0,030	0,060	0,040	0,020
6:00	0,080	0,090	0,063	0,113	0,129	0,110
8:00	0,081	0,106	0,106	0,117	0,125	0,100
SERIE DE MUESTREOS 3						
Horas	NAT Et 1	NAT St 1	NAT Et 4	NAT St 4	NAT Ss	NAT SB
8:00	0,023	0,055	0,041	0,055	0,078	0,032
10:00	0,035	0,043	0,032	0,058	0,070	0,041
12:00	0,009	0,023	0,017	0,038	0,058	0,032
14:00	0,026	0,052	0,038	0,058	0,081	0,029
16:00	0,017	0,032	0,003	0,038	0,061	0,023
18:00	0,003	0,017	0,020	0,041	0,058	0,014
20:00	0,029	0,052	0,023	0,075	0,081	0,020
22:00	0,023	0,072	0,046	0,067	0,072	0,023
0:00	0,238	0,287	0,206	0,267	0,270	0,205
2:00	0,035	0,217	0,026	0,130	0,162	0,049
4:00	0,026	0,096	0,052	0,128	0,116	0,035
6:00	0,041	0,075	0,023	0,049	0,075	0,029
8:00	0,023	0,055	0,041	0,055	0,078	0,032

Cuadro 10: Variación horaria de NH₃-N, serie de muestreos I.

Horas	NH ₃ -N Et1	NH ₃ -N St1	NH ₃ -N Et4	NH ₃ -N St4	NH ₃ -N Ss	NH ₃ -N Sb
8:00	0,00053	0,00055	0,00043	0,00072	0,00057	0,00041
10:00	0,00002	0,00025	0,00008	0,00029	0,00061	0,00043
12:00	0,00035	0,00057	0,00008	0,00030	0,00045	0,00032
14:00	0,00036	0,00061	0,00060	0,00062	0,00062	0,00056
16:00	0,00051	0,00060	0,00049	0,00054	0,00062	0,00051
18:00	0,00039	0,00042	0,00034	0,00055	0,00069	0,00048
20:00	0,00034	0,00035	0,00034	0,00039	0,00054	0,00046
22:00	0,00033	0,00040	0,00035	0,00035	0,00056	0,00048
0:00	0,00060	0,00097	0,00054	0,00078	0,00075	0,00049
2:00	0,00028	0,00053	0,00047	0,00054	0,00052	0,00044
4:00	0,00074	0,00084	0,00050	0,00094	0,00067	0,00059
6:00	0,00036	0,00065	0,00053	0,00059	0,00093	0,00081
8:00	0,00053	0,00055	0,00043	0,00072	0,00057	0,00046
Promedio	0,0004	0,0006	0,0004	0,0006	0,0006	0,0005

Cuadro 11: Variación horaria de NH₃-N, serie de muestreos II.

Horas	NH ₃ -N Et1	NH ₃ -N St1	NH ₃ -N Et4	NH ₃ -N St4	NH ₃ -N Ss	NH ₃ -N Sb
8:00	0,00097	0,00126	0,00126	0,00139	0,00148	0,00119
10:00	0,00084	0,00094	0,00071	0,00119	0,00129	0,00083
12:00	0,00090	0,00101	0,00039	0,00045	0,00024	0,00011
14:00	0,00047	0,00054	0,00036	0,00143	0,00041	0,00012
16:00	0,00026	0,00047	0,00032	0,00045	0,00056	0,00036
18:00	0,00041	0,00041	0,00079	0,00081	0,00073	0,00054
20:00	0,00032	0,00091	0,00041	0,00087	0,00097	0,00065
22:00	0,00075	0,00131	0,00036	0,00059	0,00097	0,00091
0:00	0,00047	0,00063	0,00036	0,00059	0,00075	0,00059
2:00	0,00049	0,00063	0,00048	0,00071	0,00081	0,00051
4:00	0,00051	0,00067	0,00036	0,00071	0,00047	0,00024
6:00	0,00095	0,00107	0,00075	0,00135	0,00154	0,00131
8:00	0,00097	0,00126	0,00126	0,00139	0,00148	0,00119
Promedio	0,0006	0,0009	0,0006	0,0009	0,0009	0,0007

Cuadro 12: Variación horaria de NH₃-N, serie de muestreos III.

Horas	NH ₃ -N Et1	NH ₃ -N St1	NH ₃ -N Et4	NH ₃ -N St4	NH ₃ -N Ss	NH ₃ -N Sb
8:00	0,0003	0,0006	0,0005	0,0006	0,0009	0,0004
10:00	0,0004	0,0005	0,0004	0,0007	0,0008	0,0005
12:00	0,0001	0,0003	0,0002	0,0004	0,0007	0,0004
14:00	0,0003	0,0006	0,0004	0,0007	0,0010	0,0003
16:00	0,0002	0,0004	0,0000	0,0004	0,0007	0,0003
18:00	0,0000	0,0002	0,0002	0,0005	0,0007	0,0002
20:00	0,0003	0,0006	0,0003	0,0009	0,0010	0,0002
22:00	0,0003	0,0008	0,0005	0,0008	0,0008	0,0003
0:00	0,0028	0,0034	0,0024	0,0031	0,0032	0,0024
2:00	0,0004	0,0025	0,0003	0,0015	0,0019	0,0006
4:00	0,0003	0,0011	0,0006	0,0015	0,0014	0,0004
6:00	0,0005	0,0009	0,0003	0,0006	0,0009	0,0003
8:00	0,0003	0,0006	0,0005	0,0006	0,0009	0,0004
Promedio	0,0005	0,0010	0,0005	0,0010	0,0011	0,0005

Anexo 5: Variación horaria de la temperatura en grados centígrados durante las tres series de muestreos.

	Serie I	Serie II	Serie III
Horas	TEMP (C°)	TEMP (C°)	TEMP (C°)
8:00	22	21	21,5
10:00	23	21	22
12:00	23	21	22
14:00	23	21	22,5
16:00	23	21	22
18:00	23	21	22
20:00	23	21	22
22:00	23	20,5	22
0:00	23	20,5	22
2:00	22	20,5	22
4:00	22	20,5	21,5
6:00	22	20,5	21,5
8:00	22	21	21,5

Anexo 6: Análisis estadísticos

A continuación, se muestra el desarrollo de algunos de los test estadísticos hechos en el desarrollo del análisis de la variación horaria del OD y NAT, en las diferentes series de muestreos. Por la cantidad de análisis solo se expone una muestra de ellos, el formato que se muestra es el que programa R configura por defecto.

ANÁLISIS DE LA DINÁMICA DEL OXÍGENO

Lectura del tanque Et1_St1 en la serie de muestreos 1

```
setwd("C:/Archivos tesis últimos/Tesis/Análisis de datos TESIS")
oxigeno <- read.table("Tanque Et1_St1 periodo1_oxigeno.txt",header=TRUE, skip=4)
oxigeno
```

```
## O2_Et1 O2_St1
## 1 5.45 5.24
## 2 5.78 5.59
## 3 5.78 5.63
## 4 5.53 5.47
## 5 5.77 5.56
## 6 6.02 5.47
## 7 6.16 5.50
## 8 6.11 5.48
## 9 6.27 5.65
## 10 6.13 5.70
## 11 6.37 5.74
## 12 6.16 5.68
## 13 5.45 5.24
```

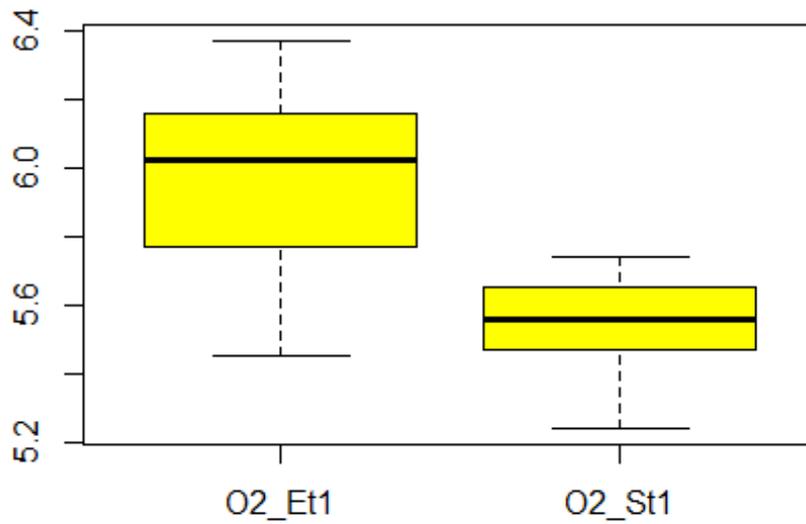
Estadísticas

```
summary(oxígeno)
```

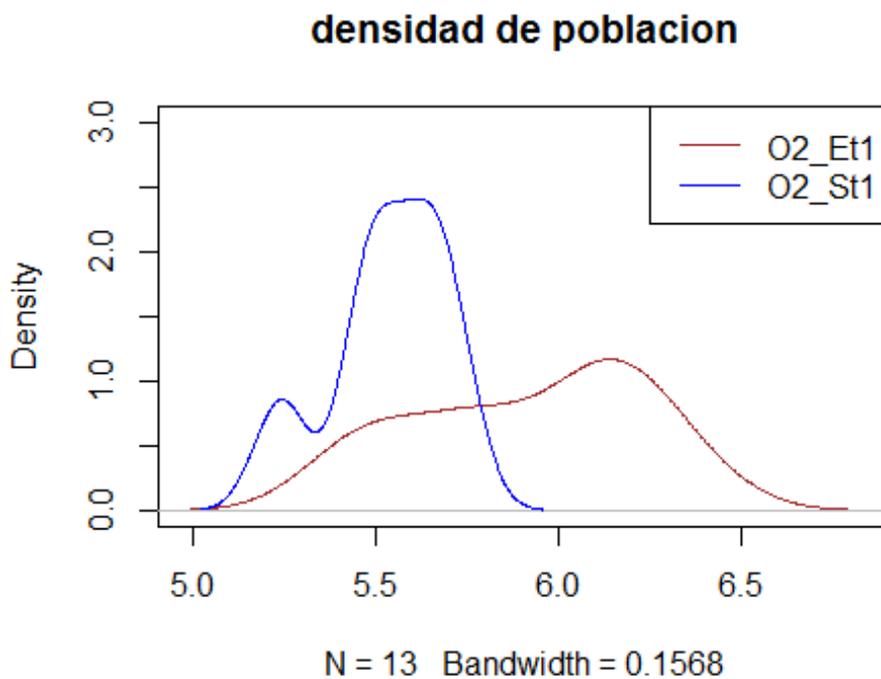
```
## O2_Et1 O2_St1
## Min. :5.450 Min. :5.240
## 1st Qu.:5.770 1st Qu.:5.470
## Median :6.020 Median :5.560
## Mean :5.922 Mean :5.535
## 3rd Qu.:6.160 3rd Qu.:5.650
## Max. :6.370 Max. :5.740
```

```
attach(oxígeno)
```

```
boxplot(O2_Et1, O2_St1,col="yellow", names= names(oxígeno) )
```



```
plot(density(O2_Et1),col="brown",ylim=c(0,3),main="densidad de poblaci3n")
lines(density(O2_St1),col="blue")
legend("topright",names(oxigeno),lty=1,col=c("brown","blue"))
```



```
detach(oxigeno)
```

Análisis

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{O2_{St1}} \geq \mu_{O2_{Et1}}$$

$$H_1: \mu_{O2_{St1}} < \mu_{O2_{Et1}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Homogenidad de variancia

$$H_0: \sigma_{O2_{St1}}^2 = \sigma_{O2_{Et1}}^2$$

$$H_1: \sigma_{O2_{St1}}^2 \neq \sigma_{O2_{Et1}}^2$$

$$\alpha = 0.10$$

```
attach(oxígeno)
```

```
var.test(O2_St1,O2_Et1)
```

```
##
```

```
## F test to compare two variances
```

```
##
```

```
## data: O2_St1 and O2_Et1
```

```
## F = 0.2554, num df = 12, denom df = 12, p-value = 0.02538
```

```
## alternative hypothesis: true ratio of variances is not equal to 1
```

```
## 95 percent confidence interval:
```

```
## 0.07793738 0.83708990
```

```
## sample estimates:
```

```
## ratio of variances
```

```
## 0.2554224
```

```
detach(oxígeno)
```

Según el p.value = 0.9069, aceptamos la hipótesis nula; por lo tanto hay homogeneidad de variancia.

Prueba de normalidad de las poblaciones

Prueba de Shapiro

```
attach(oxígeno)
```

```
shapiro.test(O2_St1)
```

```
##
```

```
## Shapiro-Wilk normality test
```

```
##  
## data: O2_St1  
## W = 0.9052, p-value = 0.1575
```

```
shapiro.test(O2_Et1)
```

```
##  
## Shapiro-Wilk normality test  
##  
## data: O2_Et1  
## W = 0.9128, p-value = 0.2004
```

```
detach(oxígeno)
```

Comparación de la población de oxígeno en la entrada y salida.

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{O2_{St1}} \geq \mu_{O2_{Et1}}$$

$$H_1: \mu_{O2_{St1}} < \mu_{O2_{Et1}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Prueba estadística paramétrica: t-student

```
library(agricolae)  
attach(oxígeno)  
t.test(O2_St1,O2_Et1,alterO2ive="less", var.equal=TRUE)
```

```
##  
## Two Sample t-test  
##  
## data: O2_St1 and O2_Et1  
## t = -3.9605, df = 24, p-value = 0.0005821  
## alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0  
## 95 percent confidence interval:  
## -0.5885543 -0.1852919  
## sample estimates:  
## mean of x mean of y  
## 5.534615 5.921538
```

```
wilcox.test(O2_St1,O2_Et1,alternative="less")
```

```
## Warning in wilcox.test.default(O2_St1, O2_Et1, alternative = "less"):  
## cannot compute exact p-value with ties
```

```
##  
## Wilcoxon rank sum test with continuity correction  
##  
## data: O2_St1 and O2_Et1
```

```

## W = 29, p-value = 0.002379
## alternative hypothesis: true location shift is less than 0

O2<- c(O2_St1,O2_Et1)
trt<- c(rep("O2_St1",13),rep("O2_Et1",13))
compara<-Median.test(O2,trt)

##
## The Median Test for O2 ~ trt
##
## Chi-square = 7.538462  DF = 1  P.value 0.006039559
## Median = 5.665
##
##           Median  Chisq  pvalue sig
## O2_Et1 and O2_St1  5.665 7.538462 0.006039559 **

compara

## $statistics
##   Chisq  p.chisq Median
## 7.538462 0.006039559 5.665
##
## $parameters
##  Df ntr
##   1  2
##
## $Medians
##   trt Median grather lessEqual
## 1 O2_Et1 6.02   10   3
## 2 O2_St1 5.56   3   10
##
## $comparison
##           Median  Chisq  pvalue sig
## O2_Et1 and O2_St1  5.665 7.538462 0.006039559 **
##
## $data
##   y trt
## 1 5.24 O2_St1
## 2 5.59 O2_St1
## 3 5.63 O2_St1
## 4 5.47 O2_St1
## 5 5.56 O2_St1
## 6 5.47 O2_St1
## 7 5.50 O2_St1
## 8 5.48 O2_St1
## 9 5.65 O2_St1
## 10 5.70 O2_St1
## 11 5.74 O2_St1
## 12 5.68 O2_St1
## 13 5.24 O2_St1
## 14 5.45 O2_Et1

```

```
## 15 5.78 O2_Et1
## 16 5.78 O2_Et1
## 17 5.53 O2_Et1
## 18 5.77 O2_Et1
## 19 6.02 O2_Et1
## 20 6.16 O2_Et1
## 21 6.11 O2_Et1
## 22 6.27 O2_Et1
## 23 6.13 O2_Et1
## 24 6.37 O2_Et1
## 25 6.16 O2_Et1
## 26 5.45 O2_Et1
```

detach(oxigeno)

Lectura del tanque Ss_Sb en la serie de muestreos 1

```
setwd("C:/Archivos tesis últimos/Tesis/Análisis de datos TESIS")
oxigeno <- read.table("Tanque Ss_Sb periodo1_oxigeno.txt",header=TRUE, skip=4)
oxigeno
```

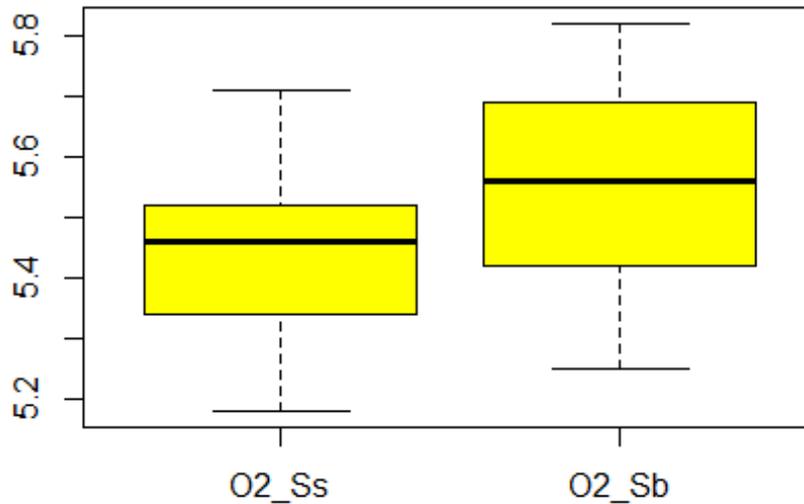
```
##  O2_Ss O2_Sb
## 1  5.18 5.25
## 2  5.32 5.37
## 3  5.35 5.42
## 4  5.40 5.48
## 5  5.48 5.56
## 6  5.46 5.56
## 7  5.46 5.65
## 8  5.34 5.61
## 9  5.63 5.69
## 10 5.52 5.73
## 11 5.68 5.78
## 12 5.71 5.82
## 13 5.18 5.25
```

Estadísticas

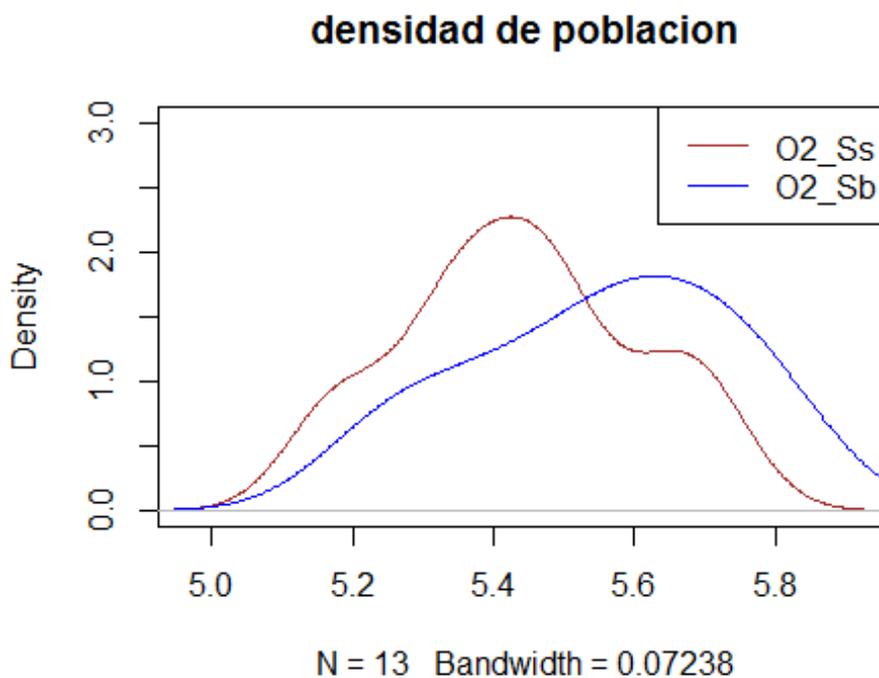
summary(oxígeno)

```
##  O2_Ss      O2_Sb
## Min.   :5.180  Min.   :5.250
## 1st Qu.:5.340  1st Qu.:5.420
## Median :5.460  Median :5.560
## Mean   :5.439  Mean   :5.552
## 3rd Qu.:5.520  3rd Qu.:5.690
## Max.   :5.710  Max.   :5.820
```

```
attach(oxígeno)
boxplot(O2_Ss, O2_Sb,col="yellow", names= names(oxígeno) )
```



```
plot(density(O2_Ss),col="brown",ylim=c(0,3),main="densidad de poblacion")
lines(density(O2_Sb),col="blue")
legend("topright",names(oxígeno),lty=1,col=c("brown","blue"))
```



detach(oxigeno)

Análisis

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{O2_{Sb}} \geq \mu_{O2_{Ss}}$$

$$H_1: \mu_{O2_{Sb}} < \mu_{O2_{Ss}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Homogenidad de variancia

$$H_0: \sigma_{O2_{Sb}}^2 = \sigma_{O2_{Ss}}^2$$

$$H_1: \sigma_{O2_{Sb}}^2 \neq \sigma_{O2_{Ss}}^2$$

$$\alpha = 0.10$$

attach(oxigeno)

var.test(O2_Sb,O2_Ss)

```
##  
## F test to compare two variances  
##  
## data: O2_Sb and O2_Ss  
## F = 1.2352, num df = 12, denom df = 12, p-value = 0.7203  
## alternative hypothesis: true ratio of variances is not equal to 1  
## 95 percent confidence interval:  
## 0.3769029 4.0481430  
## sample estimates:  
## ratio of variances  
## 1.235215
```

detach(oxigeno)

Según el p.value = 0.9069, aceptamos la hipótesis nula; por lo tanto hay homogeneidad de variancia.

Prueba de normalidad de las poblaciones

Prueba de Shapiro

attach(oxigeno)

shapiro.test(O2_Sb)

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: O2_Sb
## W = 0.95, p-value = 0.598
```

```
shapiro.test(O2_Ss)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: O2_Ss
## W = 0.9535, p-value = 0.6517
```

```
detach(oxigeno)
```

Comparación de la población de oxígeno en la entrada y salida.

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{O2_{Sb}} \geq \mu_{O2_{Ss}}$$

$$H_1: \mu_{O2_{Sb}} < \mu_{O2_{Ss}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Prueba estadística paramétrica: t-student

```
library(agricolae)
attach(oxigeno)
t.test(O2_Sb,O2_Ss,alterO2ive="less", var.equal=TRUE)
```

```
##
## Two Sample t-test
##
## data: O2_Sb and O2_Ss
## t = 1.5981, df = 24, p-value = 0.1231
## alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
## -0.0327369 0.2573523
## sample estimates:
## mean of x mean of y
## 5.551538 5.439231
```

```
wilcox.test(O2_Sb,O2_Ss,alternative="less")
```

```
## Warning in wilcox.test.default(O2_Sb, O2_Ss, alternative = "less"): cannot
## compute exact p-value with ties
```

```
##
## Wilcoxon rank sum test with continuity correction
```

```

##
## data: O2_Sb and O2_Ss
## W = 115.5, p-value = 0.947
## alternative hypothesis: true location shift is less than 0

O2<- c(O2_Sb,O2_Ss)
trt<- c(rep("O2_Sb",13),rep("O2_Ss",13))
compara<-Median.test(O2,trt)

##
## The Median Test for O2 ~ trt
##
## Chi-square = 2.47619  DF = 1  P.value 0.1155819
## Median = 5.48
##
##           Median  Chisq  pvalue sig
## O2_Sb and O2_Ss  5.48 2.47619 0.1155819

compara

## $statistics
##   Chisq  p.chisq Median
## 2.47619 0.1155819  5.48
##
## $parameters
##  Df ntr
##   1  2
##
## $Medians
##   trt Median grather lessEqual
## 1 O2_Sb  5.56    8    5
## 2 O2_Ss  5.46    4    9
##
## $comparison
##           Median  Chisq  pvalue sig
## O2_Sb and O2_Ss  5.48 2.47619 0.1155819
##
## $data
##   y trt
## 1 5.25 O2_Sb
## 2 5.37 O2_Sb
## 3 5.42 O2_Sb
## 4 5.48 O2_Sb
## 5 5.56 O2_Sb
## 6 5.56 O2_Sb
## 7 5.65 O2_Sb
## 8 5.61 O2_Sb
## 9 5.69 O2_Sb
## 10 5.73 O2_Sb
## 11 5.78 O2_Sb
## 12 5.82 O2_Sb

```

```
## 13 5.25 O2_Sb
## 14 5.18 O2_Ss
## 15 5.32 O2_Ss
## 16 5.35 O2_Ss
## 17 5.40 O2_Ss
## 18 5.48 O2_Ss
## 19 5.46 O2_Ss
## 20 5.46 O2_Ss
## 21 5.34 O2_Ss
## 22 5.63 O2_Ss
## 23 5.52 O2_Ss
## 24 5.68 O2_Ss
## 25 5.71 O2_Ss
## 26 5.18 O2_Ss
```

detach(oxigeno)

ANÁLISIS DE LA DINÁMICA DEL AMONIO

Lectura del tanque 1 (Et1 y St1) en el periodo 1

```
setwd("C:/Archivos tesis últimos/Tesis/Análisis de datos TESIS")
amonio <- read.table("Tanque 1 periodo 1.txt",header=TRUE, skip=4)
amonio
```

```
##  NAT_Et1 NAT_St1
## 1  0.033  0.035
## 2  0.001  0.015
## 3  0.022  0.036
## 4  0.023  0.038
## 5  0.032  0.038
## 6  0.025  0.027
## 7  0.021  0.022
## 8  0.021  0.025
## 9  0.038  0.061
## 10 0.018  0.033
## 11 0.046  0.053
## 12 0.023  0.041
## 13 0.033  0.035
```

Estadísticas

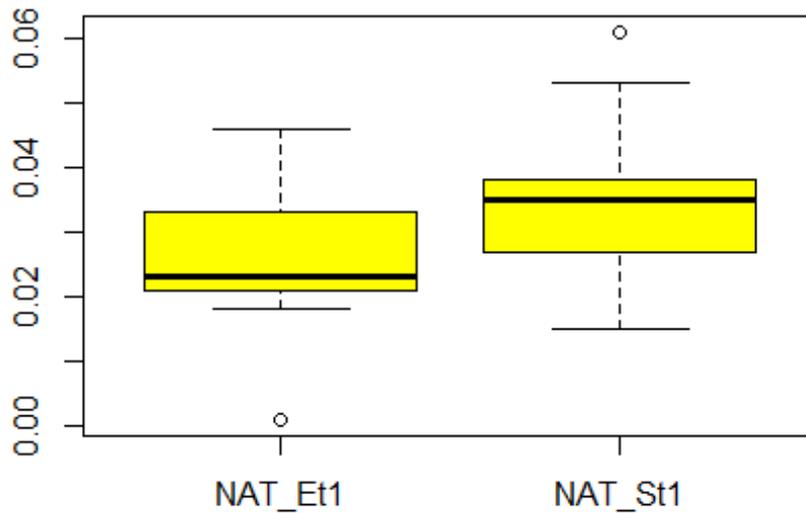
```
summary(amonio)
```

```
##  NAT_Et1      NAT_St1
## Min.   :0.00100 Min.   :0.01500
## 1st Qu.:0.02100 1st Qu.:0.02700
## Median :0.02300 Median :0.03500
```

```
## Mean :0.02585 Mean :0.03531
## 3rd Qu.:0.03300 3rd Qu.:0.03800
## Max. :0.04600 Max. :0.06100
```

```
attach(amonio)
```

```
boxplot(NAT_Et1, NAT_St1,col="yellow", names= names(amonio) )
```

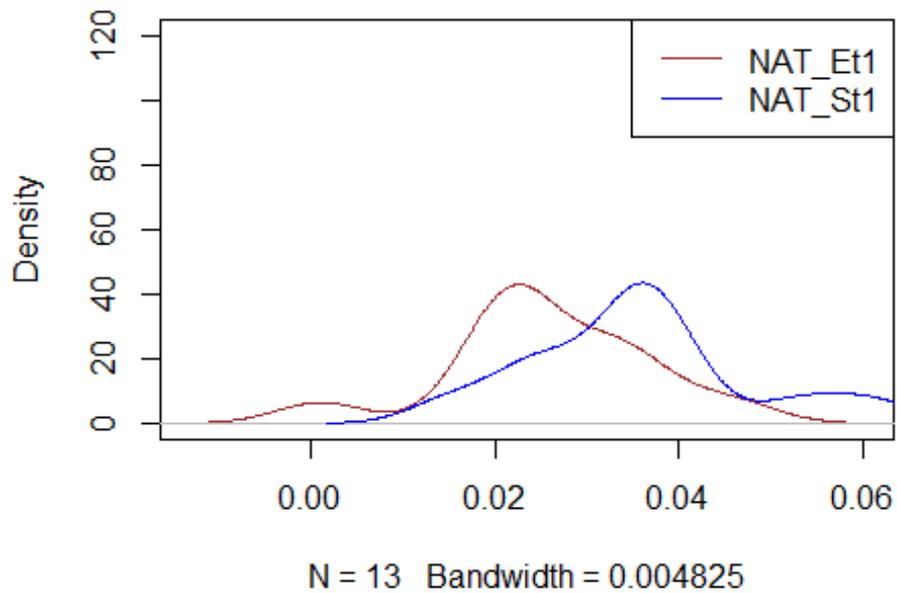


```
plot(density(NAT_Et1),col="brown",ylim=c(0,120),main="densidad de población")
```

```
lines(density(NAT_St1),col="blue")
```

```
legend("topright",names(amonio),lty=1,col=c("brown","blue"))
```

densidad de poblacion



`detach(amonio)`

Análisis

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{NAT_{St1}} \geq \mu_{NAT_{Et1}}$$

$$H_1: \mu_{NAT_{St1}} < \mu_{NAT_{Et1}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Homogeneidad de variancia

$$H_0: \sigma_{NAT_{St1}}^2 = \sigma_{NAT_{Et1}}^2$$

$$H_1: \sigma_{NAT_{St1}}^2 \neq \sigma_{NAT_{Et1}}^2$$

$$\alpha = 0.10$$

`attach(amonio)`

`var.test(NAT_St1,NAT_Et1)`

##

F test to compare two variances

```
##
## data: NAT_St1 and NAT_Et1
## F = 1.2336, num df = 12, denom df = 12, p-value = 0.722
## alternative hypothesis: true ratio of variances is not equal to 1
## 95 percent confidence interval:
## 0.376402 4.042762
## sample estimates:
## ratio of variances
##      1.233574
```

detach(amonio)

Según el p.value = 0.722, aceptamos la hipótesis nula; por lo tanto hay homogeneidad de variancia.

Prueba de normalidad de las poblaciones

Prueba de Shapiro

attach(amonio)

shapiro.test(NAT_St1)

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: NAT_St1
## W = 0.9524, p-value = 0.6345
```

shapiro.test(NAT_Et1)

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: NAT_Et1
## W = 0.9387, p-value = 0.44
```

detach(amonio)

Comparación de la población de amonio en la entrada y salida.

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{NAT_{St1}} \geq \mu_{NAT_{Et1}}$$

$$H_1: \mu_{NAT_{St1}} < \mu_{NAT_{Et1}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Prueba estadística paramétrica: t-Student

```

library(agricolae)
attach(amonio)
t.test(NAT_St1,NAT_Et1,alternative="less", var.equal=TRUE)

##
## Two Sample t-test
##
## data: NAT_St1 and NAT_Et1
## t = 2.0753, df = 24, p-value = 0.9756
## alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
## 95 percent confidence interval:
##    -Inf 0.01726155
## sample estimates:
## mean of x mean of y
## 0.03530769 0.02584615

wilcox.test(NAT_St1,NAT_Et1,alternative="less")

## Warning in wilcox.test.default(NAT_St1, NAT_Et1, alternative = "less"):
## cannot compute exact p-value with ties

##
## Wilcoxon rank sum test with continuity correction
##
## data: NAT_St1 and NAT_Et1
## W = 125, p-value = 0.9825
## alternative hypothesis: true location shift is less than 0

NAT<- c(NAT_St1,NAT_Et1)
trt<- c(rep("NAT_St1",13),rep("NAT_Et1",13))
compara<-Median.test(NAT,trt)

##
## The Median Test for NAT ~ trt
##
## Chi-square = 3.846154  DF = 1  P.value 0.0498602
## Median = 0.0325
##
##           Median  Chisq  pvalue sig
## NAT_Et1 and NAT_St1 0.0325 3.846154 0.0498602  *

compara

## $statistics
##   Chisq p.chisq Median
## 3.846154 0.0498602 0.0325
##
## $parameters
##   Df ntr
##   1  2
##
## $Medians
##   trt Median grather lessEqual

```

```

## 1 NAT_Et1 0.023 4 9
## 2 NAT_St1 0.035 9 4
##
## $comparison
##           Median  Chisq  pvalue sig
## NAT_Et1 and NAT_St1 0.0325 3.846154 0.0498602 *
##
## $data
##   y  trt
## 1 0.035 NAT_St1
## 2 0.015 NAT_St1
## 3 0.036 NAT_St1
## 4 0.038 NAT_St1
## 5 0.038 NAT_St1
## 6 0.027 NAT_St1
## 7 0.022 NAT_St1
## 8 0.025 NAT_St1
## 9 0.061 NAT_St1
## 10 0.033 NAT_St1
## 11 0.053 NAT_St1
## 12 0.041 NAT_St1
## 13 0.035 NAT_St1
## 14 0.033 NAT_Et1
## 15 0.001 NAT_Et1
## 16 0.022 NAT_Et1
## 17 0.023 NAT_Et1
## 18 0.032 NAT_Et1
## 19 0.025 NAT_Et1
## 20 0.021 NAT_Et1
## 21 0.021 NAT_Et1
## 22 0.038 NAT_Et1
## 23 0.018 NAT_Et1
## 24 0.046 NAT_Et1
## 25 0.023 NAT_Et1
## 26 0.033 NAT_Et1

```

detach(amonio)

Lectura del tanque Ss_Sb en el periodo 1

```

setwd("C:/Archivos tesis ultimos/Tesis/Analisis de datos TESIS")
amonio <- read.table("Tanque Ss_Sb_perodo 1.txt",header=TRUE, skip=4)
amonio

```

```

##   NAT_Ss NAT_SB
## 1  0.036 0.026
## 2  0.039 0.027
## 3  0.028 0.020
## 4  0.039 0.035

```

```
## 5  0.039  0.032
## 6  0.043  0.030
## 7  0.034  0.029
## 8  0.035  0.030
## 9  0.047  0.031
## 10 0.032  0.028
## 11 0.042  0.037
## 12 0.058  0.051
## 13 0.036  0.029
```

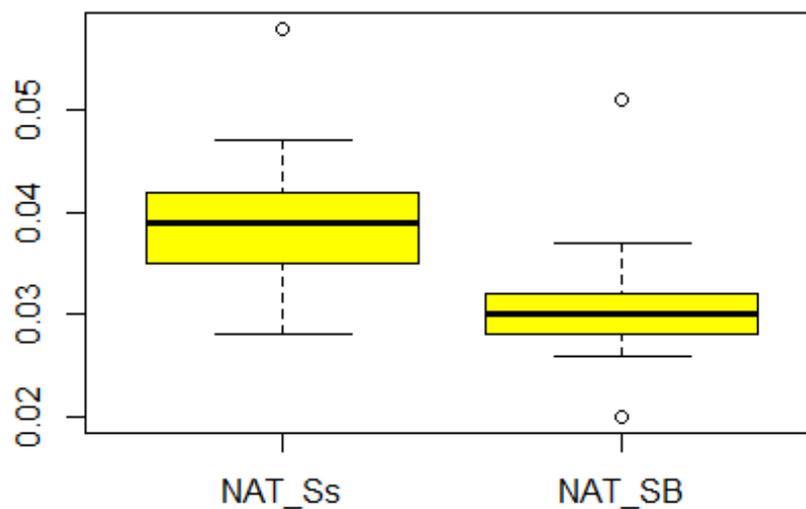
estadísticas

```
summary(amonio)
```

```
##      NAT_Ss      NAT_SB
## Min.   :0.02800  Min.   :0.02000
## 1st Qu.:0.03500  1st Qu.:0.02800
## Median :0.03900  Median :0.03000
## Mean   :0.03908  Mean   :0.03115
## 3rd Qu.:0.04200  3rd Qu.:0.03200
## Max.   :0.05800  Max.   :0.05100
```

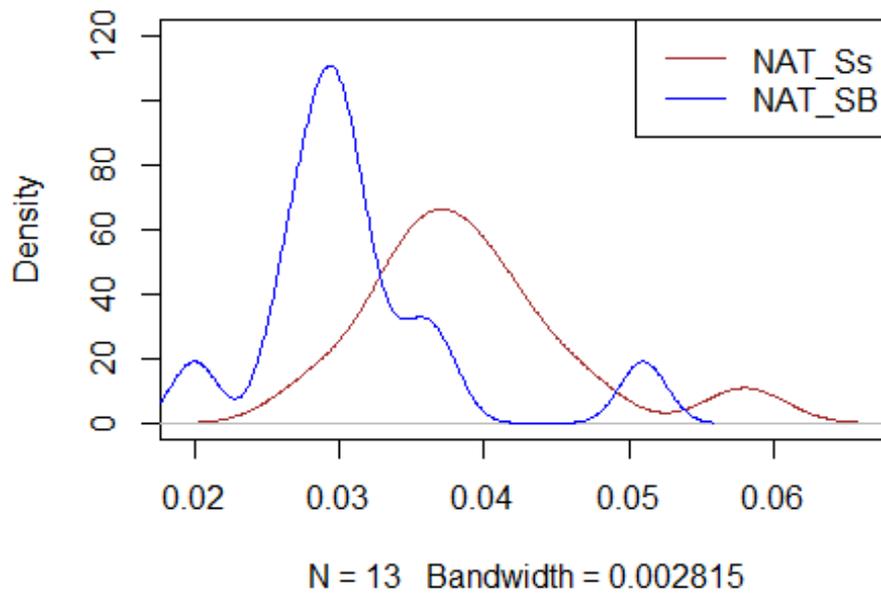
```
attach(amonio)
```

```
boxplot(NAT_Ss, NAT_SB,col="yellow", names= names(amonio) )
```



```
plot(density(NAT_Ss),col="brown",ylim=c(0,120),main="densidad de poblacion")
lines(density(NAT_SB),col="blue")
legend("topright",names(amonio),lty=1,col=c("brown","blue"))
```

densidad de poblacion



```
detach(amonio)
```

Análisis

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{NAT_{SB}} \geq \mu_{NAT_{Ss}}$$

$$H_1: \mu_{NAT_{SB}} < \mu_{NAT_{Ss}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Homogeneidad de variancia

$$H_0: \sigma_{NAT_{SB}}^2 = \sigma_{NAT_{Ss}}^2$$

$$H_1: \sigma_{NAT_{SB}}^2 \neq \sigma_{NAT_{Ss}}^2$$

$$\alpha = 0.10$$

```
attach(amonio)
```

```
var.test(NAT_SB,NAT_Ss)
```

```
##
```

```
## F test to compare two variances
```

```
##
```

```
## data: NAT_SB and NAT_Ss
## F = 0.9334, num df = 12, denom df = 12, p-value = 0.9069
## alternative hypothesis: true ratio of variances is not equal to 1
## 95 percent confidence interval:
## 0.2848031 3.0589405
## sample estimates:
## ratio of variances
## 0.9333787
```

```
detach(amonio)
```

Según el p.value = 0.9069, aceptamos la hipótesis nula; por lo tanto hay homogeneidad de variancia.

Prueba de normalidad de las poblaciones

Prueba de Shapiro

```
attach(amonio)
shapiro.test(NAT_SB)

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: NAT_SB
## W = 0.846, p-value = 0.02529

shapiro.test(NAT_Ss)

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: NAT_Ss
## W = 0.9147, p-value = 0.2127

detach(amonio)
```

Comparación de la población de amonio en la entrada y salida.

Hipótesis:

$$H_0: \mu_{NAT_{SB}} \geq \mu_{NAT_{Ss}}$$

$$H_1: \mu_{NAT_{SB}} < \mu_{NAT_{Ss}}$$

$$\alpha = 0.01$$

Prueba estadística paramétrica: t-Ssudent

```

library(agricolae)
attach(amonio)
t.test(NAT_SB,NAT_Ss,alternative="less", var.equal=TRUE)

##
## Two Sample t-test
##
## data: NAT_SB and NAT_Ss
## t = -2.7314, df = 24, p-value = 0.005818
## alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
## 95 percent confidence interval:
##      -Inf -0.00296028
## sample estimates:
## mean of x mean of y
## 0.03115385 0.03907692

wilcox.test(NAT_SB,NAT_Ss,alternative="less")

## Warning in wilcox.test.default(NAT_SB, NAT_Ss, alternative = "less"
## ):
## cannot compute exact p-value with ties

##
## Wilcoxon rank sum test with continuity correction
##
## data: NAT_SB and NAT_Ss
## W = 28.5, p-value = 0.002179
## alternative hypothesis: true location shift is less than 0

NAT<- c(NAT_SB,NAT_Ss)
trt<- c(rep("NAT_SB",13),rep("NAT_Ss",13))
compara<-Median.test(NAT,trt)

##
## The Median Test for NAT ~ trt
##
## Chi-square = 7.538462 DF = 1 P.value 0.006039559
## Median = 0.0345
##
##           Median    Chisq    pvalue sig
## NAT_SB and NAT_Ss 0.0345 7.538462 0.006039559 **

compara

## $statistics
##      Chisq    p.chisq Median
## 7.538462 0.006039559 0.0345
##
## $parameters
##   Df ntr
##   1  2
##
## $Medians
##      trt Median grather lessEqual
## 1 NAT_SB 0.030      3      10
## 2 NAT_Ss 0.039     10      3

```

```
##
## $comparison
##           Median    Chisq    pvalue sig
## NAT_SB and NAT_Ss 0.0345 7.538462 0.006039559 **
##
## $data
##      y    trt
## 1 0.026 NAT_SB
## 2 0.027 NAT_SB
## 3 0.020 NAT_SB
## 4 0.035 NAT_SB
## 5 0.032 NAT_SB
## 6 0.030 NAT_SB
## 7 0.029 NAT_SB
## 8 0.030 NAT_SB
## 9 0.031 NAT_SB
## 10 0.028 NAT_SB
## 11 0.037 NAT_SB
## 12 0.051 NAT_SB
## 13 0.029 NAT_SB
## 14 0.036 NAT_Ss
## 15 0.039 NAT_Ss
## 16 0.028 NAT_Ss
## 17 0.039 NAT_Ss
## 18 0.039 NAT_Ss
## 19 0.043 NAT_Ss
## 20 0.034 NAT_Ss
## 21 0.035 NAT_Ss
## 22 0.047 NAT_Ss
## 23 0.032 NAT_Ss
## 24 0.042 NAT_Ss
## 25 0.058 NAT_Ss
## 26 0.036 NAT_Ss

detach(amonio)
```