

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**



**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN BIOFILTRO A BASE DE UN  
CONSORCIO BACTERIANO PARA DEGRADAR FOSFATOS Y AMONIACO EN  
AGUAS RESIDUALES DE LA ACUICULTURA**

**PLAN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO/A  
EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTOR/A:**

ANANGONÓ MENDEZ ALEX ESTEVAN  
LLOACANA BONILLA EDISON XAVIER

**DIRECTOR:**

ING. CARLA SANDOVAL, MSc.

**Ibarra – Ecuador  
2022**

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN  
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES  
ESCUELA DE INGENIERÍA EN  
BIOTECNOLOGÍA

## “EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN BIOFILTRO A BASE DE UN CONSORCIO BACTERIANO PARA DEGRADAR FOSFATOS Y AMONIACO EN AGUAS RESIDUALES DE LA ACUICULTURA”

Trabajo de grado revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación como  
requisito parcial para obtener Título de:

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

APROBADO:

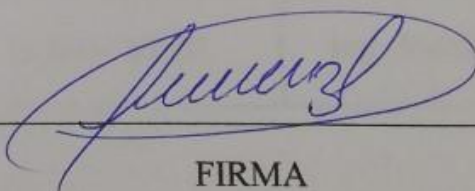
ING. CARLA SANDOVAL, MSc.

**DIRECTOR**

  
FIRMA

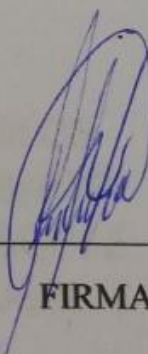
ING. SANTIAGO ZARATE, MSc.

**MIEMBRO TRIBUNAL**

  
FIRMA

BIOL. SANIA ORTEGA, MSc

**MIEMBRO TRIBUNAL**

  
FIRMA



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**BIBLIOTECA UNIVERSITARIA**

**AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN**  
**A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA**

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

<b>DATOS DE CONTACTO</b>			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	100364123-8		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	ANANGONÓ MÉNDEZ ALEX ESTEVAN		
<b>DIRECCIÓN:</b>	IMBABURA-IBARRA-AZAYA		
<b>EMAIL:</b>	<a href="mailto:aeanangonom@utn.edu.ec">aeanangonom@utn.edu.ec</a>		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>	----	<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0988621376

<b>DATOS DE CONTACTO</b>			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	172233441-2		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	LLOACANA BONILLA EDISON XAVIER		
<b>DIRECCIÓN:</b>	PICHINCHA-QUITO-GUAMANI		
<b>EMAIL:</b>	<a href="mailto:exlloacanab@utn.edu.ec">exlloacanab@utn.edu.ec</a>		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>	023006312	<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0987054854

<b>DATOS DE LA OBRA</b>	
<b>TÍTULO:</b>	EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN BIOFILTRO A BASE DE UN CONSORCIO BACTERIANO PARA DEGRADAR FOSFATOS Y AMONIACO EN AGUAS RESIDUALES DE LA ACUICULTURA.
<b>AUTOR (ES):</b>	ANANGONÓ MÉNDEZ ALEX ESTEVAN LLOACANA BONILLA EDISON XAVIER
<b>FECHA: DD/MM/AAAA</b>	19/09/2022
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>PREGRADO</b> <input type="checkbox"/> <b>POSGRADO</b>
<b>TITULO POR EL QUE OPTA:</b>	INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA
<b>ASESOR /DIRECTOR:</b>	ING. CARLA SANDOVAL, MSc.

### 3. CONSTANCIAS

El (Los) autor (es) manifiestan que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrollo, sin los derechos de autores terceros, por lo tanto, la obra es original y es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 19 días del mes de septiembre del 2022

### LOS AUTORES



.....  
**ANAGONÓ MENDEZ ALEX ESTEVAN**  
C.I.: 100364123-8



.....  
**LLOACANA BONILLA EDISON NAVIER**  
C.I.: 1722334412

## PRESENTACIÓN

Yo, ANANGONÓ MÉNDEZ ALEX ESTEVAN como autor(a) de la Tesis Titulada **“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN BIOFILTRO A BASE DE UN CONSORCIO BACTERIANO PARA DEGRADAR FOSFATOS Y AMONIACO EN AGUAS RESIDUALES DE LA ACUICULTURA”**, me hago responsable de los resultados, discusión, conclusiones y demás parte de la investigación; y pongo este documento como fuente de apoyo para consultas dirigidas a todos los estudiantes.

Yo, LLOACANA BONILLA EDISON XAVIER como autor(a) de la Tesis Titulada **“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN BIOFILTRO A BASE DE UN CONSORCIO BACTERIANO PARA DEGRADAR FOSFATOS Y AMONIACO EN AGUAS RESIDUALES DE LA ACUICULTURA”**, me hago responsable de los resultados, discusión, conclusiones y demás parte de la investigación; y pongo este documento como fuente de apoyo para consultas dirigidas a todos los estudiantes.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, agradecemos a la Universidad Técnica del Norte por habernos permitido formar parte de ella y conocer el mundo científico a través de la Biotecnología. Agradecemos a nuestra asesora Ing. Carla Sandoval MSc. y asesores por habernos brindado la oportunidad de realizar este proyecto de tesis y la paciencia mostrada a lo largo del proceso de desarrollo.

Agradecemos profundamente a la Familia Suárez Méndez por abrirnos las puertas de su hogar para el desarrollo de la investigación y por el apoyo constante e incondicional, especialmente al Sr Cristobino Méndez y Sra. por habernos abierto las puertas de su hogar para hospedarnos durante la investigación y de manera general a la comunidad El Rosal por su amabilidad para con nosotros.

Al laboratorio de Biotecnología Aplicada, Vegetal y Laboratorio de Investigaciones Ambientales (LABINAM) de la Universidad Técnica del Norte por permitirnos culminar con éxito la etapa de identificación bacteriana.

## DEDICATORIA

Desde que tengo uso de razón, he pasado por eventos buenos y malos; sin embargo, a lo largo de mi vida hubo gente que se quedó a mi lado, aceptaron mis fallos y decidieron apoyarme; ahora que he de finalizar esta parte de mi vida estudiantil, debo entregar al mundo esa poca fe y enseñanzas que ellos me entregaron, por tales motivos dedico mis esfuerzos:

- En primer lugar, dedico este logro a mis padres Manuel Lloacana y Olga Bonilla, gracias a sus esfuerzos diarios pude sobrevivir para forjar un futuro más grande, me transmitieron sus esfuerzos, sus enseñanzas y lo más importante su amor, gracias a todo lo recordado supe que la perseverancia ante la situación es la llave para cualquier cosa que desee hacer.
- A mis hermanos Daniel y Eric Lloacana, gracias a su forma de ver la vida comprendí que nunca estamos solos, la familia siempre está allí, en los hábitos y en las acciones que tomemos, si la vida a veces te detiene siempre debo recordar que si tengo un saludo, apoyo y el cariño fraterno es más que suficiente para saber que aún no está perdido nada.
- A mis amigos, gracias a sus risas, buenos deseos y ayuda desde que estamos en el colegio, supe que hay otras maneras de manejarse en la vida, que una familia puede ser también alguien que abre su corazón y que podemos ser genios de otras maneras.
- A una mujer que me enseñó que podemos separar el amor y el profesionalismo, que doblegó mi espíritu y me mostró la luz y la oscuridad de este mundo y a pesar de que una persona puede perderlo casi todo, nosotros tenemos la voluntad de decidir si nos caemos o nos levantamos, siempre que tengamos a las personas adecuadas a nuestro lado.
- A algunos docentes, que desarrollaron mi potencial y me ayudaron a aprender cosas más allá de los libros, para así entregar conocimiento que permita a la sociedad cuidar a los animales y la naturaleza.
- Finalmente, a pesar de haber estudiado en un área donde la evidencia refuta cualquier opinión o creencia, sabemos que existen eventos que están fuera de nuestra comprensión, por eso agradezco al ente, fuerza, ser o milagro que nos cuida y protege llamado Dios, gracias a sus cuidados pude mantenerme saludable, con su sabiduría y piedad no me aparto de las personas que dan significado a mi vida y me permiten seguir adelante.

*“Acepta las cosas que no puedes cambiar, ten el valor de cambiar las cosas que puedes y ten la sabiduría para conocer la diferencia”* Nora Allen - Flash Point



A Dios quien ha sido mi guía en este camino siempre. Esta tesis fue producto de un gran esfuerzo por parte de la mujer que me trajo al mundo; por lo que este trabajo es dedicado especialmente a mi madre Gloria Méndez que con su tenacidad supo motivarme cada día para alcanzar este objetivo. Además, agradezco a toda mi familia quienes me apoyaron y enseñaron a no desfallecer y enfrentar los obstáculos con firmeza a lo largo de la carrera.

Este trabajo también es dedicado a quien me acompañó en las buenas y en las malas a lo largo de este proceso académico al amor de mi vida Lucero Quispe que a través de su apoyo y amor incondicional me impulsó a seguir adelante, superarme a mí mismo, ser cada día un mejor estudiante y a no rendirme ante las adversidades.

*“El único modo de hacer un gran trabajo es amar lo que haces” -Steve Jobs*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTO.....</b>	<b>vii</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO.....</b>	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>xv</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS.....</b>	<b>xvi</b>
<b>NOMENCLATURA.....</b>	<b>xvii</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>xix</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xx</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>21</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>21</b>
1.1 Antecedentes.....	21
1.2 Planteamiento del problema.....	22
1.3 Justificación.....	26
1.4 Pregunta directriz.....	26
1.5 Objetivos.....	27
1.5.1 Objetivo general.....	27
1.5.2 Objetivos específicos.....	27
1.6 Hipótesis.....	27
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>28</b>
<b>2 MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>28</b>
2.1 Acuicultura.....	28
2.1.1 Aspectos Generales.....	28
2.2 Acuicultura en el Ecuador.....	30
2.3 Aguas residuales de la acuicultura.....	30
2.3.1 Parámetros fisicoquímicos.....	31
2.3.1.1 pH y oxígeno disuelto.....	31
2.3.1.2 Grupo amonio.....	31
2.3.1.3 Nitratos y nitritos.....	31
2.3.1.4 Componentes fosforados.....	31

2.4	Parámetros biológicos.....	32
2.5	Microorganismos presentes en el agua residual.....	33
2.5.1	Aplicación de bacterias en la biorremediación de aguas residuales.....	33
2.5.1.1	Bacterias oxidantes de amonio.....	34
2.5.1.2	Bacterias solubilizadoras de fósforo.....	34
2.5.1.3	Consortios bacterianos.....	35
2.6	Procesos biológicos de tratamientos de aguas residuales.....	36
2.6.1	Aplicación del proceso según el componente a eliminar.....	36
2.6.2	Aplicación del proceso por el potencial de oxido-reducción.....	36
2.6.3	Función del proceso por la disposición de la biomasa en el reactor.....	37
2.7	Biorremediación de aguas residuales.....	38
2.7.1	Concepto básico.....	38
2.7.2	Técnicas de biorremediación de aguas residuales.....	38
2.7.2.1	Técnicas de biorremediación in situ.....	38
2.7.2.2	Técnicas de biorremediación ex situ.....	39
2.7.3	Sistemas de biorremediación de aguas residuales.....	40
2.7.3.1	Bioestimulación.....	41
2.7.3.2	Bioaumentación.....	41
2.8	Biofiltros en procesos de biorremediación de aguas residuales.....	41
2.8.1	Definición de biofiltros.....	41
2.8.2	Estructura básica de un biofiltro.....	42
2.8.3	Principales biofiltros en tratamientos de aguas residuales.....	42
2.8.3.1	Membrane biorreactor (MBR).....	42
2.8.3.2	Moving bed biorreactor (MBBR).....	42
2.8.3.3	Moving bed biorreactor (MBBR).....	43
2.9	Aplicaciones prácticas de biofiltros en tratamientos de aguas residuales.....	43
2.10	Hidroponía.....	43
2.10.1	Hidroponía de ciclo abierto.....	44
2.10.2	Hidroponía de ciclo abierto.....	44
	<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>46</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>46</b>
3.1	Descripción del Área de estudio.....	46

3.2 Muestreo.....	46
3.3 Crecimiento de los microorganismos degradadores de nutrientes.....	47
3.3.1 Análisis de parámetros para la simulación de un agua residual bioestimulante.....	47
3.3.2 Diseño del biorreactor para los microorganismos degradadores.....	49
3.3.3 Desarrollo del biofilm con bacterias presentes en el agua residual.....	50
3.4 Construcción del sistema de tratamiento.....	51
3.4.1 Parámetros generales del sistema: Variables fijas.....	51
3.4.2 Parámetros generales de diseño del sistema: Variables de cálculo.....	53
3.4.2.1 Tiempo de retención hidráulica HRT.....	53
3.4.2.2 Tiempo de retención de sólidos SRT.....	53
3.4.3 Parámetros de diseño de los sedimentadores: Variables fijas.....	54
3.4.3.1 Tiempo de retención hidráulica HRT.....	54
3.4.3.2 Área superficial.....	55
3.4.3.3 Carga superficial.....	56
3.4.4 Parámetros de diseño del biofiltro: Variables fijas.....	56
3.5 Construcción del sistema hidropónico.....	58
3.6 Identificación de los microorganismos desarrollados en el biofilm.....	58
3.6.1 Identificación morfológica de los microorganismos.....	58
3.6.2 Identificación de microorganismos mediante pruebas bioquímicas.....	59
3.7 Evaluación de la eficiencia de la remoción de nitrógeno.....	59
3.7.1 Producción de biomasa activa.....	59
3.7.2 Producción de sólidos totales.....	61
3.7.3 Requerimiento de oxígeno.....	62
3.7.4 Rendimiento observado.....	62
3.8 Análisis de datos, diseño de las variables de evaluación.....	63
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>65</b>
<b>4 RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>65</b>
4.1 Análisis fisicoquímicos y microbiológico de las aguas residuales piscícolas.....	65
4.2 Desarrollo del sistema de tratamiento de agua residual acuícola con biofiltro.....	67
4.2.1 Análisis de nutrientes para la simulación de un agua residual bioestimulante.....	67
4.2.2 Degradación de nutrientes en el biorreactor con agua residual bioestimulada.....	70
4.2.3 Funcionamiento del sistema de tratamiento de agua residual con sistema de biofiltros.....	73

4.3 Eficiencia del sistema de tratamiento.....	76
4.3.1 Degradación de amonio.....	77
4.3.2 Degradación de nitritos.....	79
4.3.3 Degradación de nitratos.....	80
4.3.4 Degradación del fósforo.....	81
4.3.5 Influencia de la temperatura en la eficiencia del tratamiento.....	82
4.3.6 Influencia de la conductividad eléctrica en la eficiencia del tratamiento.....	83
4.3.7 Influencia del pH en la eficiencia del tratamiento.....	84
4.3.8 Flujo de nutrientes a través del sistema.....	85
4.3.9 Identificación de microorganismos degradadores presentes en el biofiltro.....	89
<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>91</b>
<b>5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>91</b>
5.1 Conclusiones.....	91
5.2 Recomendaciones.....	92
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>113</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mayores productores acuícolas en el mundo 2003-2018 .....	30
<b>Figura 2.</b> Transformación metabólica del alimento ingerido por los peces .....	32
<b>Figura 3.</b> Ranking de países en investigación, inversión y desarrollo de sistemas de tratamiento de aguas residuales.....	40
<b>Figura 4.</b> Comportamiento del OD en el agua con respecto a la temperatura .....	44
<b>Figura 5.</b> Ubicación de la zona donde se desarrolló la investigación .....	46
<b>Figura 6.</b> Principales componentes del biorreactor.....	50
<b>Figura 7.</b> Biorreactor de crecimiento de bacterias degradadoras de $\text{NH}_4$ y $\text{PO}_4$ .....	51
<b>Figura 8.</b> Principales componentes del sistema de tratamiento .....	58
<b>Figura 9.</b> Sección de datos de alimentación y consumo de nutrientes en el sistema .....	64
<b>Figura 10.</b> Fijación de microorganismos en las biobolas.....	71
<b>Figura 11.</b> Degradación del componente $\text{NO}_2$ en el biorreactor.....	71
<b>Figura 12.</b> Sedimentador 2.....	73
<b>Figura 13.</b> Biofiltros del sistema de tratamiento de agua residual.....	74
<b>Figura 14.</b> Cinética de consumo de $\text{NH}_4/\text{NH}_3$ en las diferentes operaciones unitarias mediante pruebas colorimétricas .....	78
<b>Figura 15.</b> Cinética de consumo de $\text{NO}_2$ en las diferentes operaciones unitarias mediante pruebas colorimétricas.....	79
<b>Figura 16.</b> Cinética de consumo de $\text{NO}_3$ en las diferentes operaciones unitarias mediante pruebas colorimétricas.....	80
<b>Figura 17.</b> Análisis de la temperatura en los biofiltros mediante un equipo multiparamétrico ...	82
<b>Figura 18.</b> Análisis de la conductividad eléctrica en los biofiltros mediante un equipo multiparamétrico.....	83
<b>Figura 19.</b> Análisis del pH en los biofiltros mediante un pH metro portátil.....	84
<b>Figura 20.</b> Balance del nitrógeno en: A) Biofiltro 1 y B) Biofiltro 2 .....	85

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Especies que cumplen con las características fundamentales para ser “especies acuícolas” .....	28
<b>Tabla 2</b> Rol específico de microorganismos procariotas y eucariotas en un ecosistema acuícola .....	33
<b>Tabla 3</b> Clasificación de los tipos de procesos según el elemento que se quiere eliminar .....	36
<b>Tabla 4</b> Clasificación de los tipos de procesos según el potencial oxido-reducción .....	37
<b>Tabla 5</b> Clasificación de los tipos de procesos según la disposición de la biomasa en el biorreactor .....	37
<b>Tabla 6</b> Técnicas de remediación in situ de aguas residuales .....	39
<b>Tabla 7</b> Parámetros aplicados en el laboratorio para el análisis de las muestras recolectadas ....	47
<b>Tabla 8</b> Principales variables de la piscina de acuicultura para el cálculo de elementos .....	48
<b>Tabla 9</b> Principales variables analizadas de los medios de cultivo para el cálculo de elementos	48
<b>Tabla 10</b> Principales variables analizadas en los fertilizantes para el cálculo de elementos .....	49
<b>Tabla 11</b> Variables fijas de cinética en bacterias nitrificantes .....	52
<b>Tabla 12</b> Variables fijas de diseño del sistema .....	52
<b>Tabla 13</b> Parámetros para el diseño de los sedimentadores .....	54
<b>Tabla 14</b> Parámetros para el diseño de biofiltros 1 y 2.....	56
<b>Tabla 15</b> Tratamientos aplicados para el diseño experimental los biofiltros .....	63
<b>Tabla 16</b> Diseño de las unidades experimentales de cada biofiltro .....	64
<b>Tabla 17</b> Análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las aguas residuales piscícolas de la comunidad El Rosal .....	65
<b>Tabla 18</b> Elementos faltantes en el agua residual piscícola .....	67
<b>Tabla 19</b> Elementos calculados a partir del medio de cultivo diseñado .....	68
<b>Tabla 20</b> Elementos faltantes en el agua residual piscícola .....	68
<b>Tabla 21</b> Análisis comparativo del fertilizante y agua residual de las piscinas de la comunidad El Rosal .....	69
<b>Tabla 22</b> Temperatura registrada durante la investigación en las distintas operaciones unitarias	76
<b>Tabla 23</b> Porcentaje de eficiencia en la remoción de nitrógeno en otras investigaciones .....	86
<b>Tabla 24</b> Desviación estándar de las variables de alimentación y consumo en los biofiltros.....	87
<b>Tabla 25</b> Análisis no paramétrico mediante método Wilcoxon.....	88
<b>Tabla 26</b> Identificación de géneros bacterianos presentes en los biofiltros 1 y 2.....	89

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1</b> Condiciones generales para la recepción de ensayos en el laboratorio.....	113
<b>Anexo 2</b> Elementos del diseño del biorreactor .....	113
<b>Anexo 3</b> Fórmulas geométricas para el cálculo de volumen y área en la construcción del biorreactor .....	113
<b>Anexo 4</b> Fórmulas geométricas para el cálculo de volumen y área en la construcción del sistema hidropónico .....	114
<b>Anexo 5</b> Elementos del diseño del sistema de agua residual.....	114
<b>Anexo 6</b> Materiales para medición de parámetros fisicoquímicos del biorreactor y el sistema de tratamiento de aguas residuales .....	115
<b>Anexo 7</b> Análisis estadístico con ajuste de datos para comprobar normalidad: A)Biofiltro 1; B)Biofiltro 2.....	117
<b>Anexo 8</b> Análisis estadístico con método no paramétrico Wilcoxon: A)Biofiltro 1; B) Biofiltro 2 .....	118
<b>Anexo 9</b> Cepas identificadas en biofiltros con biobolas y tapas de botella.....	119
<b>Anexo 10</b> Cálculos teóricos de parámetros de diseño .....	119
<b>Anexo 11</b> Concentraciones de nitrógeno en la entrada y salida de los biofiltros 1 y 2 .....	120



## NOMENCLATURA

$K_s$	Constante de la velocidad media	mg N/l
$K_d$	Coefficiente de decaimiento	1/h
$\mu$	Tasa específica de crecimiento	1/h
$\mu_m$	Tasa específica de crecimiento máximo	1/h
$Y$	Rendimiento bacterias heterótrofas	mgVSS/mgbSCOD
$V$	Volumen	l
$Q$	Caudal	l/h
$X_{nb,i}$	Fracción no biodegradable	mg
$FS$	Factor de seguridad	Adimensional
$HRT$	Tiempo de retención hidráulica	h
$HRT_{min}$	Tiempo mínimo de retención hidráulica	h
$T$	Tiempo	h
$SRT$	Tiempo de retención de sólidos	h
$S_{min}$	Sustrato mínimo	mg/l
$S$	Sustrato de salida	mg/l
$Q_{in}$	Caudal de entrada	l/h
$Q_{out}$	Caudal de salida	l/h
$V_s$	Velocidad de sedimentación (heces de peces)	cm/s
$V_{sb}$	Velocidad de sedimentación de balanceado	cm/s
$A_s$	Área superficial	cm <sup>2</sup>
$C_s$	Carga superficial	cm/s
$h$	Altura	cm
$R$	Radio	cm
$C$	Circunferencia del recipiente	cm
$R_1$	Radio inferior	cm
$R_2$	Radio superior	cm
$\%N$	Porcentaje de remoción de nitrógeno	
$N_{in}$	Nitrógeno de entrada	mg/l
$N_{out}$	Nitrógeno de salida	mg/l

X	Biomasa producida	mgVSS/mg bsCOD.d
$S_i$	Sustrato de entrada	mg/l
$F_d$	Restos celulares	
VSS	Biomasa activa	MgVSS.l/d
D	Día	1/d
L	Litro	1/l
$Y_{rsu}$	Rendimiento	mgVSS/g bsCOD
$X_t$	Biomasa total producida	
$P_{x,VSS}$	Producción total de sólidos suspendidos volátiles	mgVss
$R_o$	Requerimiento de oxígeno	mg/d
$Y_{obs}$	Rendimiento observado	

## RESUMEN

Los efluentes generados por las actividades acuícolas contienen nutrientes como fosfato ( $\text{PO}_4$ ) y amonio ( $\text{NH}_4$ ), que al acumularse en cuerpos de agua producen eutrofización. Actualmente existen pocas tecnologías como biofiltros, que reducen la contaminación de efluentes. La presente investigación, permitió evaluar la eficiencia de un biofiltro a base de consorcios bacterianos para la degradación de fosfatos y amoníaco en aguas residuales acuícolas en el cantón Mira, parroquia La Concepción, comunidad El Rosal. Se realizó un análisis fisicoquímico y microbiológico de la muestra inicial, los datos se compararon con el fertilizante Yara Tera Kristalón Green para generar una estimulación de las bacterias autóctonas de la piscina. El crecimiento bacteriano se desarrolló en un recipiente donde se colocó 50 L de agua residual junto con 100 g del fertilizante, para la fijación bacteriana, se utilizaron tapas de botella y biobolas. Una vez obtenidas las posibles bacterias degradadoras, se construyó el sistema de tratamiento con recipientes para distribución de agua, sedimentadores y biofiltros en donde se colocaron las bacterias fijadas, se aplicó 25 g de fertilizante en el recipiente de distribución cuando las concentraciones de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4$  se aproximaban a 0mg/L. Se midieron parámetros como amonio/amoníaco ( $\text{NH}_3/\text{NH}_4$ ), nitrito ( $\text{NO}_2$ ), nitrato ( $\text{NO}_3$ ), fosfatos ( $\text{PO}_4$ ), pH, conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), sólidos totales disueltos (TDS) y temperatura ( $^\circ\text{C}$ ) durante los 129 días de investigación, el efluente tratado se empleó en cultivos hidropónicos de lechuga. La identificación microbiana se efectuó por morfología y pruebas bioquímicas (Catalasa, Oxidasa, SIM, Citrato). Las muestras de agua analizadas presentaron concentraciones inferiores a 0,05mg/L y <0,05mg/L de  $\text{NH}_4$ ,  $\text{PO}_4$  la carga bacteriana fue >2000 UFC/ml. Al añadir el fertilizante se generó un desarrollo de biopelículas, la degradación de los compuestos inició el día 39 indicando una actividad metabólica en el biorreactor de crecimiento bacteriano. Finalmente, el sistema presentó una eficiencia de remoción de 98,61% en el  $\text{NH}_3/\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  57,94% y  $\text{NO}_3$  39,06%, no se evidenció una eliminación de  $\text{PO}_4$ . Se identificaron 16 cepas heterótrofas degradadoras pertenecientes a los géneros *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp* y *Flavobacterium spp*. El sistema facilitó la remoción de compuestos nitrogenados y no presentó reducción en los compuestos fosforados.

**Palabras clave:** Biofiltro, aguas residuales, análisis de nutrientes, eutrofización, microorganismos degradadores.

## ABSTRACT

Effluents generated by aquaculture activities contain nutrients such as phosphate (PO<sub>4</sub>) and ammonium (NH<sub>4</sub>), which accumulate in water bodies and cause eutrophication. Currently, there are few technologies such as biofilters that reduce effluent contamination. The present study evaluated the efficiency of a biofilter based on bacterial consortia for the degradation of phosphates and ammonia in aquaculture wastewater in the Mira canton, La Concepción parish, El Rosal community. A physicochemical and microbiological analysis of the initial sample was carried out, and the data were compared with the Yara Tera Kristalon Green fertilizer to generate a stimulation of the native bacteria in the pool. Bacterial growth was developed in a container where 50 L of wastewater was placed together with 100 g of the fertilizer, bottle caps and bioballs were used for bacterial fixation. Once the possible degrading bacteria were obtained, the treatment system was built with containers for water distribution, settling tanks and biofilters where the fixed bacteria were placed. 25 g of fertilizer were applied in the distribution container when the NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> concentrations approached 0mg/L. Parameters such as ammonium/ammonia (NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>), nitrite (NO<sub>2</sub>), nitrate (NO<sub>3</sub>), phosphate (PO<sub>4</sub>), pH, conductivity (μS/cm), total dissolved solids (TDS) and temperature (°C) were measured during the 129 days of investigation; the treated effluent was used in hydroponic lettuce crops. Microbial identification was carried out by morphology and biochemical tests (catalase, oxidase, SIM, citrate). The water samples analyzed presented concentrations lower than 0.05mg/L and <0.05mg/L of NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub> and the bacterial load was >2000 CFU/ml. When the fertilizer was added, biofilm development was generated, the degradation of the compounds began on day 39, indicating metabolic activity in the bacterial growth bioreactor. Finally, the system presented a removal efficiency of 98.61% for NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub> 57.94% and NO<sub>3</sub> 39.06%; there was no evidence of PO<sub>4</sub> removal. Sixteen heterotrophic degrading strains belonging to the genera *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp* and *Flavobacterium spp* were identified. The system facilitated the removal of nitrogenous compounds and showed no reduction in phosphorus compounds.

**Key words:** Biofilter, wastewater, nutrient analysis, eutrophication, degrading microorganisms.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes

Las actividades humanas han afectado a los ecosistemas naturales en el mundo (Lotze et al., 2018). Las consecuencias de estas actividades antropogénicas representan una clara amenaza a los entornos tanto acuáticos como terrestres (Wear, 2019). En relación con los ecosistemas acuáticos, las actividades humanas han generado impactos en los organismos marinos y de agua dulce. Los principales agentes contaminantes han sido los fertilizantes, pesticidas, desechos farmacéuticos y metales pesados, llevando esta contaminación a varios ecosistemas aledaños.

Según Bunting y Edwards, (2018), los contaminantes deberían ser tratados, sin embargo, el 90% de estos son vertidos directamente al recurso hídrico. Debido a estos factores, la ONU propuso entre los objetivos de desarrollo sostenible (ODS) “Garantizar la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y saneamiento para todos” (Parra Cortés, 2018).

Una vez aplicado este objetivo a nivel mundial, el Consejo Nacional de Planificación, (2017) decidió implementar en su agenda, el desarrollo de tecnologías que cuiden las fuentes hídricas. Entre las tecnologías de conservación se da paso a las plantas de tratamiento de aguas residuales con capacidad de reutilización (Bunting & Edwards, 2018). Las plantas de reutilización que se han usado por décadas han sido los sistemas RAS (sistemas de recirculación acuícola), estos se originaron en 1950 en Japón, centrándose en el uso de biofiltros. Luego se trasladaron a Europa y Estados Unidos adaptando tecnologías junto con los organismos acuáticos (Goddek, 2019).

Estas interacciones organismos-tecnología incentivaron a los científicos adaptar procesos cerrados tomando en cuenta el pH, O<sub>2</sub> (Oxígeno), TAN (nitrógeno amoniacal total), NO<sub>2</sub> (nitrito), DBO (demanda bioquímica de oxígeno) y el DQO (demanda química de oxígeno) (Goddek, 2019). Una vez analizado de manera biológica y física, los sistemas RAS se volvieron sistemas de producción acuícola. Sin embargo, al seguir desarrollando dicha tecnología se aumentaron los parámetros volviéndose un sistema costoso (Goddek, 2019).

En el Ecuador, las empresas de producción acuícola han sobreexplotado el recurso hídrico (FAO, 2010) desde 1999, las descargas generadas en dichas industrias han generado que los entornos tanto lénticos como lóticos se afecten (Häder et al., 2020). Esta contaminación se ha producido en mayor parte por la crianza de la tilapia, debido a que esta especie es solicitada en el mercado internacional; con el paso del tiempo se ha extendido a muchos ecosistemas del país (Jácome et al., 2019). Desde el 2013 en la provincia de Carchi, parroquia La Concepción comunidad El Rosal además de criar tilapias, el efluente también se ha empleado en proyectos de riego, generando la falta del líquido vital (GAD Carchi, 2013). A pesar que en el país se han desarrollado leyes que han promovido el cuidado y el uso adecuado del agua, no se ha escuchado de productores que utilicen tecnologías que permitan cuidar y reutilizar el agua como lo son los sistema RAS (SENAGUA, 2016).

Por otro parte, a pesar de que si existen algunas empresas que tratan de cuidar el agua solo han llegado hasta el tratamiento y han dejado casi de lado la reutilización, esto es debido a que solo cumplen las normas básicas estipuladas por el gobierno (SENAGUA, 2016). Actualmente, en el Plan nacional del Buen Vivir han otorgado los permisos para la aplicación de tecnologías similares a los sistemas RAS, debido a que estas operaciones permiten el cuidado, tratamiento y reutilización del agua y pueden ser utilizados por las empresas, pequeños productores o simplemente ser estudiados en instituciones educativas (Consejo Nacional de Planificación, 2017).

## **1.2 Planteamiento del problema**

La acuicultura es el cultivo de organismos acuáticos, incluidos peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas (White et al., 2004), es una industria que se expande cada día. Su expansión es directamente proporcional al crecimiento poblacional viéndose en la necesidad de sobreexplotar las especies junto con el recurso hídrico (Goddek, 2019).

El proceso para la producción de 1 kg de peces varía entre 200 a 600 m<sup>3</sup> de agua, en algunos países dependiendo la cantidad y tipo de especie que se cultiva, el uso del recurso hídrico puede duplicarse; en promedio todas estas producciones pudieron abastecer el consumo de agua de 12 millones de personas (Blancheton et al., 2007). Una de las problemáticas es que para la producción de carne de pescado las empresas aplican sistemas de flujo abierto, aunque el uso de estos sistemas

puede generar grandes cultivos, son operaciones en las cuales no se aplica ni recirculación ni tratamiento del efluente, desechando el recurso hídrico con una elevada concentración de desechos contaminantes (Effendi et al., 2020).

Los desechos en la acuicultura se originan a partir del alimento (balanceado) no consumido por los peces y las heces que estos generan (Effendi et al., 2020), la acumulación de materia orgánica y elevación de los metabolitos generan eutrofización (Hernández Mancipe et al., 2019). Este proceso es el enriquecimiento de nutrientes como P, N, Mg, K, Fe y Ca (González & Quirós, 2011; Saavedra, 2006); además de los nutrientes mencionados, se desarrollan componentes como sulfuro de hidrogeno ( $H_2S$ ) y dióxido de carbono ( $CO_2$ ) (Saavedra, 2006). La presencia de estos elementos y componentes estimula el crecimiento de organismos acuáticos que agotan el  $O_2$  disuelto, cuando el recurso hídrico pierde grandes cantidades de  $O_2$  puede generar pérdida de especies ecológicamente sensibles.

La acumulación de grandes cantidades de nitrógeno forma un triple enlace covalente que no puede ser asimilado (Zehr et al., 2003), la forma química más disponible de nitrógeno en la acuicultura es el  $NH_4$  y  $NH_3$  (X. Liu et al., 2017). El  $NH_4$  se produce debido a la ingesta elevada de proteínas o dietas mal formuladas, la deposición de  $NH_4$  y  $NO_2$  en el ambiente puede ocasionar acidificación, eutrofización y muerte de algunas especies (Bobbink et al., 2012; Pakeman et al., 2016).

Con respecto al fósforo el autor Lazzari et al., (2008) mencionan que del 69 al 86% proviene de la dieta de los peces, la descarga de este elemento no afecta directamente al ecosistema por ser un nutriente limitante (Sugiura, 2018). Effendi et al., (2020), afirma que el fósforo representa un problema cuando se acumula en componentes como  $PO_4$ , la acumulación de este nutriente en entornos lénticos y lóticos produce eutrofización, el medio acuático acumula algas y el recurso deja de ser apto para el consumo humano y animal.

Los componentes  $PO_4$  y  $NH_4$  han sido un problema para los productores piscícolas y derivados de los mismos, la industria y sus trabajadores a futuro tendrán que pagar la remediación del ambiente debido a que utilizan sistemas de flujo abierto. Estos sistemas desechan el recurso hídrico directo a la naturaleza sin reducir los nutrientes (Effendi et al., 2020). Para solucionar estos

problemas, muchas industrias han empezado a usar biofiltros debido a que es un mecanismo que permite el control de nutrientes contaminantes en efluentes (Neori et al., 2004), ejemplo de esto es el aplicar comunidades microbianas en reactores de filtro para eliminar carbono y nitrógeno excedente de aguas residuales (Giustinianovich et al., 2015), además el de aplicar procesos de desnitrificación adaptando a las bacterias a polímeros termoplásticos (Zhu et al., 2015).

El biofiltro es un mecanismo con organismos y/o microorganismos que permiten el tratamiento de aguas residuales que poseen componentes químicos. En otras investigaciones el mecanismo ha logrado el control del DQO (Avnimelech, 2006), también del nitrógeno y salinidad (Zhu et al., 2015) y junto con las microalgas el biofiltro ha permitido específicamente el manejo del  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$  (Kamarudin et al., 2015).

El  $\text{NH}_4$  junto con el  $\text{NH}_3$  se conocen como nitrógeno amoniacal total (TAN), el cual es un compuesto que genera niveles de toxicidad en los animales y plantas generando un desequilibrio en la flora y fauna de los alrededores; de manera natural este compuesto se reduce dependiendo el pH, esta nivelación de pH ambiental se genera dependiendo de la concentración de TAN que pueden absorber por osmorregulación; sin embargo, al superar el rango de toxicidad 50 en los animales (LC50) se genera la muerte en la especie (C. E. Boyd, 2018).

Para una eliminación satisfactoria del  $\text{NH}_4$  en la acuicultura, se han utilizado estos mecanismos llamados “biofiltros”. La desventaja de aplicar esta operación es la sincronización entre un organismo (planta, animal) o microorganismo (bacteria) junto con un método mecánico (filtro), el generar un biofiltro es ejecutar un proceso satisfactorio de limpieza de agua residual mientras los microorganismos se adaptan en un mecanismo, el inconveniente es que si no hay coordinación de los sistemas biológicos (bacterias, plantas o animal) estos no prevalecen en el sistema de tratamiento generando mayor contaminación (Sikora et al., 2020); Para evitar estos problemas, algunas investigaciones han usado los sistemas de limpieza y de manera separada el biofiltro siendo la más destacada el uso de plantas *Eichornia crassipes* para la degradación de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ , sin embargo, el proceso no ha brindado resultados óptimos debido a que la especie posee un rango de toxicidad que al verse comprometido los niveles, la planta perece (Effendi et al., 2020).



En la actualidad, el implementar sistemas de tratamiento con biofiltros es importante por los motivos planteados como son: la reutilización del efluente, el impacto que genera el residuo TAN y  $\text{PO}_4$  en el ambiente y por la sincronización de sistemas biológicos y mecánicos; debido a estos motivos, es pertinente implementar un sistema de tratamiento de aguas residuales que posea un biofiltro a base de consorcios bacterianos. El biofiltro diseñado degradará los nutrientes de mayor toxicidad  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  y  $\text{PO}_4$  a través del metabolismo microbiano, oxidando los componentes tóxicos a formas más asimilables para el ambiente, permitiendo que el efluente sea utilizado en otros procesos.

### **1.3 Justificación**

A medida que la población aumenta, las personas se ven obligadas a sobreexplotar el recurso hídrico especialmente en la acuicultura. La industria piscícola, utiliza grandes cantidades de agua para desarrollar pocos kg de pescado, generando desechos altamente contaminantes. Estos residuos contienen un alto porcentaje de  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  y  $\text{PO}_4$  que son descartados al medio ambiente. El desconocimiento de tecnologías sostenibles obliga a descargar los componentes produciendo eutrofización. Dicho esto, es de gran importancia implementar sistemas que permitan reciclar y reducir el daño que generan dichos compuestos.

El proyecto se justifica desde 4 ámbitos: tecnológico, social, económico y ambiental. De manera tecnológica, los biofiltros utilizan una metodología que degrada los compuestos tóxicos de la acuicultura y los transforman a componentes asimilables. Además, el desarrollo de esta tecnología implica estudios donde el microorganismo debe sincronizarse con procesos mecánicos, permitiendo la reducción de nutrientes que se consideran tóxicos en el agua.

De manera social y económica, el sistema pretende mejorar la calidad del efluente generado en actividades acuícolas, el aprovechamiento del efluente junto con la incorporación de cultivos hidropónicos favorecerá la producción de alimentos de calidad. En el mercado, una producción sostenible con filtros biológicos es costoso y solo se desarrollan para producciones grandes de acuicultura, el proyecto demostrará que se puede desarrollar estos sistemas con materiales comunes.

La justificación ambiental tiene como punto principal la reducción de contaminantes y la reutilización de las fuentes hídricas. Actualmente, el recurso hídrico proveniente de la acuicultura en el sector de la Concepción se utiliza en los cultivos de plantas. No obstante, debido a la falta de tratamientos, el agua conserva componentes tóxicos; el sistema posiblemente reducirá los contaminantes tóxicos, permitiendo usar el agua tratada en la producción agrícola o hidropónica.

### **1.4 Pregunta directriz**

¿Permiten los biofiltros a base de consorcios bacterianos remover fosfatos y amoníaco provenientes de las aguas residuales de la acuicultura?

## **1.5 Objetivos**

### **1.5.1 Objetivo general**

Evaluar la eficiencia de un biofiltro a base de consorcios bacterianos para la degradación de fosfatos y amoníaco en aguas residuales acuícolas en el cantón Mira, parroquia La Concepción, comunidad El Rosal.

### **1.5.2 Objetivos específicos**

- Analizar las características fisicoquímicas y microbiológicas del agua residual de una acuícola en el cantón Mira.
- Poner en marcha un proceso de tratamiento de aguas residuales que incluya la operación de un biofiltro en base a consorcios bacterianos degradadores de nutrientes.
- Identificar los microorganismos degradadores de nutrientes presentes en el biofiltro.
- Verificar la eficiencia del tratamiento en base a la medición de la concentración de fosfatos y amoníaco en la entrada y salida del tratamiento.

## **1.6 Hipótesis**

Los biofiltros a base de consorcios bacterianos permiten la remoción de fosfatos y amoníaco en aguas provenientes de la acuicultura.

## CAPÍTULO II

### 2 MARCO TEÓRICO








#### 2.1 Acuicultura






##### 2.1.1 Aspectos Generales

La acuicultura es el cultivo de especies acuáticas como peces, octópodos, moluscos e incluso plantas acuáticas con atractivo comercial y de relevancia medioambiental (MAGAP, 2015; White et al., 2004). Por otro lado, Tirado, (2015) menciona que la acuicultura representa una alternativa viable para suministro de proteína y las especies descritas en la Tabla 1 cumplen con las características para considerarse “especies acuícolas”.

**Tabla 1**

*Especies que cumplen con las características fundamentales para ser “especies acuícolas”*

Tipos de especies	Nombre científico	Proteína suministrada (%)	Imagen referencia
Carpa común	<i>Cyprinus carpio</i>	18	
Catfish (Bagre)	<i>Ictalurus punctatus</i>	17.6	
Cangrejo azul	<i>Callinectes Sapidus</i>	16.1	
Langosta de agua dulce	<i>Cherax quadricarinatus</i>	18.7	
Anguila	<i>Anguilla anguilla</i>	18	
Langosta	<i>Palinurus elephas</i>	19.6	
Camarón	<i>Penaeus vannamei</i>	20.5	

Camarón de agua dulce	<i>Macrobrachium brasiliense</i>	16.8	
Salmón	<i>Salmo spp.</i>	21.5	
Trucha	<i>Salmo spp.</i>	22	
Atún	<i>T. thynnus Linnaeus</i>	24.3	
Tilapia	<i>Oreochromis sp.</i>	18.9	

*Nota.* Las especies descritas son idóneas para cultivos acuícolas debido a que entregan una gran cantidad de proteína en 100g de peso cumpliendo los requerimientos de necesidad humana. Adaptada de *ACUACULTURA Producción dulce acuícola en el Ecuador I* de Tirado, (2015).

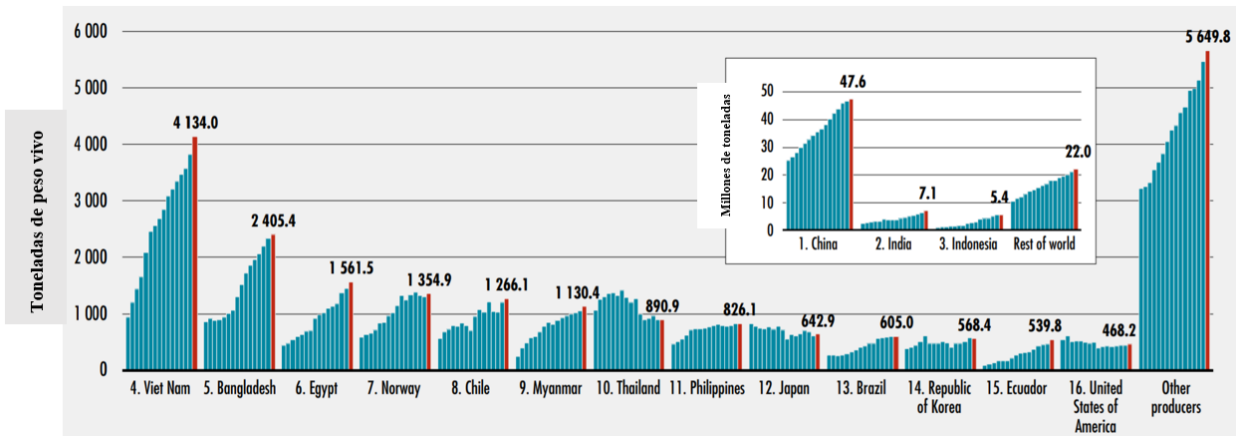
Según la FAO, (2018), la acuicultura ha presentado un crecimiento significativo desde el año 1950 la cual superó en producción a la pesca por captura. Esta actividad garantiza la seguridad alimentaria de las naciones, además de proveer fuentes de empleo. En China esta industria es una fuente de alimentos y la cúspide de productos acuáticos a nivel mundial (P. Wang et al., 2020).

En el caso del recurso hídrico, la industria utiliza hasta 600m<sup>3</sup> para producir 1kg de pescado. La producción ha llegado a 51,42 millones de toneladas en las últimas 4 décadas (Goddek, 2019; P. Wang et al., 2020), para la obtención de dicho tonelaje se emplean sistemas de flujo abierto. El mecanismo no reduce los nutrientes y desechos, descargando todo al ambiente generando eutrofización (Effendi et al., 2020).

En relación con el cambio climático, la acuicultura es una bioeconomía sostenible a comparación de la ganadería. La parte más importante de la acuicultura es que funciona como una fuente de proteínas particularmente saludable. No obstante, el recurso hídrico se ve afectado en grandes cantidades debido a las elevadas concentraciones de nutrientes descargados en sus efluentes (C. Boyd, 2019).

## 2.2 Acuicultura en el Ecuador

En el año 2015, Ecuador se encontró como una de las potencias de Latinoamérica y el Caribe (LAC) con referencia a la acuicultura; solo en el 2008, la producción acuícola de tilapia alcanzó las 48.000 toneladas (FAO, 2020). Según Wurmman, (2017), a pesar de las grandes cifras también aumenta la preocupación ambiental. En los últimos años según FAO, (2020), Ecuador es uno de los mayores productores de acuicultura en el mundo, produciendo hasta el 2018: 568.4 mil toneladas de peso vivo (Figura 1).



**Figura 1.** Mayores productores acuícolas en el mundo 2003-2018. La figura refleja la suma de todas las producciones acuícolas (línea azul) de Ecuador desde el año 2003 hasta el 2018 colocándolo en el puesto 15, delante de potencias como Estados Unidos. Tomada de *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020* por FAO, (2020).

Otro de los productos que entrega Ecuador al mundo es el camarón, el fondo mundial para la vida ha obligado al país a tomar en cuenta parámetros como pH, DBO y DQO durante la producción de estos crustáceos (Hoseini, 2020). De esta manera, se puede medir el nivel de contaminación en aguas residuales.

## 2.3 Aguas residuales de la acuicultura

Las aguas residuales empleadas en actividades acuícolas contienen nutrientes tóxicos y materia orgánica que generan eutrofización. Estos residuos al entrar en contacto con el ambiente producen un aumento de las comunidades bacterianas y algas en los ecosistemas tanto acuáticos como terrestres (X. Shen et al., 2020).

### **2.3.1 Parámetros fisicoquímicos**

#### ***2.3.1.1 pH y oxígeno disuelto***

Luna-Imbacuán et al., (2016), mencionan que las descargas provenientes de actividades acuícolas en columnas de agua generan disminución en el pH. Debido al crecimiento de algas existe agotamiento del oxígeno disuelto (OD) dando incremento al DBO (demanda biológica de oxígeno). Estas condiciones permiten el desarrollo de organismos anóxicos (Er et al., 2018).

OMS, (2019) mencionan que un entorno acuático con niveles bajos de OD se caracteriza por tener olor y color desagradable. Además, a mayor presencia de materia orgánica, sedimentos y turbidez, se genera entornos anaerobios.

#### ***2.3.1.2 Grupo amonio***

El  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$  se produce por la descomposición de materia orgánica e inorgánica presente en el suelo y agua (M. Shen et al., 2019). De igual manera se genera por la excreción de algunos organismos y el intercambio gaseoso con la atmósfera. Los altos niveles del compuesto en cuerpos de agua producen ambientes tóxicos que llevan a un desequilibrio del ecosistema. El resultado final conduce a elevaciones de pH y eliminación de gran parte de las especies nativas (Chapman, 1996).

#### ***2.3.1.3 Nitratos y nitritos***

El nitrato ( $\text{NO}_3$ ) es la forma más común del nitrógeno en columnas de agua. Las altas concentraciones de este compuesto pueden derivar en problemas de salud debido a la eutrofización que se produce (Chapman, 1996). Rosso y Giannuzzi, (2017) menciona que el  $\text{NO}_3$  en el agua provoca floración de algas y otros organismos acuáticos.

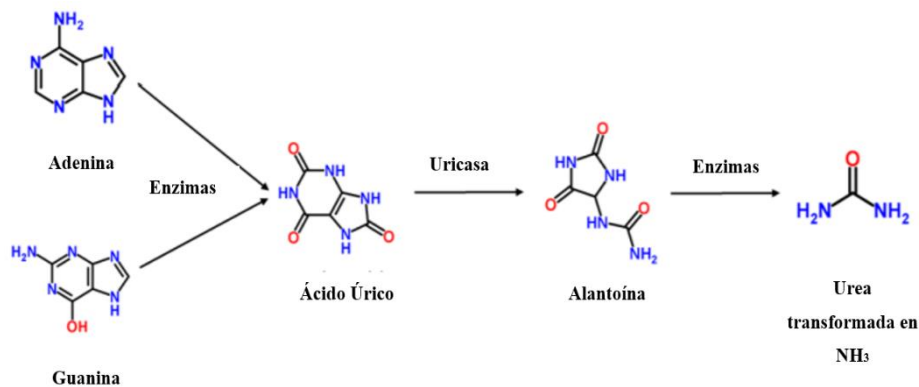
#### ***2.3.1.4 Componentes fosforados***

Es un factor determinante en el desarrollo de la eutrofización, no es común que el componente se encuentre disuelto en grandes cantidades en los ecosistemas acuáticos (Chapman, 1996). En la acuicultura, se genera por medio del metabolismo de los peces. Neofitou y Klaoudatos, (2008) mencionan que la forma más común del fósforo en columnas de agua es el  $\text{PO}_4$  a manera de partículas y fragmentos.

## 2.4 Parámetros biológicos

En relación a como influyen los parámetros biológicos en el agua residual, se debe tomar en cuenta el tipo de especie que se esté manejando en el campo acuícola; debido a que la mayoría de las especies idóneas (Tabla 1) se encuentra en la infraclass de los teleósteos, siempre se hace un análisis de temperatura, salinidad, fisiología y ajustes ecológicos; este conjunto influye en su metabolismo afectando su reproductibilidad y excreción de nutrientes (Toni et al., 2019).

En relación con la excreción de nutrientes, la alimentación se ve influenciada por la fisiología y metabolismo de los peces; el alimento que reciben los peces en la acuicultura tiene altos niveles de proteínas unicelulares. Debido a que los peces poseen niveles elevados de ácidos nucleicos (purina), su metabolismo no permite una ingesta adecuada, la ingesta deficiente hace que la enzima uricasa carezca de la capacidad de degradar ácido úrico en la sangre (Eliasson, 2015). El resultado de la acumulación de ácido úrico da lugar a la formación de cristales de urato (alantoína) (Kratzer et al., 2014). Eliasson, (2015) afirma que la mayoría las especies piscícolas han producido mutaciones en la enzima uricasa; la mutación ha permitido la transformación de alantoína en urea, dando paso a una excreción fácil de  $\text{NH}_3$  (Figura 2). La acumulación de  $\text{NH}_3\text{-N}$  es el principal contaminante de aguas residuales.



**Figura 2.** Transformación metabólica del alimento ingerido por los peces. La figura representa el metabolismo de las purinas durante transformación del alimento en  $\text{NH}_3$ . Adaptada de *Residuos lácteos: ¿piensos para peces?* por Eliasson, (2015).



## 2.5 Microorganismos presentes en el agua residual

Los microorganismos cumplen un rol fundamental en la acuicultura; Bentzon-Tilia et al., (2016) mencionan, que “existen microorganismos capaces de reciclar nutrientes, descomponer materia orgánica, proteger a los peces de enfermedades que pueden ocasionar la muerte del animal y servir como una fuente de alimento”. Dentro de las comunidades microbianas presentes se pueden encontrar: bacterias, zooplancton, protozoos, fitoplancton y hongos; estos microorganismos son indicadores de la calidad del agua, sin embargo, es necesario conocer su rol específico en el ecosistema piscícola (Tabla 2) ya que algunos microorganismos pueden representar una amenaza para la salud de los peces como lo menciona (FAO, 2011).

**Tabla 2**

*Rol específico de microorganismos procariotas y eucariotas en un ecosistema acuícola*

Microorganismos	Rol específico	Referencia
Fitoplancton	Proporcionar O <sub>2</sub> en el agua, producto de la fotosíntesis. Además, sirven como fuente de alimento para el zooplancton.	(Kumar et al., 2020)
Zooplancton	Alimento para los peces en etapa de alevinaje.	(Martha Prieto & Victor Atencio, 2008)
Protozoos	Considerados como parásitos en el ambiente piscícola, ya que pueden causar enfermedades en los peces.	(FAO, 2011)
Bacterias	Descomposición de materia orgánica, fermentación, nitrificación y solubilización de compuestos fosforados. Por otra parte, existen bacterias que pueden ser perjudiciales.	(C. E. Boyd, 2019); (Eck et al., 2019)
Hongos	Patógenos oportunistas que generan afecciones a los peces cuando estos presentan heridas en su tejido.	(FAO, 2011)

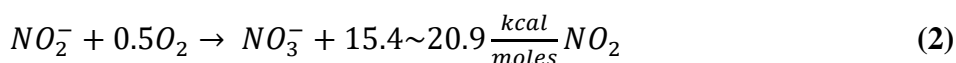
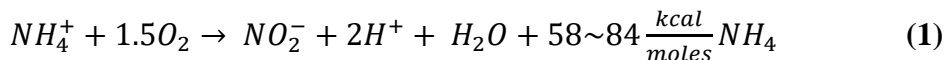
### 2.5.1 Aplicación de bacterias en la biorremediación de aguas residuales

Las bacterias se encuentran distribuidas en la biosfera y sobreviven a diferentes hábitats. Según (Abatenh et al., 2017), la versatilidad metabólica de las bacterias permite aplicarlas en

campos como la biorremediación utilizando los compuestos tóxicos como sustrato, reduciendo su concentración y grado de toxicidad. Por su parte Mehrotra et al., (2021) cita, “los tratamientos biológicos presentan ventajas sobre los tratamientos químicos siendo más eficientes y reduciendo los costos de operación”. Las bacterias oxidantes de amonio (BAO) y las solubilizadoras de fosfatos desempeñan roles importantes en los ciclos biogeoquímicos del N y P (Willey et al., 2013).

### **2.5.1.1 Bacterias oxidantes de amonio**

Ochoa et al., (2015) mencionan que estas bacterias se desarrollan en ambientes terrestres y acuáticos. Su función reside en la oxidación del  $NH_3/NH_4$  a  $NO_3$ , este proceso se genera en condiciones aeróbicas siendo el  $O_2$  aceptor de electrones y el  $NH_3/NH_4$  donador, dando un proceso de dos pasos, se transforma el  $NH_3/NH_4$  a  $NO_2$  y posteriormente el  $NO_2$  se oxida a  $NO_3$  (Caffrey et al., 2007). El Sheshtawy et al., (2017) describen esta reacción como se muestra en las Ecuaciones 1 y 2.



Los microorganismos encargados del primer paso se denominan oxidantes de amonio, siendo catalizado por la enzima amonio monooxigenasa e hidroxilamina oxidasa. En relación con el segundo se denominan nitrito oxidantes (Ochoa et al., 2015), aplicando la enzima nitrito oxidorreductasa de la membrana celular. John et al., (2020) mencionan que existen diferentes microorganismos que realizan dicha actividad entre estos se encuentran *Pseudomonas spp.* y *Bacillus sp.*

### **2.5.1.2 Bacterias solubilizadoras de fósforo**

Las bacterias solubilizadoras de fósforo son heterotróficas y se encuentran en ambientes acuáticos y terrestres. Su función radica en la transformación de  $PO_4$  inorgánicos a orgánicos que son asimilables por las plantas (El Sheshtawy et al., 2017). Estas bacterias excretan ácidos

orgánicos (glucónico, butírico, oxálico e indol acético), agentes quelantes y enzimas fosfatasa en el medio. Los componentes mencionados generan la liberación de  $\text{PO}_4$  a través de la mineralización del compuesto (Khan et al., 2009). Además, Paredes-Mendoza & Espinosa-Victoria, (2009) mencionan que los  $\text{PO}_4$  inorgánicos son solubilizados por las bacterias mediante la producción de  $\text{CO}_2$ , excreción de protones y asimilación de  $\text{NH}_4$ . Estos procesos influyen en la concentración de iones  $\text{H}^+$  presentes en la solución.

La solubilización es el resultado de la acidificación del espacio periplasmático, producida por la oxidación de la glucosa u otra aldosa. Esta reacción es catalizada por la quinoproteína glucosa deshidrogenasa (PQQGDH) produciendo ácido glucónico. La PQQGDH transfiere los electrones provenientes de la aldosa hacia la ubiquinona.

El compuesto continúa su proceso de oxidación mediados por el cofactor PQQ hasta convertirse en ácido 2-cetoglucónico o también en 2,5-dicetoglucónico (Paredes-Mendoza & Espinosa-Victoria, 2009). Ulla, (2015) señala que entre los géneros bacterianos solubilizadores de fósforo se encuentran: *Enterobacter*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, entre otros.

### ***2.5.1.3 Consorcios bacterianos***

Según Lezama-Cervantes et al., (2010), en el medio natural los consorcios están constituidos por microorganismos autótrofos y heterótrofos. Son usados como agentes bioestimulantes en la degradación de compuestos (John et al., 2020). En ambientes acuáticos contaminados reducen la DBO5 a través de procesos metabólicos descomponiendo la materia orgánica rica en nitrógeno y fósforo presente en el agua (Lezama-Cervantes et al., 2010).

En el tratamiento de aguas residuales se añade un precultivo de microorganismos ya sea de una misma o diferentes especies. El proceso permite una mayor descomposición de residuos contaminantes en comparación al uso de un solo microorganismo. Además, dependiendo de las especies estos pueden desempeñarse en ambientes tanto aerobios como anaerobios. Las ventajas de estos consorcios son el bajo costo, bajo consumo de energía y es amigable con el ambiente (Paredes et al., 2007).

## 2.6 Procesos biológicos de tratamientos de aguas residuales

Los procesos biológicos se catalogan dependiendo la funcionalidad, afinidad con el sustrato y la conversión de nutrientes que necesitan las comunidades bacterianas en el tratamiento del efluente; sin embargo, estos procesos operan conjuntamente para generar la degradación de compuestos tóxicos (Yildiz, 2012).

### 2.6.1 Aplicación del proceso según el componente a eliminar

Este proceso se caracteriza por el tipo de nutriente a eliminar, una vez seleccionado el nutriente se propone un tipo de consorcio bacteriano que pueda degradar de manera bioquímica los elementos tóxicos (Myszograj, 2018); existen 4 tipos de métodos que se describen en la Tabla 3.

**Tabla 3**

*Clasificación de los tipos de procesos según el elemento que se quiere eliminar.*

<b>Tipos de proceso</b>	<b>Función</b>	<b>Referencia</b>
<b>Eliminación con materia orgánica carbonosa.</b>	Oxidación electroquímica donde la materia orgánica aumentan la capacidad degradadora de los microorganismos.	(Deng et al., 2020)
<b>Eliminación del nitrógeno por nitrificación.</b>	Proceso de oxidación aeróbica donde los microorganismos transforman el $\text{NH}_4$ en $\text{NO}_3$ .	(Rodziewicz et al., 2019)
<b>Eliminación del nitrógeno por desnitrificación.</b>	Proceso de reducción anaeróbica donde los microorganismos transforman el $\text{NO}_3$ a $\text{N}_2$ .	(Rodziewicz et al., 2019)
<b>Eliminación del fósforo.</b>	Proceso anaeróbico donde los microorganismos utilizan ácidos orgánicos para degradar los fosfatos.	(Cao et al., 2017)

### 2.6.2 Aplicación del proceso por el potencial de oxido-reducción

El proceso de degradación por oxido-reducción es influenciado por el tipo de consorcio bacteriano y por la presencia o ausencia de  $\text{O}_2$ , si todo esto se desequilibra se crea un efecto toxicológico (Calvin, 1969). Este procedimiento se clasifica en 3 métodos (Tabla 4).

**Tabla 4***Clasificación de los tipos de procesos según el potencial oxido-reducción.*

<b>Tipos de proceso</b>	<b>Función</b>	<b>Referencia</b>
<b>Degradación aerobia.</b>	Proceso donde los microorganismos degradan los componentes potencialmente tóxicos en elementos más simples usando el O <sub>2</sub> como aceptor de electrones.	(Goel & Motlagh, 2014)
<b>Degradación anaerobia.</b>	Proceso donde los microorganismos degradan los contaminantes usando el CO <sub>2</sub> y otras moléculas como receptores de electrones, generando energía para otros procesos.	(Edwards et al., 2015)
<b>Degradación anóxica.</b>	Proceso donde los microorganismos reducen el NO <sub>3</sub> y fósforo al mismo tiempo con una mínima cantidad de O <sub>2</sub> , esto siempre se desarrolla después de los tratamientos primarios y secundarios en una planta de tratamiento.	(Yorkor & Momoh, 2019)

### 2.6.3 Función del proceso por la disposición de la biomasa en el reactor

La acumulación de las comunidades microbianas en el biorreactor permite la remoción de metales pesados, contaminantes orgánicos y transformación de las reacciones químicas (H. Li et al., 2020). Los microorganismos pueden fijarse en una superficie o mantenerse en suspensión (Tabla 5).

**Tabla 5***Clasificación de los tipos de procesos según la disposición de la biomasa en el biorreactor*

<b>Tipos de proceso</b>	<b>Función</b>	<b>Referencia</b>
<b>Biomasa en suspensión.</b>	Proceso donde una biomasa de microorganismos se combina con lodos activados, los componentes tóxicos se homogenizan con los lodos generando un cúmulo elevado de sedimentos, una vez que se acumula grandes cantidades de desechos orgánicos e inorgánicos se airea y se desecha conservando suficiente biomasa para que continúe degradando	(Sowinska & Makowska, 2016) (Allen et al., 2006)

---

nuevas aguas residuales, este proceso es idóneo en plantas de tratamiento de gran escala.

**Biomasa en soporte fijo.**

Proceso donde una biomasa con microorganismos se fija formando biopelículas, a medida que el agua residual es transportada a través de la membrana, los microorganismos generan procesos como nitrificación o desnitrificación; generando aguas con menos sustancias tóxicas, este proceso es más idóneo aplicarlo en plantas de tratamiento pequeñas. (Wałęga et al., 2018) (Sowinska & Makowska, 2016)

---

## **2.7 Biorremediación de aguas residuales**

### **2.7.1 Concepto básico**

Es un conjunto de procesos biotecnológicos que utilizan organismos unicelulares y pluricelulares que pueden ser autóctonos o extraídos de otros entornos para reducir la toxicidad en cuerpos de agua (Sharma, 2021), todos estos pueden desarrollarse si se aplica en técnicas in situ o ex situ. Además, en la biorremediación de aguas se aplica instrumentos tecnológicos que permiten la limpieza y protección del medio acuático, eliminando componentes tóxicos (Amin et al., 2013).

### **2.7.2 Técnicas de biorremediación de aguas residuales**

#### ***2.7.2.1 Técnicas de biorremediación in situ***

Según Sharma, (2021) esta técnica consiste en el tratamiento de componentes contaminados en el lugar de origen, siendo eficaces contra metales pesados e hidrocarburos. Además Ateia, (2016) menciona que este tipo de biorremediaciones permite generar mejores resultados, dependiendo las condiciones y los nutrientes viables en el medio a tratar; además el autor recomienda que este tratamiento no solo debe enfocarse a ríos y lagunas sino a todos los cuerpos de agua que presenten contaminación. Los métodos in situ que más se destacan se explican en la Tabla 6.

**Tabla 6***Técnicas de remediación in situ de aguas residuales*

<b>Técnica</b>	<b>Concepto</b>	<b>Descripción del proceso</b>
<b>Plantas Acuáticas</b>	Técnica donde se aplica las plantas como fuente de tolerancia y mitigación a los contaminantes acuáticos.	La planta acuática genera reacciones químicas y bioquímicas para asimilar el contaminante e integrarlo en sus tejidos.
<b>Animales acuáticos</b>	Técnica donde se aplican animales en especial mariscos y peces, para mitigar masas de agua eutróficas.	El animal se alimenta de masas contaminantes hasta cierto punto, sin embargo, a medida que la especie está en el ecosistema contaminado, se vuelve mortal para su organismo por lo que aún se investiga la fase toxicología.
<b>Microorganismos por dosificación microbiana</b>	Técnica donde se aplica reactivos comerciales que poseen microorganismos, para que puedan eliminar contaminantes presentes en el agua.	Una vez aplicado el reactivo con bacterias, estas pasan por una fase de adaptación en el medio contaminado; no obstante, algunas no sobreviven por lo que se aplica un bioenergizador y así se genera una degradación artificial de la contaminación.
<b>Microorganismos en biopelículas</b>	Técnica basada en membrana con microorganismos, reducen contaminantes una vez que estos atraviesan la superficie de la membrana.	La superficie con microorganismos se coloca en el lecho natural del cuerpo de agua junto con aireación artificial, los contaminantes presentes en el recurso hídrico son metabolizados por los microorganismos presentes en la biopelícula, acumulando biomasa mediante adsorción, generando además la reducción de nutrientes tóxicos.

*Nota.* Las técnicas mencionadas son adaptadas de *In-situ Biological Water Treatment Technologies for Environmental Remediation: A Review* por Ateia, (2016).

### **2.7.2.2 Técnicas de biorremediación ex situ**

Estas técnicas implican la extracción de los contaminantes a un sitio específico para su tratamiento, esto depende de la profundidad, grado, tipo, costo y ubicación del cuerpo

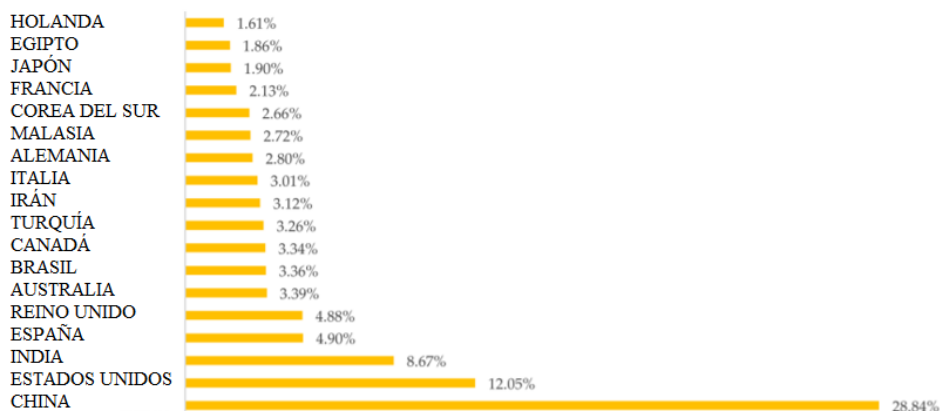
contaminado. Además, para seleccionar la técnica de biorremediación ex situ más adecuada, se debe tomar en cuenta las normas medioambientales (Sharma, 2021).

Debido a que el tratamiento de aguas se hace en ríos, lagunas o efluentes extensos, la manera ex situ son las “obras de tratamientos de agua residual”; la fuente hídrica contaminada es desviada hacia el interior de la “obra”, donde se recolecta, trata y descarga un efluente menos contaminado de nuevo al medio ambiente (WCR, 2016).

### 2.7.3 Sistemas de biorremediación de aguas residuales

Ante el problema de escasez y contaminación acuática se han desarrollado los sistemas de tratamientos de agua residual, un sistema de remediación es un mecanismo que reduce los componentes tóxicos en nutrientes asimilables al ambiente (Goddek, 2019).

Gallego-Valero et al., (2021) mencionan que los sistemas son de vital importancia debido a su bajo costo y grandes resultados entre los cuales destaca China, siendo el mayor generador de sistemas de biorremediación (Figura 3).



**Figura 3.** Ranking de países en investigación, inversión y desarrollo de sistemas de tratamiento de aguas residuales. Adaptada de *Wastewater Treatment Costs: A Research Overview through Bibliometric Analysis* por Gallego-Valero et al., (2021).

Estas tecnologías se han mezclado con la remediación biológica (biorremediación), este proceso consiste en que las bacterias se adapten a un sistema de tratamiento y así reducir los



nutrientes tóxicos; se clasifica en sistemas con bacterias bioestimuladas y bioaumentadas (Ome Barrera & Zafra Mejía, 2018; Zafra-Mejía et al., 2021).

### ***2.7.3.1 Bioestimulación***

Es un método donde se aplican tecnologías que permitan eliminar los contaminantes de un recurso hídrico, combinando microorganismos naturales del entorno dando como resultado la descomposición de los nutrientes tóxicos relacionados con el nitrógeno y fósforo (Musyoka, 2016; Zafra-Mejía et al., 2021). Actualmente, este proceso se desarrolla en las plantas de tratamiento o se genera de manera natural, el resultado final es la disminución de las sustancias tóxicas a un estado menos dañino estimulando la formación de biopelículas (Musyoka, 2016).

En el campo de la biotecnología, esta técnica *in situ* implica suministrar nutrientes a las bacterias para su crecimiento como son el nitrógeno, carbono y fósforo; dependiendo el tamaño del biorreactor y el posible número de bacterias a estimular, el metabolismo bacteriano demorará un periodo de hasta 120 días, esto es debido a que el “circuito bacteriano” debe asimilar la cantidad necesaria y así evitar la acumulación de los nutrientes presentes en el ambiente (Ape et al., 2019; Ijoma et al., 2019)

### ***2.7.3.2 Bioaumentación***

Es el uso de cepas comerciales, mezcla de enzimas aisladas o combinación de ambas partes. El resultado es la sinergia entre bacterias autóctonas y cepas comerciales acelerando la degradación natural de los componentes (Musyoka, 2016). Este proceso de estimulación crea cargas microbianas que generen biofiltración, en mecanismos llamados biofiltros (Pathak & Mahajan, 2017).

## **2.8 Biofiltros en procesos de biorremediación de aguas residuales**

### **2.8.1 Definición de biofiltros**

Es un mecanismo en el cual se producen reacciones físicas, químicas y biológicas con capacidad de degradar contaminantes orgánicos. La presencia de microorganismos y plantas provoca que estos procesos se lleven a cabo; para la elección de estos es importante conocer su

metabolismo y el contaminante a tratar (Stottmeister et al., 2003). En el tratamiento de aguas residuales se usan diferentes tipos de biofiltros.

### **2.8.2 Estructura básica de un biofiltro**

Según D. Schmidt et al., (2004) la estructura de un biofiltro consiste en una mezcla de componentes inorgánicos que servirá como superficie para las poblaciones microbianas. Sin embargo, dependiendo del componente a degradar la estructura de un biofiltro puede variar, puede usarse tapas de botellas, biobolas o sustrato orgánico como biofiltro (Sikora et al., 2020). En otras partes como Japón y Holanda utilizan en sistemas de recirculación acuícola “RAS” a organismos como biofiltros (Goddek, 2019). No obstante, Basu et al., (2016) mencionan, que “sea el material de que este hecho, un buen biofiltro debe tener la capacidad de adsorber los componentes tóxicos deseados”.

### **2.8.3 Principales biofiltros en tratamientos de aguas residuales**

#### ***2.8.3.1 Membrane biorreactor (MBR)***

Lefebvre et al., (2013) mencionan que un biofiltro MBR es un sistema híbrido compuesto por biofilms bacterianos que se desarrollan en una membrana. Además, estos incorporan procesos de microfiltración y ultrafiltración (Xiong et al., 2018). En su interior se producen reacciones fisicoquímicas que eliminan sólidos suspendidos y nutrientes presentes en aguas residuales.

Lee et al., (2006) señalan que los MBR son fáciles de operar e incrementan la capacidad de degradación de compuestos. Además, el biofilm adquiere gran resistencia a compuestos tóxicos. Aznar, (2014) cita, que “este biofiltro produce menor cantidad de fango por metro cúbico de agua tratada; igualmente, incorpora la eliminación de nutrientes como nitrógeno y fósforo”.

#### ***2.8.3.2 Moving bed biorreactor (MBBR)***

Kermani et al., (2008) señalan que es un reactor conformado por biopelículas completamente agitado que opera de manera continua. Abu Bakar et al., (2020) mencionan que esta tecnología está basada en el uso de lodos activados y filtros percoladores; estos biofiltros poseen una alta capacidad para tratar aguas residuales. El proceso es comparado con biofiltros MBR y MFC ya que se han usado exitosamente en el tratamiento de aguas municipales. Las

ventajas de este biofiltro son: alto rate de nitrificación y baja producción de lodos (Shalini & Y., 2019).

### ***2.8.3.3 Fixed bed biofilm reactor (FBBR)***

W. L. Liu & Li, (2018) afirman que este tipo de biofiltros son ampliamente utilizados en la industria química debido a los bajos costos de producción. Por su parte (Shalini & Y., 2019) señala que los FBBR son usados en la remoción de contaminantes presentes en el agua. Igualmente, el biorreactor presenta ventajas como la interacción biológica mejorada con el agua a tratar. Además, eficiencia en el tratamiento reduciendo el tiempo de retención hidráulica (HRT) y mayor superficie para el crecimiento de microorganismos.

## **2.9 Aplicaciones prácticas de biofiltros en tratamientos de aguas residuales**

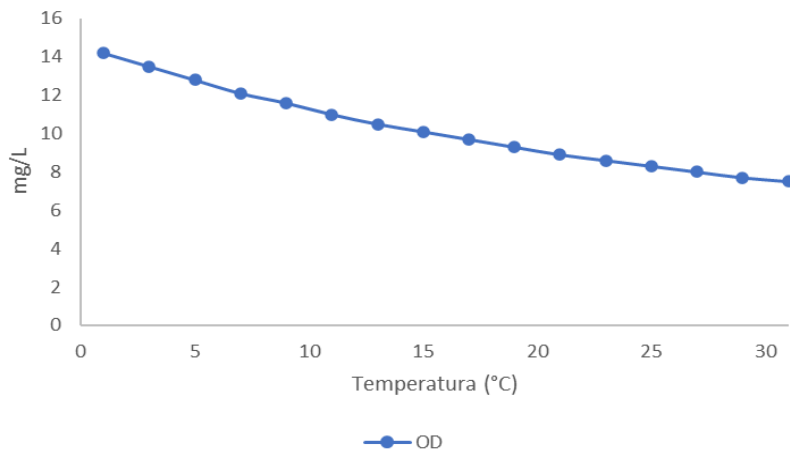
Los biofiltros se han adaptado dependiendo el contaminante a reducir (Sharma, 2021); por lo que existen varias aplicaciones, por ejemplo, en un estudio se ha utilizado cáscara de arroz y bacterias como biofiltros para reducir los nutrientes tóxicos de aguas residuales de la empresa textil (Forss et al., 2017); además se pueden tratar aguas residuales domésticas y de acuicultura utilizando como biofiltros, materiales como espuma de poliuretano (Dacewicz, 2019); o aplicar procesos como hidroponía para el crecimiento de vegetales sean tomate o lechuga; utilizando las propias plantas como biofiltros para reducir los contaminantes presentes en el agua residual acuícola (Goddek, 2019).

## **2.10 Hidroponía**

Urrestarazu Gavilán, (2015) define a la hidroponía como un cultivo donde la raíz permanece en contacto con una solución acuosa. Esta solución contiene nutrientes esenciales para el crecimiento de los cultivos. Además, la temperatura el oxígeno y el pH influyen en la capacidad de las plantas para absorber dichos nutrientes.

Beltrano y Gimenez, (2020) mencionan, que “el oxígeno cumple un rol importante en la absorción de cationes”. En presencia de niveles bajos se produce una acumulación de dióxido de carbono en el medio radicular. El resultado genera una capacidad a la planta para asimilar los nutrientes presentes en el agua. Por su parte, la temperatura influye en la difusión de oxígeno

presente en la solución. Como resultado del factor, se genera una capacidad de disolución elevada a bajas temperaturas como se muestra en la Figura 4.



**Figura 4.** Comportamiento del OD en el agua con respecto a la temperatura. La figura representa el oxígeno disuelto, mostrando una curva inversamente proporcional a la temperatura. Adaptada de *Respuestas metabólicas en plantas de tomate con deficiencia de hierro* por López-Millán et al., (2009).

Por su parte Goddek, (2019) cita que “la hidroponía es también utilizado en la biorremediación de aguas residuales con exceso de nutrientes. El proceso hidropónico puede hacerse a manera de ciclo abierto o cerrado”.

### 2.10.1 Hidroponía de ciclo abierto

En este proceso la solución se mantiene estática. Se genera principalmente en tanques o recipientes en los que se sumergen las raíces del cultivo. En este modelo los niveles de oxígeno bajan rápidamente por lo que no es recomendable instalarlo en zonas cálidas. Este tipo de hidroponía permite que las raíces recolecten la solución nutritiva; sin embargo, no se reducen en su totalidad; el agua aún conserva la mayor parte de los nutrientes y son expulsados al ambiente (Beltrano & Gimenez, 2020; Goddek, 2019).

### 2.10.2 Hidroponía de ciclo cerrado

En este tipo de cultivo la solución nutritiva puede ser suministrada de manera constante o intermitente dando una recolección y ahorro del agua. Los nutrientes que no se recolectan en las

raíces, son recirculados y devueltos al inicio del sistema (De la Rosa-Rodríguez et al., 2020). Beltrano y Gimenez, (2020) mencionan que en el cultivo cerrado no es necesario suministrar oxígeno debido a que la solución se encuentra en movimiento. Beltrano & Gimenez, (2020); Urrestarazu Gavilán, (2015) coinciden en que el sistema más conocido es el NFT (Nutrient Film Technique). El NFT consiste en una serie de canales profundos o semi profundos usados para el transporte de la solución nutritiva con el sistema radical.

## CAPÍTULO III

### 3 METODOLOGÍA

#### 3.1 Descripción del Área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en la Provincia del Carchi, cantón Mira, parroquia La Concepción, comunidad el Rosal, coordenadas con latitud  $0^{\circ}39'58.4''N$  longitud  $78^{\circ}09'36.0''W$  (Figura 5).

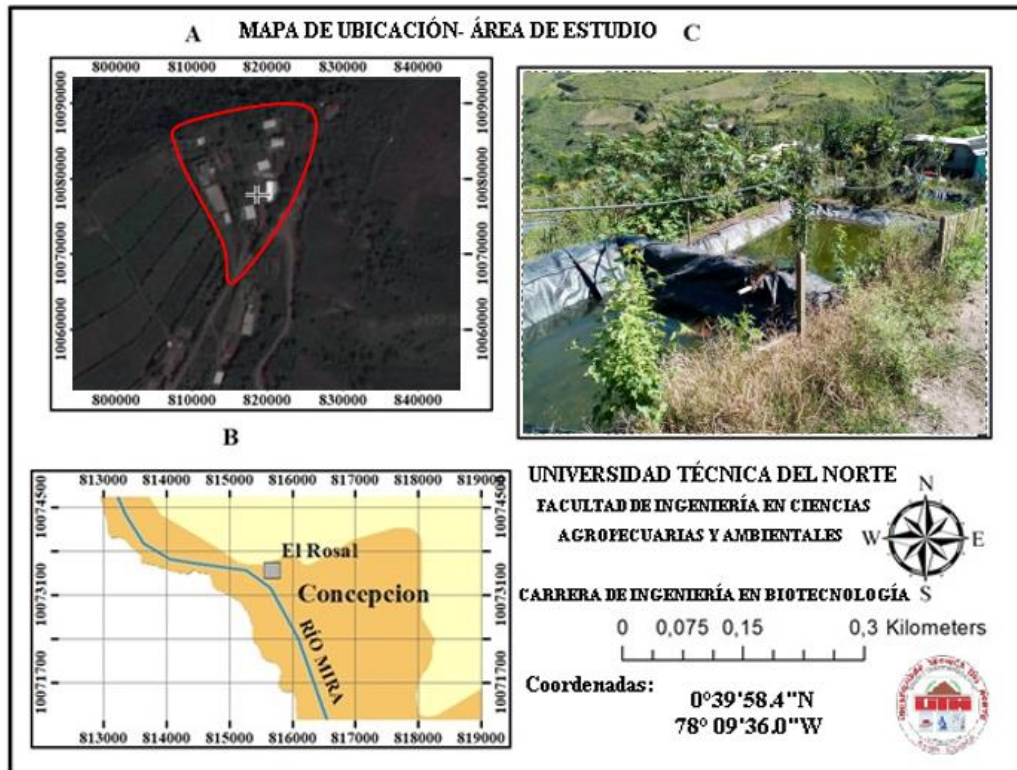


Figura 5. Ubicación de la zona donde se desarrolló la investigación

#### 3.2 Muestreo

Para empezar, se efectuó la desinfección de tres frascos de vidrio (dos de 1000 ml y uno de 400 ml) con hipoclorito sódico ( $NaClO$ ) al 10%. A continuación, se colocó los frascos de 1000 ml en la tubería de la descarga de agua de la piscina de tilapia, se rellenaron los frascos hasta el aforo total, se cerraron y se etiquetaron con fecha (29/03/2021) y hora (16:27), las muestras fueron almacenadas dentro de un cooler. Se efectuó el mismo procedimiento para el frasco de 400 ml, con la diferencia que este fue sometido a refrigeración con gel refrigerante marca “Frío gel” dentro del cooler, el transporte de las muestras se realizó al siguiente día. Este proceso se ejecutó de acuerdo

con las instrucciones brindadas por el laboratorio donde se realizó los análisis (Anexo 1). Los métodos aplicados en los análisis de laboratorio se describen en la Tabla 7.

**Tabla 7**

*Parámetros aplicados en el laboratorio para el análisis de las muestras recolectadas*

<b>Parámetro</b>	<b>Método</b>	<b>Significado del método</b>	<b>Rango del análisis (AGROCALIDAD)</b>
<b>Color</b>	Organoléptico	-----	-----
<b>Conductividad eléctrica</b>	POE: 7.2.15 SM 2510 B	Electrometría	2.0 a 10000 $\mu S cm^{-1}$
<b>Acidez</b>	SM 2310-B	Volumetría	0.3 a 6.5% $P/v$
<b>Alcalinidad (CaCO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup></b>	POE 7.2.52 SM 2320	Volumetría	20 a 500 $mg l^{-1}$
<b>Amonio (NH<sub>4</sub>)</b>	SM 4500	Cromatografía de iones	-----
<b>Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO<sub>5</sub></b>	POE: 7.2.53 SM 5210	Respirometría	10 a 800 $mg l^{-1}$
<b>Demanda Química de Oxígeno DQO</b>	POE: 7.2.37 SM 5220	Espectrofotometría UV-Vis	5 a 5000 $mg l^{-1}$
<b>Fosfatos (PO<sub>4</sub>)</b>	POE: 7.2.10 SM 4500-BF	Cromatografía de iones	-----
<b>Nitratos (NO<sub>3</sub>)</b>	POE: 7.2.10 SM 4110-B	Cromatografía de iones	-----
<b>Nitritos (NO<sub>2</sub>)</b>	POE: 7.2.10 SM 4110-B	Cromatografía de iones	-----
<b>Conteo de bacterias aeróbicas totales</b>	POE 7.2.18 SM 9215 D Filtración por membrana	Recuento en placa	$\geq 10 UFC ml^{-1}$

*Nota.* La tabla representa los parámetros para análisis fisicoquímico y microbiológico, el método aplicado se rige por la red de laboratorios de Agrocalidad. Adaptada de Centrocésal (2021).

### 3.3 Crecimiento de los microorganismos degradadores de nutrientes

#### 3.3.1 Análisis de parámetros para la simulación de un agua residual bioestimulante

Los análisis del agua residual piscícola permitieron encaminar la investigación a un nuevo proceso, en donde se desarrolló la simulación de un agua residual para el crecimiento de

microorganismos degradadores de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ . Este proceso se lo realizó de acuerdo a la metodología descrita por Araujo, (2009); De J Ornelas et al., (2012); Metcalf, (2000) con algunas modificaciones. Para generar un agua residual con exceso de nutrientes que permitan el crecimiento de bacterias degradadoras, se tomaron en cuenta parámetros fisicoquímicos de un estanque de acuicultura (Tabla 8) y se analizaron en una hoja de cálculo Excel®.

**Tabla 8**

*Principales variables de la piscina de acuicultura para el cálculo de elementos*

<b>Variables</b>	<b>Unidades</b>	<b>Observaciones</b>
Volumen del estanque	$\text{m}^3$	
Alimento suministrado a los peces	kg	
Tipo de alimento		Alimento Piscis
Componentes del alimento	%	
Densidad de siembra	$\text{N}^\circ\text{peces}/\text{m}^3$	
Temperatura	$^\circ\text{C}$	
Balance nutricional del alimento	kg	
Asimilación de nutrientes de las tilapias	%	
Excreción de nutrientes de las tilapias	%	

A continuación, se analizaron diferentes medios de cultivo para el crecimiento de bacterias degradadoras de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ . El análisis permitió generar de manera *in silico* un medio para el crecimiento de los microorganismos de interés, en la Tabla 9 se describen las variables analizadas.

**Tabla 9**

*Principales variables analizadas de los medios de cultivo para el cálculo de elementos*

<b>Variables</b>	<b>Unidades</b>	<b>Observaciones</b>
Nutrientes de bacterias degradadoras	g	



Composición del medio de cultivo	mg l <sup>-1</sup>	
pH		Alcalinidad/Acidez
Temperatura	°C	

Posteriormente, se analizaron los parámetros (Tabla 10) de algunos fertilizantes comerciales y se seleccionó un fertilizante con características nutricionales similares al medio de cultivo generado en esta investigación.

**Tabla 10**

*Principales variables analizadas en los fertilizantes para el cálculo de elementos*

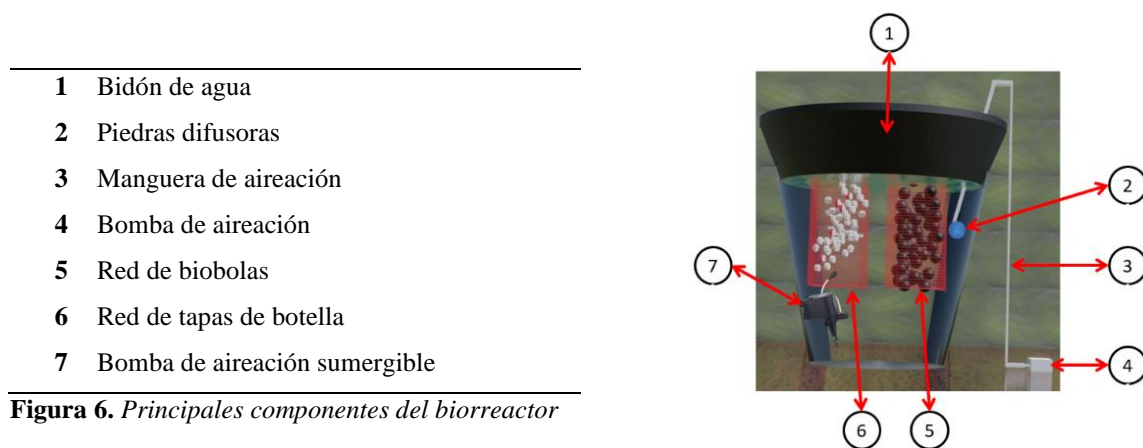
<b>Variables</b>	<b>Unidades</b>	<b>Observaciones</b>
Nutrientes para bacterias degradadoras	g	
Composición del fertilizante	mg l <sup>-1</sup>	
pH		Alcalinidad/Acidez
Temperatura	°C	

El fertilizante seleccionado fue Yara Tera Kristalon Green (Yara Green), de acuerdo con las recomendaciones de la empresa YARA solo debe usarse hasta 100 g en un volumen de 50 L, debido a que el excesivo aporte de nutrientes provocaría daño ambiental. Por lo tanto, se realizó un análisis de los 100 g junto con los elementos del agua residual y el medio de cultivo, esto permitió saber si la cantidad recomendada por la empresa incrementaba los nutrientes para el desarrollo de las bacterias degradadoras.

### **3.3.2 Diseño del biorreactor para los microorganismos degradadores**

Una vez determinado que los 100 g de fertilizante aportaban las concentraciones para la bioestimulación de los microorganismos, se desarrolló un biorreactor tipo “híbrido” de 65 L, se denomina así porque se simulan dos fases, una anóxica y otra aeróbica, además que se debe aplicar esta operación cuando se desconoce los tipos de bacterias presentes en un medio líquido como lo menciona Bellucci et al., (2013).

Para su construcción, se tomó en cuenta la forma del recipiente, los materiales (Anexo 2) y las fórmulas geométricas descritas en el Anexo 3. Esto permitió determinar el volumen de trabajo y área superficial de las biobolas en el biorreactor, obteniendo la cantidad exacta de matrices en un volumen de 50 L de trabajo. La distribución del aire permitió la posible simulación de dos fases, una aeróbica y otra anóxica, para este proceso se generó agitación en la parte media de la operación con una bomba sumergible “JAD SP-1800” de 700 L/h y una aireación de 2x3 L/min solo en la parte inferior del biorreactor con ayuda de una bomba de pecera “JAD SC-7500”, para una mejor distribución de aire se colocaron piedras difusoras. El esquema del biorreactor se visualiza en la Figura 6.



**Figura 6.** Principales componentes del biorreactor

### 3.3.3 Desarrollo del biofilm con bacterias presentes en el agua residual

El proceso de fijación y desarrollo del biofilm se realizó en 2 superficies plásticas (tapas de botella PET y biobolas PVC) colocándolas en una malla plástica. Las tapas de botella fueron esterilizadas debido a su origen de obtención (centro de reciclaje), este proceso se desarrolló siguiendo las recomendaciones descritas por el Instituto Ecuatoriano de Normalización, (2014) con ciertas modificaciones.

Se colocaron las tapas de botella en hipoclorito de sodio al 10% y detergente por 60 h, a continuación, se cepilló cada unidad y se trasladaron a un recipiente con agua y detergente por 24 h. Finalmente para una desinfección total, se enjuagaron y se hirvieron con agua limpia por 2 h. Las biobolas fueron obtenidas del establecimiento “Aventura Acuática” de la ciudad de Quito, de marca “BOYU FT sin esponja filtrante”, listas para ser colocadas en el biorreactor de crecimiento

bacteriano debido a que ya fueron esterilizadas de acuerdo con las normas regidas por el mismo establecimiento.

Posterior a la desinfección, se colocó el volumen calculado (50 L) de agua procedente de la piscina de tilapia junto con 100 g de fertilizante Yara Green, esta cantidad fue medida con ayuda de una balanza marca “Camry”. A continuación, se incorporaron las biobolas (77 unidades) y un volumen semejante de tapas de botella en el biorreactor, como se visualiza en la Figura 7.



**Figura 7.** Biorreactor de crecimiento de bacterias degradadoras de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ . En la figura se expone la distribución de aire en el agua bioestimulada, generando dos posibles zonas (anóxica y aeróbica)

El control de los parámetros fisicoquímicos en el biorreactor se realizó pasando dos días durante 24 días y luego fueron controlados diariamente, los materiales utilizados para el análisis se detallan en el Anexo 6. Una vez que se observó una reducción completa de nutrientes junto con una posible colonización de microorganismos en las superficies plásticas, se extrajeron estas superficies y se colocaron en el sistema de tratamiento diseñado.

### 3.4 Construcción del sistema de tratamiento

#### 3.4.1 Parámetros generales del sistema: Variables fijas

Una vez determinada la presencia de las posibles bacterias degradadoras, se efectuó la construcción de un sistema de tratamiento de agua residual con retención de biomasa, siguiendo la

metodología de Goddek, (2019); Langergraber et al., (2004); Metcalf, (2000); Młyński et al., (2019) con leves modificaciones. Se realizó un cálculo empleando el software Excel®, tomando en cuenta los parámetros de diseño descritos en la Tabla 11.

**Tabla 11**

*Variables fijas de cinética en bacterias nitrificantes*

<b>VARIABLES FIJAS</b>	<b>DENOMINACIÓN</b>	<b>VALOR</b>	<b>UNIDADES</b>
<b>Constante de la velocidad media</b>	Ks	10	mg N/L
<b>Coefficiente de decaimiento</b>	K <sub>d</sub>	0,0075	h <sup>-1</sup>
<b>Tasa específica de crecimiento</b>	μ	0,004	h <sup>-1</sup>
<b>Tasa específica de crecimiento máximo</b>	μ <sub>max</sub>	0,02	h <sup>-1</sup>
<b>Rendimiento</b>	Y	0,4	mg VSS/mg bsCOD

*Nota.* Valores tomados de (Metcalf, 2000)

Las variables plasmadas en la tabla 11 se emplearon como parámetros de diseño teórico (SRT, SRT<sub>min</sub>, S<sub>min</sub>, Sustrato de salida, HRT<sub>min</sub> y HRT) (Anexo 10) los cuales brindaron una perspectiva aproximada al posible comportamiento del sistema durante su operación. Estos valores obtenidos fueron comparados con los volúmenes que se manejarían en el sistema para observar las similitudes, por lo cual no se consideraron dichos resultados en la construcción del sistema.

Por otro parte, se tomaron en cuenta variables fijas de diseño del sistema las cuales influyen directamente con el tratamiento del agua residual y sus velocidades de recirculación a través del sistema (Tabla 12).

**Tabla 12**

*Variables fijas de diseño del sistema*

<b>VARIABLES FIJAS</b>	<b>DENOMINACIÓN</b>	<b>VALOR</b>	<b>UNIDADES</b>
<b>Volumen</b>	V	40	l
<b>Caudal</b>	Q	20	lh <sup>-1</sup>
<b>Fracción no biodegradable</b>	X <sub>nb,i</sub>	1,5	Mg
<b>Factor de seguridad</b>	FS	2	Adimensional

*Nota.* Los valores de V y Q plasmados en la tabla fueron adaptados de acuerdo con el diseño de los investigadores. Los valores de FS y X<sub>nb,i</sub> se obtuvieron de (Martínez, 2010);(Metcalf, 2000) respectivamente.

### 3.4.2 Parámetros generales de diseño del sistema: Variables de cálculo

#### 3.4.2.1 Tiempo de retención hidráulica HRT

Para realizar el cálculo del HRT se empleó la ecuación 3 descrita por Metcalf, (2000), esta ecuación se aplicó para definir el tiempo de permanencia del volumen de agua en una operación unitaria. Al desarrollar la ecuación se reemplazaron los datos obteniendo lo siguiente:

$$HRT = \frac{V}{Q} \quad (3)$$

Donde:

HRT: tiempo de retención hidráulica (h)

V: volumen de trabajo (L) Tabla 12

Q: caudal de entrada (Lh<sup>-1</sup>) Tabla 12

Reemplazando los valores:

$$HRT = \frac{40l}{20\frac{l}{h}}$$

Siendo un HRT 2h.

#### 3.4.2.2 Tiempo de retención de sólidos SRT

En el cálculo del SRT o también conocido como tiempo de retención celular se utilizó la ecuación 4 descrita por Metcalf, (2000), esta ecuación fue empleada una vez que se obtuvieron los datos de medición colorimétrica. El SRT no fue considerado en la etapa de construcción del sistema debido a lo mencionado en el apartado 3.4.1, sin embargo, este parámetro es importante porque brinda al operador información relevante de cuando realizar una depuración de lodos. No obstante, en esta investigación no se realizaron depuraciones periódicas debido a que los microorganismos se encontraban adheridos sobre una superficie, dando una reducción en la producción de lodos. En relación con esta producción, cada repetición duró 30 días, por tal motivo, se realizó la limpieza total del sistema antes de cada recambio de agua.

$$SRT = \frac{V * C_f}{Q_o * C_o} \quad (4)$$

Donde:

SRT: Tiempo de retención de sólidos (h)

V: Volumen (L) Tabla 12

$Q_o$ : Caudal ( $Lh^{-1}$ ) Tabla 12

$C_f$ : Concentración de salida (anexo 11)

$C_o$ : Concentración de entrada (anexo 11)

### 3.4.3 Parámetros de diseño de los sedimentadores: Variables fijas

El diseño de los sedimentadores se lo realizó siguiendo la metodología detallada por Rincón & Herrera, (2014) con ciertas modificaciones. Se tomaron en cuenta las variables fijas (Tabla 13) para definir el tipo de sedimentador a diseñar, de acuerdo con el origen del agua residual a tratar.

**Tabla 13**

*Parámetros para el diseño de los sedimentadores*

Variables fijas	Denominación	Valor	Unidades
<b>Caudal de entrada</b>	$Q_{in}$	20	$Lh^{-1}$
<b>Caudal de salida</b>	$Q_{out}$	20	$Lh^{-1}$
<b>Volumen de trabajo</b>	V	50	L
<b>Velocidad promedio de sedimentación heces</b>	$V_s$	3,2	$cm s^{-1}$

*Nota.* Los valores de V y Q plasmados en la tabla fueron adaptados de acuerdo con el diseño de los investigadores. El valor de  $V_s$  se obtuvo de (Cromey et al., 2002).

#### 3.4.3.1 Tiempo de retención hidráulica HRT

Para calcular este parámetro se empleó la ecuación (5) descrita por Metcalf & Eddy, (2003).

$$HRT = \frac{V}{Q} \quad (5)$$

Donde:

HRT: tiempo de retención hidráulica h

V: volumen (L) Tabla 13

Q: caudal (Lh<sup>-1</sup>) Tabla 13

Obteniendo el siguiente resultado:

$$HRT = \frac{50}{20}$$

$$HRT = 2,5h$$

### 3.4.3.2 Área superficial

Este parámetro permitió definir el área disponible para el depósito de los sólidos, el cálculo se lo realizó empleando la ecuación 6 descrita por Rincón & Herrera, (2014).

$$As = \frac{Q}{Vs} \quad (6)$$

Donde:

As: Área superficial (cm<sup>2</sup>)

Q: caudal (lh<sup>-1</sup>) Tabla 13

Vs: velocidad de sedimentación de heces (cm s<sup>-1</sup>) Tabla 13

En el caudal, se realizó la conversión de lh<sup>-1</sup> a cm<sup>3</sup>s<sup>-1</sup> obteniendo un caudal de 0,28cm<sup>3</sup>s<sup>-1</sup>.

Al reemplazar los valores se obtiene que:

$$As = \frac{0,28}{3,2}$$

$$As = 0,08 \text{ cm}^2$$

### 3.4.3.3 Carga superficial

Para el cálculo de este parámetro se aplicó la ecuación 7 descrita por Rincón & Herrera, (2014). Este parámetro permitió definir la velocidad de sedimentación de una partícula en un caudal determinado.

$$Cs = \frac{Q}{As} \quad (7)$$

Donde:

Cs: carga superficial ( $\text{cms}^{-1}$ )

Q: caudal ( $\text{cm}^3\text{s}^{-1}$ ) Tabla 13

As: área superficial ( $\text{cm}^2$ ) apartado 3.4.3.3

Reemplazando los valores se obtiene que:

$$Cs = \frac{0,28}{0,08}$$

$$Cs = 3,5 \text{ cms}^{-1}$$

### 3.4.4 Parámetros de diseño del biofiltro: Variables fijas

Para el diseño de los biofiltros se aplicó la metodología detallada por Rincón & Herrera, (2014) con ciertas modificaciones, consideraron las variables plasmadas en la Tabla 14.

**Tabla 14**

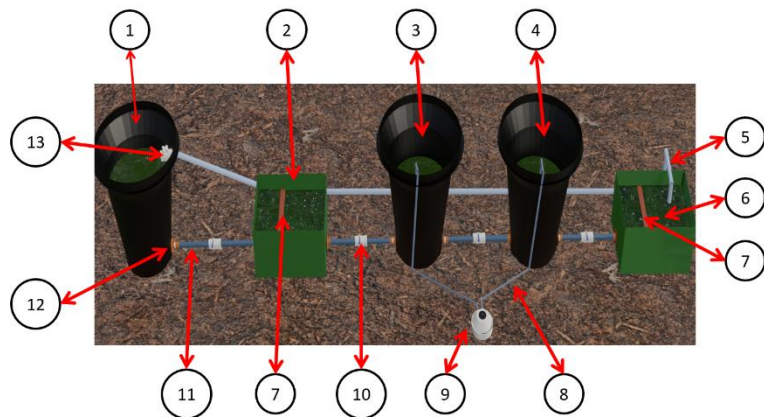
*Parámetros para el diseño de biofiltros 1 y 2*

VARIABLES FIJAS	DENOMINACIÓN	VALOR	UNIDADES
Caudal	Qi	20	Lh <sup>-1</sup>
Caudal salida	Qo	20	Lh <sup>-1</sup>
Volumen de trabajo	V	40	L
Tiempo de retención hidráulica	HRT	2	h



Una vez definidos los datos, se desarrolló la construcción física de todas las operaciones unitarias, empleando los materiales descritos en el Anexo 5. En primer lugar, se realizaron dos agujeros en la parte inferior de dos bidones plásticos de 67,4 L de capacidad. Los agujeros se hicieron empleando un sacabocados marca Truper 28.5 mm<sup>-1</sup> de 1/8 que estaba incorporado a un taladro “Bosch GSB Profesional”. A continuación, se colocó un adaptador de tanque en cada orificio; se realizaron las conexiones del sistema adaptando llaves de paso en una tubería de 3/4 marca Plastigama. Posteriormente, se colocaron las conexiones en los adaptadores, esto permitió el control del caudal en el sistema. Se adaptaron 2 recipientes rectangulares (sedimentadores) de 70 L en las conexiones desarrolladas, realizando un proceso similar al de los bidones. En el proceso de recirculación de agua se empleó una bomba SOBO® WP-5000 en el interior del sedimentador 2, permitiendo que el agua vuelva al bidón inicial y el caudal de recirculación fue controlado por una llave de agua. El sistema de aireación de las bacterias degradadoras se desarrolló empleando una bomba de pecera SOBO® SB-860A, conectando mangueras plásticas y difusores en cada uno de los biofiltros. Finalmente, se colocó el agua de la acuicultura en todo el sistema, con los volúmenes obtenidos en el Excel® (60 L tanque de distribución, 50 L sedimentadores y 40 L biofiltros), el diseño completo del sistema se observa en la Figura 8.

1	Tanque de distribución
2	Sedimentadores
3	Biofiltro de biobolas
4	Biofiltro de tapas de botella
5	Manguera de recirculación
6	Sedimentador con bomba de recirculación
7	Barrera de sedimento
8	Manguera de aireación
9	Bomba de aireación
10	Llave de paso
11	Tubería 3/4
12	Adaptadores de Tanque
13	Llave de paso



*Figura 8.* Principales componentes del sistema de tratamiento. El tanque (componente 1) permitió la distribución de agua simulada con Yara Tera Kristalon Green, los sedimentadores (componente 2) la retención de sólidos y finalmente la parte 3 y 4 como degradadores

### **3.5 Construcción del sistema hidropónico**

Para determinar la viabilidad del agua tratada, se diseñó un sistema hidropónico de raíz flotante, mediante las especificaciones de Goddek, (2019) con los siguientes cambios, para el diseño, se utilizaron 3 recipientes de 30 L de capacidad y se colocaron 21 L de agua en cada uno de ellos, el volumen de trabajo se determinó mediante las fórmulas geométricas descritas en el Anexo 4.

Para realizar la comparación, se efectuaron los siguientes tratamientos: A) agua tratada por el sistema + una solución nutritiva. B) agua procedente de la piscina de las tilapias y C) Agua tratada por el sistema. En cada recipiente se colocaron 10 lechugas sobre una hoja de poliestireno expandido previamente perforada. A continuación, se instaló un sistema de aireación mediante una bomba “JAD® SC-7500” y piedras difusoras. Finalmente se midieron los parámetros físicos empleando el pH metro “Milwaukee pH 51” y multiparámetro “Milwaukee EC 59”. El cultivo hidropónico se mantuvo durante 20 días por cada repetición.

### **3.6 Identificación de los microorganismos desarrollados en el biofilm**

La identificación de microorganismos se realizó en los laboratorios de biotecnología aplicada de la Universidad Técnica del Norte. Para esto se realizó la caracterización morfológica y la detección mediante pruebas bioquímicas.

#### **3.6.1 Identificación morfológica de los microorganismos**

La identificación morfológica se realizó siguiendo los protocolos sugeridos por el laboratorio de biotecnología aplicada UTN junto con la metodología descrita por Tagesu, (2018). Para empezar, se obtuvo una muestra de biobolas y tapas de botella por cada repetición, se realizó un proceso de dilución con solución salina hasta  $10^{-8}$ , debido a la gran cantidad de bacterias presentes en el biofilm. Finalmente, las diluciones se cultivaron en cajas Petri con medio Agar Nutriente y se guardaron en una incubadora marca “BIOBASE” durante 24 h a una temperatura de 36 °C.

Una vez que se visualizó un crecimiento bacteriano, se seleccionaron colonias que fueran diferentes entre sí para realizar un proceso de resiembra, este proceso se efectuó varias veces hasta obtener un cultivo puro en caja Petri, una vez obtenido el cultivo, se desarrolló la prueba de identificación morfológica utilizando el proceso de Tinción de Gram y se observó en un microscopio marca “Leica”.

### **3.6.2 Identificación de microorganismos mediante pruebas bioquímicas**

Para la identificación bioquímica se realizaron protocolos siguiendo el formato sugerido por el laboratorio de biotecnología aplica de la UTN, además se tomó en base la metodología descrita por Al-Dhabaan, (2019); Bailón-Lira et al., (2003). A partir de las cepas aisladas, se efectuaron 4 tipos de pruebas bioquímicas: Oxido-reducción, Catalasa, SIM y Citrato.

### **3.7 Evaluación de la eficiencia de la remoción de nitrógeno**

Para la evaluación de la eficiencia de remoción de los biofiltros se empleó la ecuación 8 descrita por Metcalf, (2000) y Guzmán, (2014). Utilizando las concentraciones de entrada y salida de  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2$  y  $\text{NO}_3$  se obtuvo el % de N removido.

$$\%N = \frac{(N_{in} - N_{out})}{N_{in}} * 100 \quad (8)$$

Donde:

%N= Porcentaje de remoción de nitrógeno

$N_{in}$ = Nitrógeno en el influente (mg)

$N_{out}$ = Nitrógeno en el efluente (mg)

#### **3.7.1 Producción de biomasa activa**

El sistema manejó un tratamiento de cultivo fijo con retención de biomasa, debido a esto se realizó un análisis productivo de biomasa aplicando las ecuaciones descritas por Martínez, (2010). En primer lugar, se efectuó el cálculo de la biomasa generado en los biofiltros para lo cual se aplicó la ecuación 9.

$$X = \frac{SRT}{HRT} \frac{Y(S_i - S)}{1 + k_d \cdot SRT} (1 + f_d \cdot k_d \cdot SRT) \quad (9)$$

Donde:

X= Biomasa producida (mgVSS/mg bsCOD.d)

SRT= Tiempo de retención de sólidos Biofiltro 1 (15,63 h)

SRT= Tiempo de retención de sólidos Biofiltro 2 (11,25 h)

HRT= Tiempo de retención hidráulica (2 h)

Y= Rendimiento (0,4 mgVSS/mg bsCOD.) (Fall et al., 2014)

S<sub>i</sub>= Sustrato de entrada (mg)

S= Sustrato de salida (mg)

K<sub>d</sub>= Constante de decaimiento (0,0075 mgVSS/mg bsCOD.d) (Fall et al., 2014)

F<sub>d</sub>= Restos celulares (0,1) (Metcalf & Eddy, 2003)

Posteriormente, se desarrolló el cálculo de la producción de biomasa activa tomando en cuenta parámetros de crecimiento, decaimiento, restos celulares y fracción no biodegradable aplicando la ecuación 10, esta fórmula permitió determinar la producción de biomasa en los biofiltros a partir de la oxidación del NH<sub>4</sub>.

$$VSS = Yrsu - kdX + fdkdX + \frac{Q}{V} Xnbi \quad (10)$$

Donde:

VSS= Biomasa activa (mgVSS.L/d)

Yrsu= Crecimiento en bsCOD (mg VSS/g bsCOD)

K<sub>d</sub>= Constante de decaimiento (0,17 mgVSS/mg bsCOD.d)

F<sub>d</sub>= Restos celulares (0,1)

X= Biomasa producida (mgVSS/mg bsCOD.d)

Q= Caudal (20 Lh<sup>-1</sup>)

V= Volumen (40 L)

X<sub>nb,i</sub>= Fracción no biodegradable (1,5 mg)

### 3.7.2 Producción de sólidos totales

Los sólidos suspendidos totales hacen referencia a la producción global de sólidos tomando en cuenta factores importantes como la biomasa activa, restos celulares y fracción no biodegradable para el cálculo se empleó la ecuación 11.

$$X_t = \frac{SRT}{HRT} \frac{Y(S_i - S)}{1 + k_d * SRT} (1 + f_d k_d SRT) + \frac{SRT}{HRT} X_{nb,i} \quad (11)$$

Donde:

X<sub>t</sub>: Sólidos totales

SRT: Tiempo de retención de sólidos (h)

HRT: Tiempo de retención hidráulica (h)

Y: Rendimiento (mgVSS/mg bsCOD)

S<sub>i</sub>: Sustrato de entrada (mg)

S: Sustrato de salida (mg)

k<sub>d</sub>: Constante de decaimiento (h<sup>-1</sup>)

f<sub>d</sub>: Restos celulares (mg)

X<sub>nb,i</sub>: Fracción no biodegradable (mg)

Los resultados obtenidos tras resolver la ecuación anterior fueron aplicados para obtener finalmente la producción total de sólidos mediante la ecuación 12.

$$P_{x,VSS} = \frac{V}{SRT} X_t \quad (12)$$

Donde:

P<sub>x,VSS</sub>: Producción total de sólidos suspendidos volátiles

V: Volumen (L)

SRT: Tiempo de retención de sólidos (h)

X<sub>t</sub>: Biomasa total producida (mgVSS/mg bsCOD.d)

### 3.7.3 Requerimiento de oxígeno

El oxígeno al ser el receptor de electrones con mayor potencial cumple un rol importante en el tratamiento de aguas residuales, para determinar el requerimiento de este elemento se empleó la ecuación 13 descrita por Martínez, (2010) con una ligera modificación.

$$R_o = Q(S_i - S) - 1.42 * (P_{x,VSS} - QX_{nb,i}) \quad (13)$$

Donde:

R<sub>o</sub>: Requerimiento de oxígeno (mgd<sup>-1</sup>)

S<sub>i</sub>: Sustrato de entrada (mg)

S: Sustrato de salida (mg)

P<sub>x,VSS</sub>: Producción total de sólidos suspendidos volátiles (mgVSSh<sup>-1</sup>)

Q: Caudal (Lh<sup>-1</sup>)

X<sub>nb,i</sub>: Fracción no biodegradable (mg)

### 3.7.4 Rendimiento observado

Este parámetro permite calcular la producción de biomasa en función de la degradación del sustrato (NH<sub>4</sub>), para determinar el rendimiento observado se empleó la ecuación 14.

$$Y_{obs} = \frac{P_{x,VSS}}{Q(S_i - S)} \quad (14)$$

Donde:

Y<sub>obs</sub>: Rendimiento observado (mgVSS/mgCOD)

$P_x, VSS$ : Producción total de sólidos suspendidos volátiles ( $mgVSSh^{-1}$ )

$S_i$ : Sustrato de entrada (mg)

$S$ : Sustrato de salida (mg)

### 3.8 Análisis de datos, diseño de las variables de evaluación

El análisis se realizó con los datos obtenidos en las 3 operaciones unitarias (sedimentador, biofiltro A y biofiltro B). Primero, se determinó si los datos cumplieron los supuestos (homogeneidad, independencia y normalidad), después se seleccionó el tipo de estadística (paramétrica o no paramétrica) aplicando un factor en estudio. El factor consistió en dos tratamientos, la alimentación y consumo del  $NH_4/NH_3$ ,  $NO_2$ ,  $NO_3$  (Tabla 15).

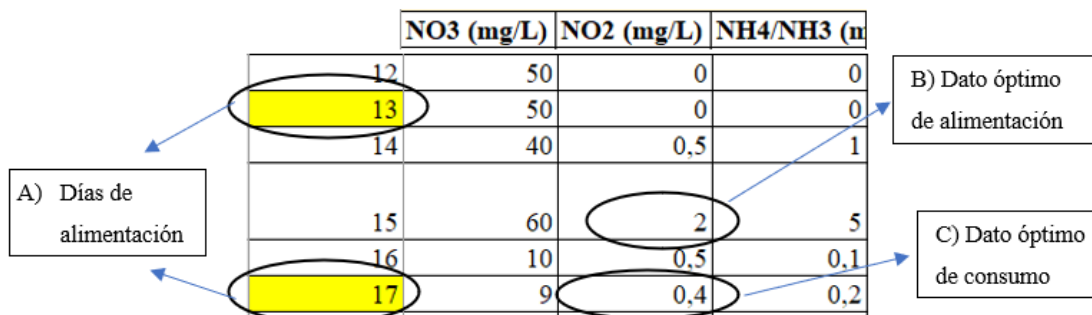
**Tabla 15**

*Tratamientos aplicados para el diseño experimental los biofiltros*

Tratamiento	Codificación	Significado
t1	A	Alimentación de nutrientes
t2	C	Consumo de nutrientes

*Nota.* Los tratamientos se aplican para cada nutriente en estudio  $NH_4/NH_3$ ,  $NO_2$ ,  $NO_3$ .

El diseño experimental en cada operación constó de 3 repeticiones con una duración de 30 días cada una, la tercera repetición se omitió debido a la gran variabilidad de los datos, además se excluyeron los datos de  $PO_4$  debido a que no presentaron una reducción en sus concentraciones. Se realizó una depuración de datos para establecer los días de alimentación y consumo de nutrientes en el sistema, la alimentación correspondió a las concentraciones más elevadas y el consumo correspondió a las concentraciones más bajas (Figura 9)



**Figura 9.** Sección de datos de alimentación y consumo de nutrientes en el sistema. En la figura se muestra 2 días de alimentación (A), después de algunos días los nutrientes llegan a estabilizarse en el sistema (B) y luego bajan hasta una cantidad cercana a cero (C) aquí se genera una nueva alimentación; entonces, los datos B y C son los idóneos para realizar el estadístico.

Este proceso permitió reducir a 24 unidades experimentales por repetición, como se evidencia en la Tabla 16.

**Tabla 16**

*Diseño de las unidades experimentales de cada biofiltro*

<b>Operación Unitaria</b>	<b>R1</b>		<b>R2</b>	
Biofiltro 1	T1	T2	T2	T1
	T2	T1	T1	T2
	T1	T2	T2	T1
	T2	T1	T1	T2
	T1	T2	T2	T1
	T2	T1	T1	T2
Biofiltro 2	T1	T2	T2	T1
	T2	T1	T1	T2
	T1	T2	T2	T1
	T2	T1	T1	T2
	T1	T2	T2	T1
	T2	T1	T1	T2



## CAPÍTULO IV

### 4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1 Análisis fisicoquímicos y microbiológico de las aguas residuales piscícolas

En la tabla 17 se muestra los análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las aguas residuales de la piscícola de la comunidad El Rosal.

**Tabla 17**

*Análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las aguas residuales piscícolas de la comunidad El Rosal*

PARÁMETRO	UNIDADES	RESULTADO
Amonio	mgL <sup>-1</sup>	< 0,5
Nitratos	mgL <sup>-1</sup>	4,40 ± 0,26
Nitritos	mgL <sup>-1</sup>	<0,05
Fosfatos	mgL <sup>-1</sup>	<0,05
Conteo de bacterias aeróbicas totales	UFC/ml	>2000
Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO <sub>5</sub>	mgL <sup>-1</sup>	32 ± 1
Demanda Química de Oxígeno DQO	mgL <sup>-1</sup>	<5
Color	Pto. Co	0
Conductividad eléctrica	uScm <sup>-1</sup>	252±50 25°C
Acidez	mgL <sup>-1</sup>	22,57 ± 1,35
Alcalinidad (CaCO <sub>3</sub> ) <sup>2-</sup>	mgL <sup>-1</sup>	144,05 ± 8,18

Los valores presentados en la Tabla 17 se obtuvieron de una muestra de 2,4 L proveniente de la piscícola. Las concentraciones de NH<sub>4</sub>/NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> y PO<sub>4</sub> presentaron niveles bajos en los análisis debido a las condiciones de cultivo, como: Recambios de agua residual cada 8 días, densidad de siembra pequeña (23 peces / 45 m<sup>3</sup>) y el diseño de construcción de la piscina piscícola. Por otro lado, la carga de bacterias aerobias presentó niveles >2000 *UFC/ml*, estos niveles se generaron debido a las excretas de los peces, las cuales sostienen un aporte significativo de microorganismos en el agua, además que influyen los tipos de bacterias desarrolladas en el agua residual.

En relación a los niveles bajos de  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  y  $\text{PO}_4$  obtenidos en el análisis (Tabla 17), MAATE, (2015) en su Norma de Calidad Ambiental y de descarga de Efluentes menciona que un agua residual acuícola se considera libre de contaminación, siempre que no supere las siguientes concentraciones: Nitrógeno total ( $\text{NH}_4/\text{NH}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$ ) > 80 mg/L;  $\text{PO}_4$  > 10 mg/L; DBO > 20 mg/L; DQO > 40 mg/L; acidez y alcalinidad entre 6 a 10 pH. Por otra parte, los niveles bajos de contaminación obtenidos en los resultados pudieron tener relación con la densidad de siembra, los piscicultores utilizaban alrededor de 45 m<sup>3</sup> para cultivar entre 22 a 23 tilapias, según Yustiati et al., (2020) para una contaminación de 0,023 mg/L de  $\text{NH}_4$  se necesitan 30 tilapias en un volumen de 0,5 m<sup>3</sup>, caso contrario el agua puede utilizarse con varios cultivos. Por otra parte, la estructura de la piscina también influyó en los niveles contaminantes, debido a que las piscinas fueron diseñadas con geomembrana, este material permite que se lleve a cabo un proceso satisfactorio de sedimentación facilitando una mejor limpieza al momento que el agua es descartada (Hsieh, 2016).

En relación al número de bacterias aerobias totales Cydzik-Kwiatkowska & Zielińska, (2016) en su estudio del metabolismo bacteriano en aguas residuales, mencionan que el crecimiento de microorganismos en efluentes de origen piscícola es superior cuando existe una acumulación de nitrógeno y componentes orgánicos, en este experimento la acumulación pudo verse influenciada por el material de la piscina (geomembrana), como lo explica Hsieh, (2016) este material permite que todos los desechos se depositen en el fondo, en relación a la toma de muestras para el análisis microbiológico, el líquido se tomó en la tubería de descargas y en gran parte la acumulación de desechos, por tal motivo se infiere que el agua haya presentado cargas elevadas de microorganismos dando como resultado un conteo de >2000 *UFC/ml* (Tabla 17).

No obstante, a pesar de que el efluente superó la cantidad sugerida por el laboratorio (100 *UFC/ml*), Douterelo et al., (2014), en su estudio de ecología microbiana de los sistemas de distribución de agua potable, sugiere que la presencia elevada de microorganismos pudo haberse generado por “quorum sensing”, este proceso a través de señales que regulan la expresión génica de comunidades bacterianas permite a los microorganismos comunicarse entre sí, desarrollando beneficio al ecosistema en donde habitan; por tal motivo, el estudio afirma que un agua residual con altas cargas bacterianas y bajos nutrientes implica la existencia de variedad de bacterias que

degradan compuestos como el  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$  para su supervivencia, siendo estas bacterias las nitrificadoras, desnitrificadoras y heterótrofas.

Por motivos como la baja concentración de  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$  y la elevada carga microbiana, se decidió generar una simulación de agua residual a través de la bioestimulación, incrementando el crecimiento de las bacterias presentes y los niveles de  $\text{NH}_4$ ,  $\text{PO}_4$  en el efluente piscícola.

## 4.2 Desarrollo del sistema de tratamiento de agua residual acuícola con biofiltro

### 4.2.1 Análisis de nutrientes para la simulación de un agua residual bioestimulante

En esta sección se demuestra que los 100 g de fertilizante sugeridos por la empresa YARA lograron aportar los nutrientes necesarios para el crecimiento de las probables bacterias degradadoras en el biorreactor. Primero, se obtuvieron los elementos de la piscina de tilapia con las variables descritas en la sección 3.1, en vista de que se hizo un cálculo teórico, la Tabla 18 representa las posibles concentraciones de elementos (g) existentes en la piscina de tilapia (L).

**Tabla 18**

*Elementos faltantes en el agua residual piscícola*

Elemento	Concentración ( $\text{gL}^{-1}$ )	Elemento	Concentración ( $\text{gL}^{-1}$ )
<b>C</b>	$2,07 \times 10^{-02}$	<b>K</b>	$5,26 \times 10^{-04}$
<b>N</b>	$4,41 \times 10^{-03}$	<b>Fe</b>	$3,91 \times 10^{-04}$
<b>Ca</b>	$4,32 \times 10^{-03}$	<b>Zn</b>	$2,92 \times 10^{-05}$
<b>P</b>	$7,75 \times 10^{-03}$	<b>Mn</b>	$1,07 \times 10^{-05}$
<b>Mg</b>	$2,95 \times 10^{-04}$	<b>Cu</b>	$3,40 \times 10^{-06}$
<b>S</b>	$3,83 \times 10^{-03}$	<b>Co</b>	$1,87 \times 10^{-05}$
<b>Na</b>	$4,41 \times 10^{-03}$	<b>I</b>	$2,06 \times 10^{-05}$
<b>Cl</b>	$6,81 \times 10^{-03}$	<b>Cr</b>	$4,65 \times 10^{-06}$

Por otra parte, se calcularon los elementos presentes en el medio de cultivo (Tabla 19).

**Tabla 19***Elementos calculados a partir del medio de cultivo diseñado*

<b>Elemento</b>	<b>Concentración (gL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Elemento</b>	<b>Concentración (gL<sup>-1</sup>)</b>
<b>C</b>	0,18	<b>S</b>	1,14
<b>H</b>	0,29	<b>Mg</b>	0,03
<b>O</b>	6,07	<b>Ca</b>	5,25
<b>N</b>	0,69	<b>P</b>	1,33
<b>Fe</b>	0,12	<b>Mo</b>	0,47
<b>Na</b>	0,46	<b>Zn</b>	0,40
<b>Cl</b>	8,75	<b>Cu</b>	0,08
<b>K</b>	1,68		

Una vez obtenidos los elementos de la piscina y del medio de cultivo, se realizó un cálculo en el cual se determinó la proporción de nutrientes faltantes al agua residual para que las bacterias degradadoras puedan desarrollarse (Tabla 20).

**Tabla 20***Elementos faltantes en el agua residual piscícola*

<b>Elemento</b>	<b>Concentración de componentes faltante gL<sup>-1</sup></b>	<b>Elemento</b>	<b>Concentración de componentes faltante gL<sup>-1</sup></b>
<b>C</b>	0,16	<b>K</b>	1,68
<b>N</b>	0,69	<b>Fe</b>	0,12
<b>Ca</b>	5,25	<b>Zn</b>	0,40
<b>P</b>	1,32	<b>Mn</b>	1,06x10 <sup>-5</sup>
<b>Mg</b>	0,03	<b>Cu</b>	0,08
<b>S</b>	1,14	<b>Co</b>	1,87x10 <sup>-5</sup>
<b>Na</b>	0,45	<b>I</b>	2,06x10 <sup>-5</sup>
<b>Cl</b>	8,75	<b>Cr</b>	4,65x10 <sup>-6</sup>

*Nota.* Las cantidades faltantes se obtuvieron de la diferencia entre los elementos de la tabla 19 con la tabla 18 (medio de cultivo-piscina).

Finalmente, se realizó un análisis de los elementos faltantes en la piscina (Tabla 20) con la concentración de elementos que aportaban los 100g del fertilizante Yara Green (Tabla 21), el resultado de este proceso determinó que la medida recomendada si aportó los nutrientes óptimos

en los 50 L, sin embargo, hubo elementos que el fertilizante no pudo aportar, los cuales se describen en la Tabla 21.

**Tabla 21**

*Análisis comparativo del fertilizante y agua residual de las piscinas de la comunidad El Rosal*

Elementos	Cantidad en 100 g/L de Fertilizante Yara Green	Componente faltante en la piscina piscícola (g/L)	Resultado de nutrientes en 50L
C	x	0,16	No aumenta
N	18	0,69	+3,46x10 <sup>-1</sup>
P	7,86	1,32	+1,31x10 <sup>-1</sup>
K	14,94	1,68	+2,65x10 <sup>-1</sup>
Mg	1,81	0,03	+3,55x10 <sup>-2</sup>
S	6	1,14	+9,72x10 <sup>-2</sup>
B	0,03	x	+5x10 <sup>-4</sup>
Cu	0,01	0,08	-1,39x10 <sup>-3</sup>
Fe	0,07	0,12	-9,46x10 <sup>-4</sup>
Mn	0,04	1,07x10 <sup>-5</sup>	+8x10 <sup>-4</sup>
Mo	4x10 <sup>-3</sup>	0,47	-9,24x10 <sup>-3</sup>
Zn	2,5x10 <sup>-3</sup>	0,40	-8,05x10 <sup>-3</sup>
Ca	x	5,25	No aumenta
Na	x	0,45	No aumenta
Cl	x	8,75	No aumenta
Mn	x	1,07x10 <sup>-5</sup>	No aumenta
Co	x	1,87x10 <sup>-5</sup>	No aumenta
I	x	2,06x10 <sup>-5</sup>	No aumenta
Cr	x	4,65x10 <sup>-6</sup>	No aumenta

*Nota.* Los cuadros con (x) representan los elementos no existentes, los cuadros azules son elementos que no logró aportar el fertilizante Yara Green debido a que no los contenía en su composición, los cuadros naranjas son la cantidad de elementos que le faltó al fertilizante para aportar los gramos de nutrientes adecuados y los cuadros verdes son elementos que excedió el fertilizante en su aportación por lo que se considera como elementos óptimos.

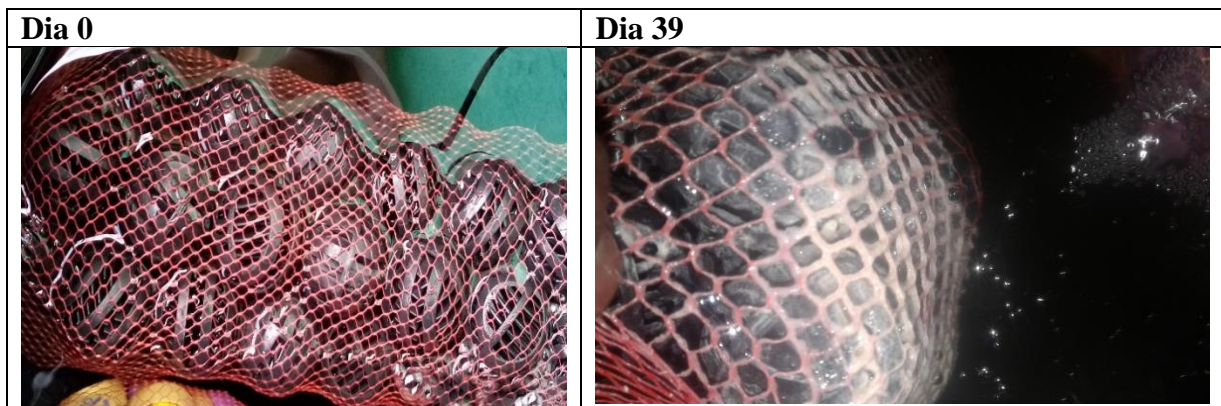
En la tabla 21 se ilustra algunos componentes que el fertilizante no logró aportar, Kalantary et al., (2014), mencionan que, a excepción del carbono, los elementos no aportados por el fertilizante se consideran micronutrientes, los cuales no afectan al desarrollo de las bacterias

degradadoras, siempre que exista la presencia de macronutrientes (N, O, P, S y C ) en especial el nitrógeno.

En relación a la fuente de carbono, se aplicó bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) en el biorreactor por sugerencia de Chawley et al., (2020), en su estudio de crecimiento de cultivos planctónicos y de biopelículas de *Nitrosomonas mobilis* el investigador alude, que la falta de carbono en procesos de bioestimulación de bacterias nitrificantes puede ser ajustado con  $\text{NaHCO}_3$ , debido a que este compuesto es preferido por dichas bacterias y además funciona como amortiguador de pH. Por tal motivo, la cantidad de 100 g de Yara Tera Kristalón Green más el  $\text{NaHCO}_3$  implementados en el biorreactor, permitieron un proceso satisfactorio de bioestimulación.

#### 4.2.2 Degradación de nutrientes en el biorreactor con agua residual bioestimulada

En esta sección, se presentan los procesos generados en el biorreactor demostrando la presencia de bacterias biodegradadoras y degradación de componentes ( $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{PO}_4$ ). Una vez confirmado que la cantidad de 100 g presentaba un aporte adecuado de nutrientes, se dispuso en los 50 L de agua residual. A partir del primer día de funcionamiento, los nutrientes alcanzaron concentraciones de  $\text{NH}_4/\text{NH}_3 > 10 \text{ mgL}^{-1}$ ,  $\text{NO}_2 1 \text{ mgL}^{-1}$  y  $\text{PO}_4 > 2 \text{ mgL}^{-1}$ , esto fue medido con las pruebas colorimétricas. En el transcurso de los días, se evidenció un crecimiento de partículas en las biobolas y en tapas de botella, esto confirmó el desarrollo de un biofilm en las superficies plásticas colocadas en el biorreactor (Figura 10), esta afirmación se complementó con los análisis microbiológicos del literal 4.3.



**Figura 10.** Fijación de microorganismos en las biobolas. En el día 39 se desarrollaron partículas marrones en todas las superficies plásticas

El  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$  mantuvo concentraciones elevadas por 38 días, no obstante, en el día 39 se produjo una reducción drástica de este nutriente, esto pudo deberse a procesos metabólicos como la nitrificación, adaptación de los microorganismos degradadores y el diseño del biorreactor, por lo que la cantidad de nutrientes disminuyó a valores cercanos a  $0 \text{ mgL}^{-1}$ .

Con respecto al  $\text{NO}_2$  (Figura 11), el incremento de este nutriente fue diferente en comparación al  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$ , en el día 7 presentó una elevación y en el día 9 hubo un descenso, esto posiblemente se debió a una inadecuada dilución del fertilizante Yara Green, algunas partículas del fertilizante se depositaban en el fondo y otras se distribuían en la fracción líquida del biorreactor. A partir del día 15 hasta el día 19 las concentraciones llegaron a su pico más alto cuyo descenso se presentó en el día 29, probablemente esto ocurrió por la adaptación de los microorganismos, generando el consumo de todos los nutrientes evaluados hasta alcanzar niveles cercanos a  $0 \text{ mgL}^{-1}$  en el día 39, como lo expresan John et al., (2020) y Barman, (2020), los componentes se reducen debido a la presencia de microorganismos nitrificantes o bacterias heterótrofas.



**Figura 11.** Degradación del componente  $\text{NO}_2$  en el biorreactor

Con relación al  $\text{PO}_4$ , el ascenso de nutrientes comenzó desde el primer día de aplicación del fertilizante y tuvo un comportamiento similar al  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$ , alcanzando concentraciones cercanas a  $0 \text{ mgL}^{-1}$  el día 39, esto se generó posiblemente por el diseño del biorreactor el cual

contenía una fase anóxica, este tipo de fases son ideales para el crecimiento de microorganismos degradadoras de componentes fosforados.

La reducción simultánea de los componentes  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$  y  $\text{PO}_4$  demostró la presencia de bacterias degradadoras, se presume que este proceso se debió a dos motivos, el diseño del biorreactor y las bacterias que pueden generar las tilapias. Rurangwa & Verdegem, (2015) en su estudio de microorganismos de sistemas de recirculación acuícola, menciona que algunos géneros como *Pseudomona spp.*, *Acinetobacter spp.* y *Bacillus spp.* son los microorganismos que se presentan en su mayoría en los biofiltros de agua dulce, la presencia de este tipo de bacterias es importante debido a que son generadas por los mismos peces a través de sus excretas (orina y heces). Los géneros mencionados, se han utilizado en estudios de reducción de nutrientes en la acuicultura, X. Li et al., (2021) explica que los procesos de biorremediación con consorcios bacterianos incluyendo proteobacterias (*Pseudomona spp.*) y *Bacillus spp.* han permitido el control de las concentraciones de nitrógeno y fósforo en la acuicultura, no obstante, este consorcio tiende a desestabilizar la reducción de nutrientes como lo sucedido con el  $\text{NO}_2$ , debido a que el consumo de carbono, nitrógeno y fósforo responde de diferente manera dependiendo el metabolismo de cada bacteria (John et al., 2020), en respuesta a este comportamiento los filos más dominantes llegan a ser algunas proteobacterias y actinobacterias, generando un efecto negativo en comunidades que pueden ser beneficiosas en la reducción de nutrientes ( $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ ). Sin embargo, a pesar de que algunas proteobacterias utilizan los contaminantes  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$  para su metabolismo, este efecto negativo se sigue estudiando (Y. Chen et al., 2017), debido a que esta influencia dominante se puede estar desarrollando porque varias comunidades que trabajan en la acuicultura utilizan probióticos para mantener estables los parámetros del agua.

En relación con el diseño del biorreactor y la degradación simultánea de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ , F. Wang et al., (2012) y Bellucci et al., (2013), concuerdan que un biorreactor que presenta una zona aeróbica y una anóxica como el desarrollado en este experimento, permite el crecimiento de bacterias degradadoras de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ . No obstante, la construcción de este diseño “hibrido” responde como un sistema de nitrificación parcial y desnitrificación (SNAD) como lo menciona Lu et al., (2020), este sistema funciona cuando existen altos niveles de nitrógeno los cuales se alcanzaron con el fertilizante y si el agua posee una baja concentración de DQO como se ilustró



en los resultados de laboratorio (Tabla 21), esta combinación permite generar una oxidación biológica del nitrógeno (nitrificación) y procesos anammox. H. Chen et al., (2009) alude que la distribución de aire en un biorreactor permite que las bacterias oxiden el amonio y si el agua posee niveles bajos de DQO permite que sea un excelente donante de electrones, el cual permite reducir el nitrato generando una desnitrificación. Finalmente, la combinación de las bacterias presentes en el agua residual junto con biorreactores “híbridos” SNAD, puede generar una coexistencia armónica dando como resultado la reducción total de componentes nitrogenados y fosforados (X. Li et al., 2021; Lu et al., 2020).

#### 4.2.3 Funcionamiento del sistema de tratamiento de agua residual con sistema de biofiltros

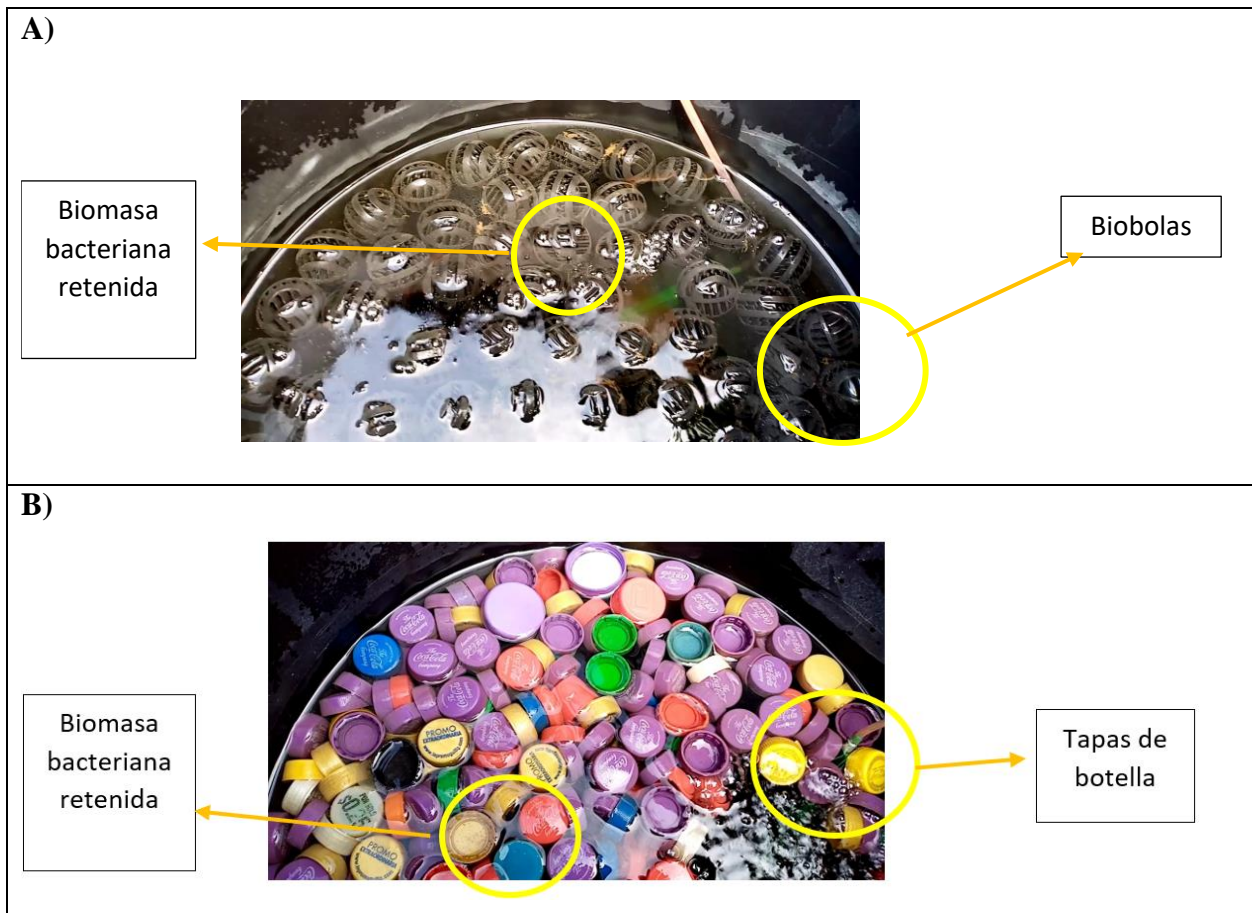
En esta sección se muestra como el sistema de tratamiento diseñado junto con biofiltros, cumplen con la función de reducción en la concentración de nutrientes, dando un efluente apto para su reutilización en un sistema hidropónico. El tanque de distribución de agua residual cumplió sin problema su doble función, receptor del agua tratada proveniente del sedimentador 2 y distribuidor del fertilizante Yara Green a todo el sistema.

De manera visual, los sedimentadores permitieron una retención de sólidos, esto se afirma debido a que el agua distribuida en el sistema carecía de partículas una vez que el agua entraba en contacto con la barrera de sedimentos (Figura 12), esta retención posiblemente sucedió debido al material con el que se elaboró la barrera (madera) y por las propiedades propias de un sistema de retención de biomasa.



**Figura 12.** Sedimentador 2. La barrera de sedimentos logró retener las partículas presentes, luego el agua fue distribuida al tanque inicial

Los biofiltros con biobolas y tapas de botella retuvieron partículas en sus superficies, por lo que se deduce que es biomasa fijada (Figura 13.A y B). El trabajo conjunto de estos biofiltros, permitieron la reducción de los componentes nitrogenados como se detalla en la sección 4.3, de manera lógica el primer biofiltro constituido por biobolas, recibió los nutrientes contaminantes del tanque de distribución, mientras que el biofiltro 2 recibió el efluente tratado del biofiltro 1.



**Figura 13.** Biofiltros del sistema de tratamiento de agua residual. En las figuras se representan: A) Biofiltro con tapas de botella y B) Biofiltro con biobolas cumpliendo la función de retención de biomasa

El trabajo conjunto de todas las operaciones unitarias permitió el tratamiento del agua residual simulada, con respecto al funcionamiento del sedimentador Lepine et al., (2018) mencionan que al momento de diseñar un sedimentador se debe utilizar materiales como la madera, esto es debido a que este material permite capturar sólidos suspendidos, en ese estudio se demostró que la madera posee la capacidad para retener el 90% de sólidos en sistemas con volúmenes de hasta 150 m<sup>3</sup>, por otra parte López-Rebollar et al., (2021) afirma que el diseño del sedimentador

influencia en el aislamiento de sedimentos, en construcciones donde se coloca la salida en el fondo de la operación y junto con un flujo direccional a la salida (en forma de caída) como lo realizado en este diseño, permite mantener un movimiento homogéneo y uniforme en toda el área del tanque, este movimiento junto con la barrera generó una posible captura de la mayor parte de sedimentos.

En torno al funcionamiento de los biofiltros, Chaudhary et al., (2003) afirma que en sistemas donde se aplican filtros biológicos, siempre se generará una degradación de nutrientes a medida que el agua residual circula por esta operación. No obstante, se debe aplicar materiales porosos para capturar los microorganismos, además se debe conocer el tipo de bacterias que exista en el medio. En el caso de esta investigación, debido a que solo se necesitaba capturar bacterias oxidantes de amonio y nitrito (BAO y BNO) Suantika et al., (2016) y Sikora et al., (2020) concuerdan en que cuando se emplean biobolas junto con tapas de botella como medio para fijar microorganismos, se produce una elevada acumulación de BAO y BNO, en sus estudios, aplicaron los mismos materiales para capturar microorganismos debido a las propiedades de adherencia que posee el material PET (tapas de botella) y PVC (biobolas), dando como resultado un incremento en el proceso de degradación de contaminantes en el efluente. En relación al diseño del biofiltro, se considera a las operaciones con biobolas y tapas como un biorreactor continuo de lecho móvil (MBBR), esto es debido a que se proporciona aireación desde el fondo y se genera una especie de biofilm en una superficie (Figura 14), X. Li et al., (2021); D. hui Liang et al., (2021) concuerdan que las bacterias adecuadas en un biofilm y un biofiltro como el MBBR permitirá la oxidación de los componentes nitrogenados, en el caso de estos biofiltros se obtuvo una degradación eficiente lo cual llevó a alcanzar concentraciones cercanas a 0 mg/L como se explica en la sección 4.3.

En relación con el funcionamiento total, se produjo la disminución de nutrientes en el sistema de agua residual hasta 0 mg/L (sección 4.3), los sedimentadores se presumen que redujeron el paso de sólidos en disposición de su diseño y barrera (Figura 12). Abdel-Raouf et al., (2019) en su estudio sobre metodologías de tratamiento de aguas residuales, manifiesta que los sistemas de tratamiento de aguas residuales generan resultados satisfactorios cuando se componen de 3 partes principales, el investigador lo llama “uso del método tradicional”, este método consiste en emplear procesos físicos (sedimentadores), procesos mecánicos (filtros) y procesos biológicos (bacterias),

por tales motivos se afirma que el diseño total del sistema tuvo una estructura adecuada que permitió el proceso de disminución de nutrientes contaminantes.

### 4.3 Eficiencia del sistema de tratamiento

El análisis de la eficiencia se realizó en tres operaciones unitarias: sedimentador, biofiltros 1 y 2. La toma de muestras de  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ , temperatura, conductividad y pH se efectuó durante 90 días de funcionamiento con recambios de agua realizados cada 30 días. Sin embargo, a partir del día 61 el sistema redujo su capacidad de degradación influenciado por la temperatura, la cual presentó fluctuaciones abruptas en la zona debido al cambio de estación, registrando lluvias en la tarde y noche mientras que en las horas matutinas presentaban fuertes soles. Los cambios climáticos conllevaron a que la temperatura en el interior del sistema también se afectara presentando una diferencia de  $10^\circ\text{C}$  entre máximos y mínimos con una desviación estándar superior a la de las repeticiones 1 y 2 como se muestra en la tabla 22.

**Tabla 22**

*Temperatura registrada durante la investigación en las distintas operaciones unitarias*

Repetición	Operación unitaria	Intervalo de temperatura ( $^\circ\text{C}$ )		Media ( $^\circ\text{C}$ )	Desviación estándar
		Min	Max		
1	Sedimentador	19,4	26,7	22,08	1,51
	Biofiltro 1	18,9	26,5	21,51	1,64
	Biofiltro 2	18,6	26	21,45	1,63
2	Sedimentador	19,2	27,2	22,57	1,95
	Biofiltro 1	18,4	27,4	21,86	2,16
	Biofiltro 2	18,8	27,2	22,26	2,30
3	Sedimentador	19,6	29,5	23,10	2,37
	Biofiltro 1	19,2	29,4	22,66	2,33
	Biofiltro 2	19,2	29,3	22,86	2,49

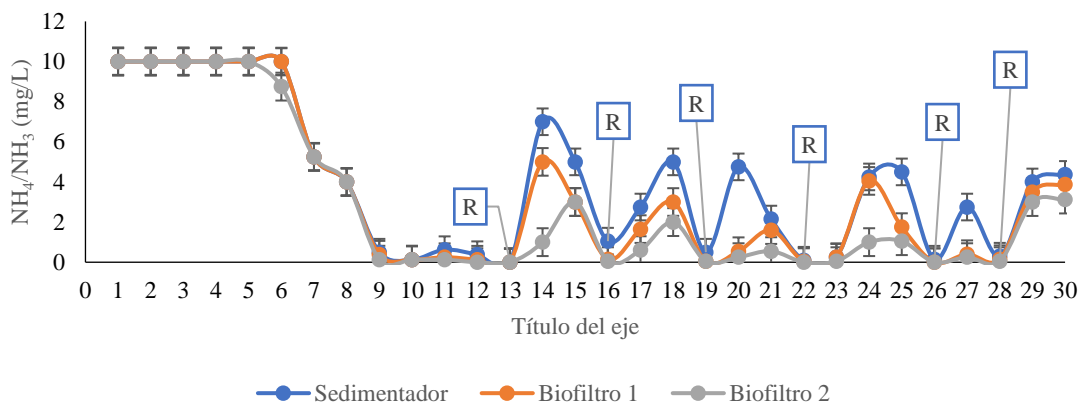
Estas variaciones influyen en el metabolismo del consorcio bacteriano reduciendo la capacidad de multiplicación celular y alterando las velocidades de reacción en la asimilación de compuestos. Metcalf, (2000) menciona que la temperatura además de influir en el metabolismo microbiano también afecta a la velocidad de transferencia de gases, lo cual condiciona la

concentración de  $O_2$  disponible en los biofiltros, el cual es indispensable para llevar a cabo procesos de nitrificación que requiere de este elemento para oxidar el amonio y nitritos.

Además, otro motivo para que se presente una reducción en la eficiencia del sistema a partir del día 61 fue el tiempo de uso de un mismo consorcio bacteriano, el cual pierde la capacidad de degradación de compuestos nitrogenados, el consorcio bacteriano fue funcional durante 99 días tomando en cuenta la etapa de crecimiento. Abu Shmeis, (2018), afirma que en sistemas como el realizado en esta investigación, las poblaciones bacterianas degradadoras son reemplazadas por células que crecen en ambientes hostiles, sin embargo, estas carecen de la capacidad para oxidar el nitrógeno, como resultado se genera una deficiencia en el proceso de tratamiento. A pesar de que estas posibles bacterias empezaron a poblarse por supervivencia, se desconocían los géneros bacterianos que se estaban desarrollando en el sistema. Y. Chen et al., (2017), mencionan que algunas bacterias pueden degradar los componentes nitrogenados por largos periodos, pero a una baja capacidad, generando inestabilidad en los datos de consumo, por razones fisicoquímicas, tiempo de vida y desconocimiento del género bacteriano, se omitieron los datos a partir del día 61 de operación del sistema.

#### **4.3.1 Degradación de amonio**

La concentración de  $NH_4/NH_3$  presentó una reducción a medida que el agua residual atravesó por las distintas operaciones unitarias como se observa en la Figura 19. La concentración en el sedimentador (línea azul) es superior a la del biofiltro 1 (línea naranja) y esta es mayor a la concentración del biofiltro 2 (línea gris) lo cual indica una eliminación progresiva del compuesto  $NH_4/NH_3$  en el sistema, esto debido a la recirculación del agua residual y las actividades metabólicas de los consorcios bacterianos. Es relevante mencionar que en el sedimentador siempre se produjo una acumulación de nutrientes debido a la falta de microorganismos degradadores, por lo que los biofiltros cumplieron su papel de reducir las concentraciones de  $NH_4/NH_3$ .



**Figura 14.** Cinética de consumo de  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$  en las diferentes operaciones unitarias mediante pruebas colorimétricas. El sistema se realimentó hasta el día 30 en cada repetición, se realizaron realimentaciones (R) los días 13, 16, 19, 22, 26, 28.

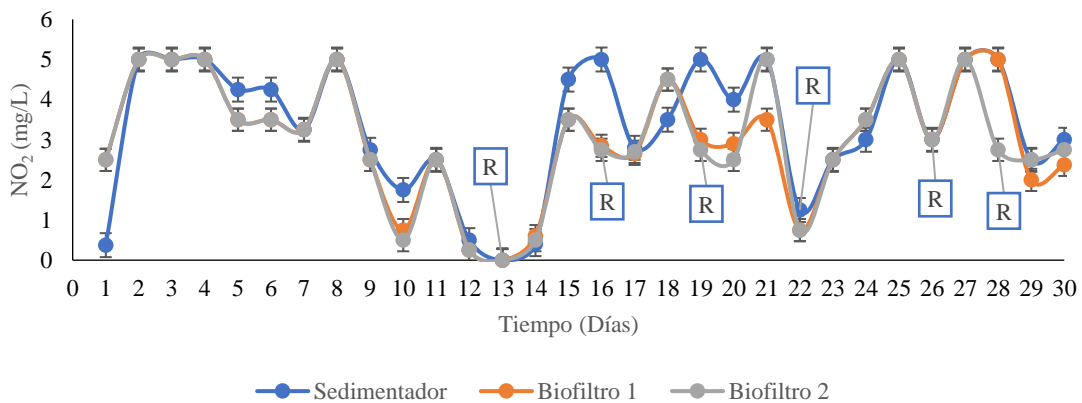
La disminución de  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$  se observó a partir del día 6 (Figura 14), tiempo que necesitó el consorcio bacteriano para adaptarse a las nuevas condiciones y realizar procesos de nitrificación. El incremento de componentes en los días 14, 18, 20, 24, 27 y 30 se generó por la realimentación (Letra R en la Figura 14), esto se realizó cuando la concentración de  $\text{NH}_4$  se aproximaba a los 0 mg/L, colocando 25 g del fertilizante Yara Tera Kristalón Green en los 60 L del recipiente de distribución. La concentración de  $\text{NH}_4$  alcanzó valores cercanos a 1 mg/L a partir del día 9 y llegando cerca a los 0 mg/L en el día 13. En este proceso los iones de  $\text{NH}_4$  son oxidados a componentes de fácil asimilación ambiental como el  $\text{NO}_3$ . Maharjan et al., (2020) describen a este proceso como nitrificación biológica, en el cual, el  $\text{NH}_4$  ingresa por la membrana celular microbiana mediante difusión pasiva hacia el citoplasma, esta molécula es hidrolizada generando un desequilibrio de protones por lo que la bacteria requiere de energía en forma de bombas de potasio para equilibrar el pH intracelular (Y. Liu et al., 2019). La molécula de  $\text{NH}_4$  hidrolizada se une con el ion  $\text{OH}^+$  dando como resultado la formación del  $\text{NO}_2$  y en consecuencia el  $\text{NO}_3$  (D. Wang et al., 2018).

Otro de los motivos para que se produzca un descenso en las concentraciones de  $\text{NH}_4$  en el sistema es debido a la presencia de bacterias amonio oxidantes (BAO), como su nombre lo indica oxidan el  $\text{NH}_4$  a  $\text{NO}_2$  empleando el  $\text{O}_2$  como aceptor de electrones, además, obtienen energía de la oxidación del  $\text{NH}_4$ , dentro de las BAO se encuentran principalmente bacterias del género

*Nitrosomonas spp.* estas son autótrofas y emplean el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono (Soliman & Eldyasti, 2018). Esto permite entender que las bacterias identificadas de los biofiltros poseen las enzimas amoníaco monooxigenasa y carbono monooxigenasa, las cuales catalizan las moléculas de NH<sub>4</sub> reduciendo la concentración de este compuesto en el agua residual (Cho et al., 2020), por tales motivos, se asume que existieron bacterias que permitieron la reducción en la concentración de NH<sub>4</sub>.

#### 4.3.2 Degradación de nitritos

Este compuesto presentó un comportamiento similar al NH<sub>4</sub>, eliminándose la mayor parte de NO<sub>2</sub> en el día 13, la concentración de este compuesto fue superior en el sedimentador (línea azul) debido a que esta operación solo realizó la función de retención de sólidos. La formación de NO<sub>2</sub> se dio por la actividad metabólica presente en los biofiltros 1 y 2, lo cual se atribuye a la presencia de bacterias tipo BAO. Este proceso metabólico se confirma debido a que el fertilizante Yara Tera Kristalón Green carecía de NO<sub>2</sub>-N, además se observa que existe eliminación de NO<sub>2</sub> (línea gris y naranja) (Figura 15).



**Figura 15.** Cinética de consumo de NO<sub>2</sub> en las diferentes operaciones unitarias mediante pruebas colorimétricas

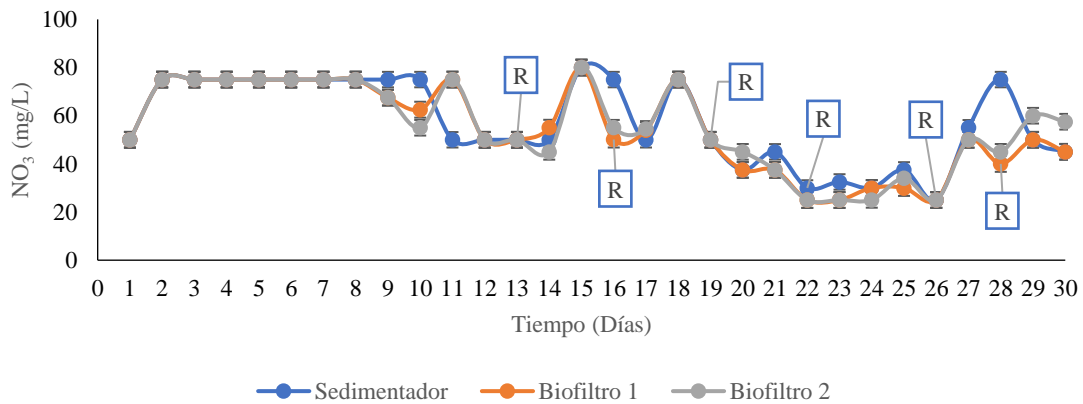
La degradación de NO<sub>2</sub> (Figura 15) se debe a factores como el OD, las temperaturas inferiores a los 24°C y el tipo de bacteria presentes en el biofiltro. La temperatura es importante para la tasa de crecimiento de bacterias que oxidan el nitrógeno (BNO) (Soliman & Eldyasti, 2018), esto se refleja en la investigación debido a que los 4 primeros días, la temperatura presentó promedios de 23°C generando las actividades metabólicas de las bacterias oxidantes. En relación

con el  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_2$ , la reducción simultanea indica que el consorcio bacteriano degrada estos componentes tóxicos cuando se presentan condiciones climáticas con temperaturas bajas (Daims et al., 2016).

En relación al tipo de bacteria y oxígeno disuelto Rajta et al., (2020) afirman que algunas comunidades bacterianas oxidan el amonio y nitrito en ambientes con bajas concentraciones de OD. Debido a la falta de equipos para medir este parámetro durante la investigación, se intuye que su concentración era adecuada, por lo que las bacterias pudieron generar un proceso satisfactorio de degradación (Erguder et al., 2009).

### 4.3.3 Degradación de nitratos

El  $\text{NO}_3$  es el resultado final de la nitrificación siendo la forma más oxidada del nitrógeno, en la Figura 16 se describe el comportamiento de este compuesto en las distintas operaciones unitarias. Las concentraciones actúan de manera similar al  $\text{NH}_4$  (Figura 14) y  $\text{NO}_2$  (Figura 15) observando una mayor presencia del nutriente en el sedimentador.



**Figura 16.** Cinética de consumo de  $\text{NO}_3$  en las diferentes operaciones unitarias mediante pruebas colorimétricas

En la Figura 16 se describe el comportamiento del  $\text{NO}_3$  en el sistema, en la cual se observa tanto la formación como la eliminación de este posiblemente por desnitrificación. No obstante, el proceso se desarrolla en concentraciones bajas de  $\text{O}_2$  Metcalf, (2000), sin embargo, el suministro de  $\text{O}_2$  en los biofiltros fue constante, por ende, se asume que la eliminación del  $\text{NO}_3$  se produjo por procesos de desnitrificación aerobia.



El proceso de desnitrificación aerobia es llevado a cabo por bacterias como *Pseudomonas sp* (S. Liang et al., 2011), *Bacillus sp* (Takenaka et al., 2007), *Citrobacter sp* (Tseng, 2001), *Acinetobacter sp* (Xi et al., 2022), Sin embargo, el proceso posee deficiencias debido a que es lento y depende de la carga orgánica presente en el medio (Mekuto et al., 2019), esto se puede evidenciar en la Figura 16 donde el  $\text{NO}_3\text{-N}$  alcanza concentraciones mínimas de hasta 20 mg/L en los 60 días de funcionamiento del sistema por lo cual se asume que se necesitaba más tiempo para logra una mayor degradación de este compuesto, no obstante, Mpongwana et al., (2020) afirma que las enzimas son lo más importante para los procesos de desnitrificación aeróbica, siendo esto las enzimas oxidantes de  $\text{NO}_3$ . Las enzimas utilizan el compuesto para el mantenimiento celular, sin embargo, las altas concentraciones producen un efecto tóxico que inhabilita procesos como la descomposición orgánica (Lan et al., 2022), probablemente por estos motivos el sistema no logró realizar un mejor proceso de desnitrificación. Finalmente Ji et al., (2015) afirma que los estudios en este tema de desnitrificación aerobia aún son limitados y en los próximos años se tome relevancia debido a las ventajas que presentan las bacterias en los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

#### **4.3.4 Degradación del fósforo**

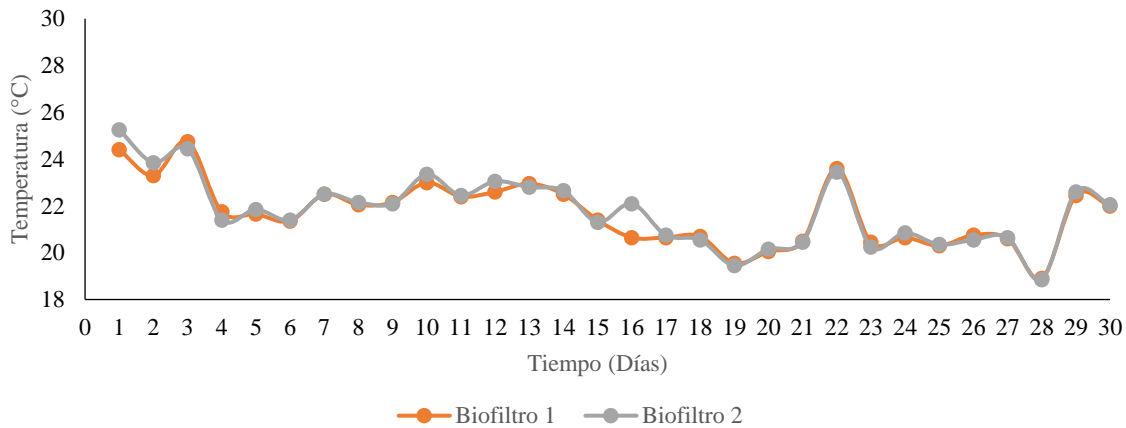
El fósforo en forma de  $\text{PO}_4$ , mantuvo concentraciones por encima de los 10mg/L en los 60 días de operación del sistema, esto es debido al suministro constante de  $\text{O}_2$  en los biofiltros lo cual limita los procesos biológicos de eliminación de este compuesto. Metcalf, (2000), en sus estudios de aguas residuales, tratamiento y reutilización, menciona que para eliminar el  $\text{PO}_4$  de un agua residual se requiere de procesos anaerobios/aerobios que permitan la incorporación del fósforo en la biomasa. Sin embargo, el sistema diseñado en esta investigación fue de tipo aerobio en su totalidad motivo por el cual no se dio una correcta eliminación de este compuesto.

En relación a la cantidad elevada de  $\text{PO}_4$  MAATE, (2015), menciona que cantidades mayores a 10 mg/L se consideran tóxicas para el ambiente. Debido a que se aplicó una prueba colorimétrica  $\text{PO}_4$  con un rango máximo de 10mg/L, no se puede afirmar si el agua residual en el sistema tenía niveles por encima del rango ideal. Sin embargo, Mustapha & Bakali, (2021) considera que los niveles de fósforo pueden disminuirse cuando se utiliza el componente  $\text{PO}_4$  como

fertilizante sostenible en procesos acuapónicos, debido a que el elemento se considera primordial en el desarrollo de plantas.

#### 4.3.5 Influencia de la temperatura en la eficiencia del tratamiento

La temperatura desempeña un rol importante en la actividad metabólica de los microorganismos nitrificadores, las variaciones fuertes en lapsos cortos de tiempo pueden alterar la eficiencia en los sistemas de tratamiento. En la Figura 17 se observa el comportamiento de este parámetro durante el tiempo de investigación, los datos corresponden a los biofiltros 1 y 2.

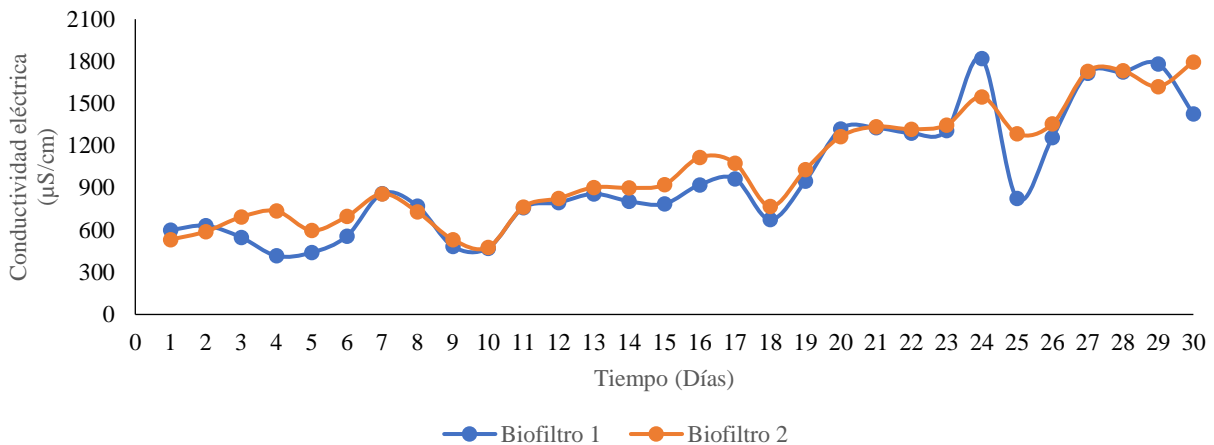


**Figura 17.** Análisis de la temperatura en los biofiltros mediante un equipo multiparamétrico

En el presente análisis se omitió la operación unitaria del sedimentador, debido a que en este no se realizó ningún proceso de degradación de nutrientes. No obstante, a pesar de las variaciones que se observan en la Figura 17, los biofiltros mantuvieron rangos de temperatura entre 18,4 - 27,4°C. Daims et al., (2016) resalta que operaciones con temperaturas promedios de 23°C permiten un proceso de nitrificación y Alisawi, (2020) concuerda que los rangos óptimos para los procesos de degradación de nitrógeno amoniacal oscilan entre 15 y 35°C siendo más eficiente a temperaturas de 25°C.

#### 4.3.6 Influencia de la conductividad eléctrica en la eficiencia del tratamiento

La conductividad eléctrica (CE) presenta una curva ascendente a lo largo de la investigación, el análisis de la conductividad en el proceso de tratamiento se muestra en la siguiente figura:

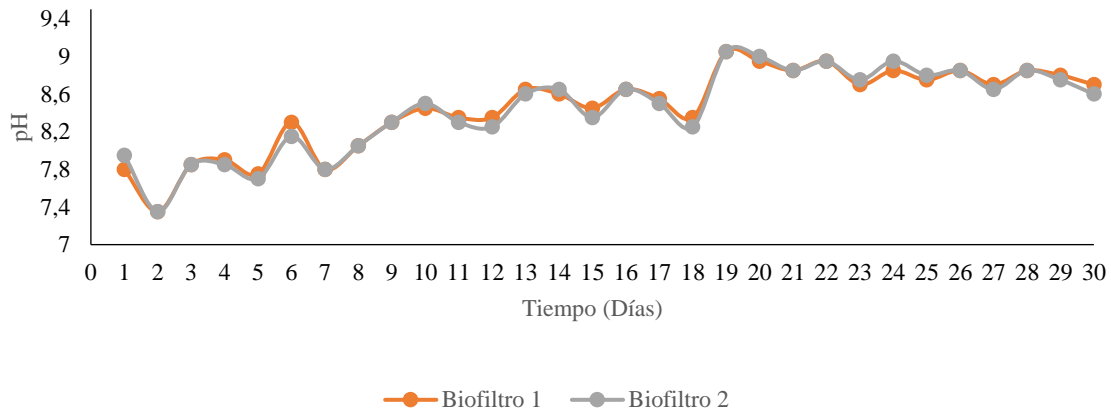


**Figura 18.** Análisis de la conductividad eléctrica en los biofiltros mediante un equipo multiparamétrico.

En la figura 18 se observa un incremento en la conductividad a partir del día 5 en los dos biofiltros. En el biofiltro 1 pasa de  $440 \text{ uS/cm}$  a  $885,5 \text{ uS/cm}$ , mientras que en el biofiltro 2 se incrementa de  $597,5 \text{ uS/cm}$  a  $885,5 \text{ uS/cm}$ , ambas operaciones tuvieron estos cambios en el día 7. Este incremento se debe a procesos de nitrificación donde la reacción de oxidación de  $\text{NH}_4$  a  $\text{NO}_2$  libera iones de  $\text{H}^+$ , incrementando la conductividad eléctrica del medio líquido. W. Liu et al., (2021) expresa que esta liberación de iones permite que los “amoníacos libres” puedan difundirse dentro de una bacteria degradadora, en este proceso se unen los ácidos grasos generando un cambio de pH y aumentando la carga alcalina lo cual produce un incremento en la conductividad. En relación a la conductividad que se desarrolló en el sistema, Molina., et al (2017) en su investigación relacionada con tasas de nitrificación en un reactor de biopelícula no agitado describe, que la tasa de nitrificación aumenta a partir de  $688 \text{ uS/cm}$ , además, señala que a una conductividad de  $700 \text{ uS/cm}$  la eficiencia de remoción de  $\text{NH}_4\text{-N}$  es del 97%, siendo los rangos óptimos de 700 a 1000  $\text{uS/cm}$ .

### 4.3.7 Influencia del pH en la eficiencia del tratamiento

En la Figura 19 se observa el comportamiento del pH en el sistema, el cual presenta una curva creciente a lo largo del estudio oscilando en rangos de 7 - 9.



**Figura 19.** Análisis del pH en los biofiltros mediante un pH metro portátil.

En la figura 19 se observa el comportamiento del pH generado en la investigación, el pH promedio fue de 8,45 para el biofiltro 1 mientras que para el biofiltro 2 fue de 8,43. Tyson et al., (2007) concuerda en que el pH óptimo para que se lleve a cabo el proceso de nitrificación tiene rangos de 7,5 – 8,6, en valores inferiores a 7,5 la oxidación del  $\text{NH}_4$  a  $\text{NO}_2$  no presenta una reducción en la velocidad de remoción, lo cual limita la eficiencia de los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

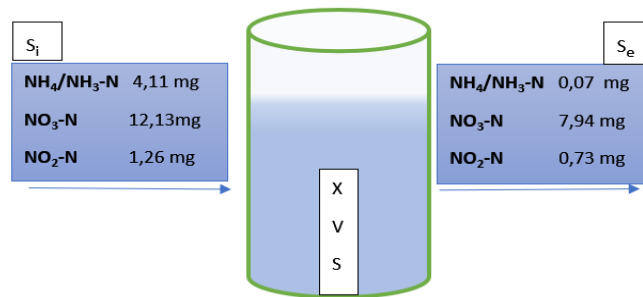
Durante el proceso de oxidación del  $\text{NH}_4$  a  $\text{NO}_2$ , se produce una liberación de iones de  $\text{H}^+$ , esto conlleva a una acidificación del agua en el sistema, siendo indispensable la incorporación de alguna base para alcalinizar el medio (Lei et al., 2018). Se empleó  $\text{NaHCO}_3$  para cumplir con este propósito, este compuesto sirvió como una fuente de carbono inorgánico y amortiguador de pH. Los biofiltros necesitaban de un compuesto para alcalinizar el medio debido a la liberación de ion  $\text{H}^+$  y  $\text{CO}_2$  producto de la degradación del nitrógeno amoniacal total (TAN), caso contrario se hubiera generado efectos adversos en organismos y microorganismos (Summerfelt et al., 2015). Al momento de aplicar el  $\text{NaHCO}_3$  las bacterias mejoraron su actividad degradante, generando una nitrificación más rápida. sin embargo, se presentan caídas del pH, esto se atribuye a proceso de

nitrificación y desnitrificación simultaneas, debido a que durante la desnitrificación se produce alcalinidad en forma de  $\text{CO}_3$ . Metcalf & Eddy, (2003) mencionan que durante el proceso de nitrificación se consume 7,07 g de alcalinidad mientras que en procesos de desnitrificación se producen 3,54 g de alcalinidad lo cual conlleva a que el pH en el sistema no caiga abruptamente.

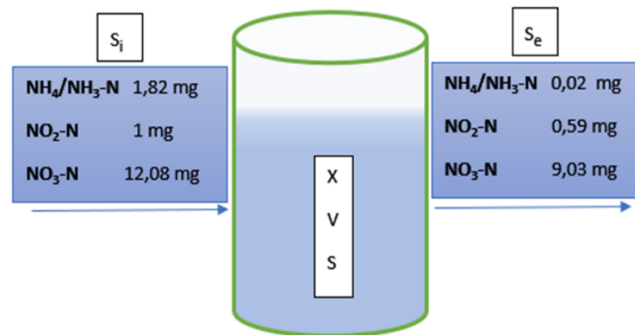
#### 4.3.8 Flujo de nutrientes a través del sistema

El balance del nitrógeno se realizó en los biofiltros 1 y 2 como lo muestra la Figura 26 donde se describen las entradas y salidas de nitrógeno siendo la nitrificación y desnitrificación los principales procesos para la eliminación de este elemento (Metcalf & Eddy, 2003). Las concentraciones de salida del biofiltro 1 no son iguales a la entrada del biofiltro 2 debido a que en esta sección se evalúa la capacidad de remoción de cada uno de los biofiltros de manera independiente. Para este análisis se tomaron en cuenta la alimentación, consumo y el tiempo entre cada realimentación obteniendo los siguientes resultados.

A)



B)



**Figura 20.** Balance del nitrógeno en: A) Biofiltro 1 y B) Biofiltro 2; “Si” corresponde al sustrato de entrada y “Se” corresponde al sustrato de salida; “X”, “V” y “S” representan biomasa, volumen y sustrato respectivamente.

Los valores representados en la Figura 20 corresponden a las concentraciones promedio de entrada y salida de nitrógeno en los biofiltros 1 y 2. En el biofiltro 1 se observa una concentración de entrada de 4,11 mg de NH<sub>4</sub>-N y una salida de 0,07 mg lo cual representa un porcentaje de eliminación del 98,40%, esto se atribuye a procesos de nitrificación mediado por bacterias tipo BAO las cuales oxidan el NH<sub>4</sub>-N (Metcalf & Eddy, 2003). En lo que respecta al NO<sub>2</sub>-N presenta una concentración de entrada de 1,26 mg con una salida de 0,73 mg siendo 42,06% de remoción del compuesto que es metabolizado por BNO (Holmes et al., 2018). Finalmente, el NO<sub>3</sub>-N con entrada de 12,13 mg y salida de 7,94 mg correspondiente a un 34,54%, durante la investigación no se realizó una medición de gases por ende se asume que este compuesto es eliminado a través de la desnitrificación aerobia. Yang et al., (2020) mencionan que este proceso es realizado principalmente por bacterias heterótrofas.

En lo que respecta al biofiltro 2 (Figura 20) presenta un comportamiento similar en el cual la entrada promedio fue de 1,82 mg de NH<sub>4</sub>-N con una salida de 0,02 mg lo cual equivale al 98,84% de NH<sub>4</sub>-N removido, además, una concentración de entrada de 1,00 mg y una salida de 0,59 mg siendo un 40,71% del NO<sub>2</sub>-N y finalmente 12,08 mg de NO<sub>3</sub>-N en la entrada con una salida de 9,03 mg equivalente a 25,23%. En la tabla 23 se describen los resultados obtenidos por otros investigadores en procesos de eliminación del nitrógeno.

**Tabla 23**

*Porcentaje de eficiencia en la remoción de nitrógeno en otras investigaciones*

<b>Origen del agua a tratar</b>	<b>% NH<sub>4</sub>- N removido</b>	<b>% NO<sub>2</sub>- N removido</b>	<b>% NO<sub>3</sub>- N removido</b>	<b>Referencias</b>
<b>Cultivo de truchas</b>	71,43	33,44	-----	García-Pulido et al., (2011)
<b>Maricultura</b>	98,86	93,95	-----	Shitu et al., (2021)
<b>Maricultura</b>	80	79,7	34,11	Feng et al., (2020)

Tras analizar estadísticamente los datos se obtuvieron las desviaciones estándar de los datos como lo muestra la Tabla 24.

**Tabla 24***Desviación estándar de las variables de alimentación y consumo en los biofiltros*

<b>Parámetro</b>	<b>Biofiltro 1</b>			
	Alimentación (mg)	Desviación Estándar	Consumo (mg)	Desviación Estándar
<b>NH<sub>4</sub>/NH<sub>3</sub></b>	3,74	3,70	0,03	0,09
<b>NO<sub>2</sub></b>	4,17	1,53	1,93	2,30
<b>NO<sub>3</sub></b>	61,25	24,69	39,00	28,30
	<b>Biofiltro 2</b>			
<b>NH<sub>4</sub>/NH<sub>3</sub></b>	2,76	3,63	0,02	0,06
<b>NO<sub>2</sub></b>	4,38	1,49	1,87	2,34
<b>NO<sub>3</sub></b>	63,33	22,70	39,08	28,21

Las desviaciones estándar (Tabla 24) presentan valores elevados debido a que los datos presentaron una variación en su distribución tras realizar las mediciones (Blair & Taylor, 2008), este comportamiento se da posiblemente a dos factores importantes que son: el tipo de pruebas de medición utilizadas, según Aparicio, (2017) la colorimetría está sujeta a la precisión del ojo del observador. El otro factor considerado fue la variación climática con cambios abruptos de temperatura en la localización del experimento, los cuales influyen en el metabolismo celular (Metcalf & Eddy, 2003). Estos aspectos condicionaron a que se dé una dispersión de los datos obtenidos, fluctuando hacia las desviaciones estándar previamente descritas. Por otra parte, los datos no se ajustaron a una distribución normal (Anexo 7) y como consecuencia se aplicó una estadística no paramétrica (Anexo 8) donde se obtuvieron los resultados plasmados en la tabla 30.

Los p-values obtenidos presentaron valores  $<0,05$  (Tabla 25) demostrando que existe diferencia significativa entre alimentación y consumo de nitrógeno en los biofiltros, esto implica que parte del nitrógeno está siendo eliminado del agua que recircula a través del sistema debido a la actividad metabólica realizada en los biofiltros.

**Tabla 25***Análisis no paramétrico mediante método Wilcoxon*

<b>Operación Unitaria</b>	<b>NH<sub>4</sub>/NH<sub>3</sub></b>	<b>NO<sub>2</sub></b>	<b>NO<sub>3</sub></b>
<b>Biofiltro 1</b>	<0,0001	0,0096	0,0345
<b>Biofiltro 2</b>	<0,0001	0,0065	0,0220

*Nota.* Los valores descritos corresponden al p-value obtenido en el análisis de alimentación y consumo del N en los biofiltros 1 y 2

Finalmente, el biofiltro 2 presentó porcentajes de remoción de nitrógeno superiores al biofiltro 1. Posiblemente el biofiltro 1 realizó un proceso de estabilización del agua por la cual se reduce el DBO y DQO (Ajie & Prihatiningtyas, 2022) en el agua recirculante, lo que facilitó al biofiltro 2 realizar la degradación de nitrógeno en mayor concentración. Otro factor importante es la conformación del consorcio bacteriano presente en el biofiltro 2. A pesar de que la fijación bacteriana fue realizada en un mismo reactor bajo las mismas condiciones fisicoquímicas tanto para tapas de botella como biobolas, se obtuvo un mayor número de cepas provenientes del biofiltro 2 (tapas de botella) que del biofiltro 1 (biobolas). Fredricks, (2015) en su estudio de los potenciales de formalina en la eficiencia de oxidación del nitrógeno de los biofiltros en RAS para peces de agua dulce, cita que los materiales de PVC (biobolas) sirven como superficies en el desarrollo de biopelículas, influyendo en la remoción de nitrógeno amoniacal total (TAN) con una oxidación de hasta el 96%. No obstante Sikora et al., (2020) menciona que las tapas de botella de polietileno (PET) permiten una mayor estabilidad en la conformación de la biopelícula que el PVC, lo cual explica porque se obtuvo un mayor número de cepas provenientes del biofiltro 2.

Por otro lado, se obtuvo una producción total de biomasa calculada de 33,40mgVSS para el biofiltro 1, mientras que para el biofiltro 2 fue de 32,85mgVSS, sin embargo, se asume que debido al desprendimiento celular (Metcalf & Eddy, 2003) en el biofiltro 1 y la constante recirculación permitió que las bacterias desprendidas se trasladen al biofiltro 2, encontrando en las tapas de botella una mayor estabilidad. Este resultado de estabilidad aportó en la eficiencia de remoción de esta operación unitaria, misma que repercutió en los rendimientos observados obteniendo valores de 3,56 mg VSS/mg bsCOD para el biofiltro 1 y 4,30 mg VSS/mg bsCOD para el biofiltro 2, lo que significa que en el biofiltro 2 hubo mayor presencia de biomasa disponible para degradar el sustrato (NH<sub>4</sub>).



Por otro lado, en lo que respecta a los requerimientos de O<sub>2</sub> calculado se obtuvo que el biofiltro 1 requirió de 35,08 mgO<sub>2</sub>Lh<sup>-1</sup> mientras que para el biofiltro 2 fue de 15,55 mgO<sub>2</sub>Lh<sup>-1</sup>; este factor se encuentra directamente relacionado con la producción de biomasa (Martínez, 2010). Por lo cual, se presume que parte de la biomasa pasó a formar parte del biofiltro 2 por lo mencionado anteriormente. Todos estos factores condicionaron a que la capacidad de degradación del biofiltro 2 sea superior al biofiltro 1.

#### 4.3.9 Identificación de microorganismos degradadores presentes en el biofiltro

El análisis morfológico y bioquímico, permitió la identificación de 21 cepas bacterianas de las cuales 12 fueron obtenidas de biofiltro 1 y 9 se aislaron del biofiltro 2. Sin embargo, se consideraron 16 cepas (Tabla 26) debido a que 5 de estas se encontraban tanto en tapas de botella como biobolas. Los géneros bacterianos identificados fueron *Acinetobacter spp*, *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp* y *Flavobacterium spp*.

**Tabla 26**

*Identificación de géneros bacterianos presentes en los biofiltros 1 y 2*

Género	N° de cepas	Fenotipo
<i>Staphylococcus sp.</i>	7	BAO
<i>Bacillus sp.</i>	3	BAO/Desnitrificante
<i>Acinetobacter sp.</i>	3	BAO/Desnitrificante/BAP
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	BNO/Desnitrificante
<i>Flavobacterium sp.</i>	2	Desnitrificantes

*Nota.* La tabla representa los géneros aislados y su fenotipo. Bacterias amonio oxidantes (BAO); Bacterias nitrito oxidantes (BNO), Desnitrificantes y Bacterias acumuladoras de polifosfatos (BAP).

Las bacterias identificadas representan un rol fundamental en el proceso de eliminación de nitrógeno en el sistema, Chang et al., (2019) menciona que *Flavobacterium sp.* poseen mayor capacidad para realizar procesos de desnitrificación aerobia que los otros géneros mencionados en la tabla 26, por ende, se asume que las cepas identificadas pertenecientes a este género fueron las responsables de eliminar la mayor parte del NO<sub>3</sub>-N. Por su parte, *Pseudomonas sp.* utiliza distintos compuestos nitrogenados por lo cual este género es utilizado principalmente en la oxidación de NH<sub>4</sub>-N y NO<sub>2</sub>-N (Khanichaidecha et al., 2019), por lo cual se presume la participación de estas

cepas en la primera y segunda etapa de la nitrificación a lo largo de la operación del sistema. Por otro lado, *Acinetobacter spp.* y *Bacillus spp.* poseen la capacidad de degradar el nitrógeno a través de la desnitrificación aerobia y nitrificación heterotrófica (Su et al., 2019); (Khanichaidecha et al., 2019).

Tomando en cuenta las características previamente descritas se asume que las cepas de estos dos géneros identificados en la investigación contribuyeron con la oxidación del  $\text{NH}_4\text{-N}$  y en menor medida con la eliminación del  $\text{NO}_3\text{-N}$ . Finalmente, *Staphylococcus spp.* a pesar de ser considerada como un patógeno adquiere gran relevancia en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, principalmente bajo condiciones aerobias y en presencia de  $\text{NH}_4\text{-N}$  (Metcalf & Eddy, 2003). Debido a que se identificaron mayor cantidad de cepas de este género, se asume que la mayor parte del  $\text{NH}_4\text{-N}$  removido del agua recirculante fue metabolizado por la intervención de este género bacteriano. Sin embargo, Numberger et al., (2019) explica que las características biológicas de las bacterias en los procesos de remoción pueden ser confirmadas una vez identificado las especies a nivel molecular.

## CAPÍTULO V

### 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

Los resultados de laboratorio mostraron que la concentración de nutrientes  $\text{NH}_4/\text{NH}_3$  y  $\text{NO}_2 < 0,05 \text{ mg/L}$  en las piscinas de la comunidad El Rosal fueron bajas. Estos datos se respaldaron en base a la ley orgánica de efluentes del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE), además, el efluente presentó alta carga de bacterias aerobias totales  $>2000 \text{ UFC/ml}$ . Por lo que se concluye que estos resultados se atribuyen a los constantes recambios de agua generados en el lugar del estudio y a la presencia de posibles bacterias degradadoras de nutrientes.

El sistema de agua residual fue diseñado con las siguientes operaciones unitarias: sedimentadores, biofiltros y tanque de distribución de nutrientes. Debido a que el biofiltro fue una operación fundamental del sistema, se emplearon materiales que facilitaron el ensamblaje y control de fugas durante el tiempo de operación. Las superficies plásticas como biobolas de acuario y tapas de botella fueron adecuadas para el desarrollo del biofilm las cuales facilitaron la retención de la biomasa. Por lo que, el sistema presentó versatilidad para su construcción y eficacia en la degradación de los compuestos nitrogenados presentes en el agua residual.

Las realimentaciones permitieron determinar que el sistema mantuvo su capacidad de eliminación de nutrientes nitrogenados en un periodo de 60 días. A pesar de que las dos primeras repeticiones eliminaron los componentes amoniacales en su totalidad en el día 13, no se puede afirmar su utilidad debido a la falta de análisis fisicoquímicos como OD, DBO y DQO, un análisis más detallado de las bacterias presentes en los biofiltros y la limitada reducción del nutriente  $\text{PO}_4$ , debido a que el tratamiento carecía de una fase anóxica.

Los parámetros como temperatura, conductividad y pH, obtenidos en la investigación (pH 7,5 a 8,6;  $\text{CE} > 700 \text{ uS/cm}$ ;  $\text{Temp} > 20^\circ\text{C}$ ) permitieron al sistema realizar procesos de nitrificación y desnitrificación simultánea. En el caso de los componentes fosforados, se requirieron de ambientes anóxico/aeróbico como el generado en el biorreactor de crecimiento bacteriano para su degradación.

Las bacterias identificadas en esta investigación pertenecieron a los géneros *Acinetobacter sp*, *Staphylococcus sp*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp* y *Flavobacterium sp.*, los cuales poseen una elevada capacidad de eliminación de nutrientes nitrogenados, por su versatilidad metabólica y su rápido crecimiento, facilitó su supervivencia en condiciones desfavorables.

## 5.2 Recomendaciones

Implementar sistemas de alimentación ininterrumpida (SIA) en caso de cortes de energía, este equipo permitirá dar tiempo a los operadores para controlar el desbordamiento del líquido debido a la desactivación de la bomba de recirculación al final del sistema de tratamiento de agua residual.

Adaptar una operación unitaria de tipo anóxica o diseñar el sistema con bajas concentraciones de O<sub>2</sub>, este proceso permitirá que los microorganismos degraden los nutrientes fosforados y nitrogenados al mismo tiempo en una misma operación unitaria.

Se recomienda realizar estudios de los procesos de desnitrificación aerobia en bacterias heterótrofas, con respecto a metabolismo, quorum sensing y aplicación a gran escala, esto es debido al potencial y las ventajas que este tipo de microorganismos presentan ante la eliminación de compuestos nitrogenados.

Desarrollar el mismo estudio utilizando un equipo medidor de nutrientes para el análisis de degradación e identificar las especies bacterianas del consorcio a nivel molecular. A pesar de que se produjo la degradación de algunos nutrientes como el NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub> y NO<sub>3</sub> y se identificaron algunos géneros bacterianos, los equipos e identificación molecular permitirán saber si las especies existentes en el consorcio influyeron en la degradación de nutrientes o si los cambios fisicoquímicos se generaron por algún agente externo.

## REFERENCIAS

- Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z., & Wassie, M. (2017). The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review. *Open Journal of Environmental Biology*, 2(1), 038–046. <https://doi.org/10.17352/ojeb.000007>
- Abdel-Raouf, M. E., Maysour, N., Farag, R. K., & Abdul-Raheim, M. (2019). Wastewater Treatment Methodologies , Review Article *International Journal of Environment & Agricultural Science Wastewater Treatment Methodologies , Review Article. International Journal of Environment & Agricultural Science*, 3(1), 1–25.
- Abu Shmeis, R. M. (2018). Water Chemistry and Microbiology. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (1st ed., Vol. 81, pp. 1–56). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2018.02.001>
- Ajie, G., & Prihatiningtyas, E. (2022). Nutrients removal from integrated multi-trophic aquaculture ( IMTA ) water using waste stabilization ponds ( WSP ) Nutrients removal from integrated multi-trophic aquaculture ( IMTA ) water using waste stabilization ponds ( WSP ). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/976/1/012029>
- Al-Dhabaan, F. A. (2019). Morphological, biochemical and molecular identification of petroleum hydrocarbons biodegradation bacteria isolated from oil polluted soil in Dhahran, Saud Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1247–1252. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.029>
- Alisawi, H. A. O. (2020). Performance of wastewater treatment during variable temperature. *Applied Water Science*, 10(4), 89. <https://doi.org/10.1007/s13201-020-1171-x>
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., & Smith, M. (2006). Wastewater treatment and use in agriculture. In *FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS Rome* (Vol. 47). <https://doi.org/M-56>
- Amin, A., Naik, R., Azhar, M., & Nayak, H. (2013). Bioremediation of different waste waters – A review. *Continental Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 7(2), 7–17. <https://doi.org/10.5707/cjfas.2013.7.1.7.17>
- Aparicio, E. (2017). Técnicas colorimétricas. *VIS I ÓN CRIMINOLÓ GICA-CRIMINALÍ S TICA*.

- Ape, F., Manini, E., Quero, G. M., Luna, G. M., Sarà, G., Vecchio, P., Brignoli, P., Ansferri, S., & Mirto, S. (2019). Biostimulation of in situ microbial degradation processes in organically-enriched sediments mitigates the impact of aquaculture. *Chemosphere*, 226(March), 715–725. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.178>
- Araujo, K. (2009). Microbiología de agua. Conceptos Básicos. In *Solar Safe Water* (pp. 13–30). Iberoamericana Vervuert. <https://doi.org/10.31819/9783954871568-002>
- Ateia, M. (2016). In-situ Biological Water Treatment Technologies for Environmental Remediation: A Review. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 07(03), 3–7. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000348>
- Avnimelech, Y. (2006). Bio-filters: The need for an new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.04.001>
- Aznar, A. (2014). *Tratamiento de aguas industriales mediante reactor biológico de membranas* (Issue January 2008).
- Bailón-Lira, L., González-Meléndez, R. C., & Cervantes-Sandoval, A. (2003). Atlas de Pruebas Bioquímicas para Identificar Bacterias. In *Estudios superiores Zaragoza*. <https://microbitos.files.wordpress.com/2010/06/atlasmicrobiologia1.pdf>
- Barman, D. (2020). Bioremediation of Waste Waters and Application in Aquaculture - A Mini Review. *Research Biotica*, 2(1), 20–25. [www.bioticainternational.com](http://www.bioticainternational.com)
- Basu, O. D., Dhawan, S., & Black, K. (2016). Applications of biofiltration in drinking water treatment - a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 91(3), 585–595. <https://doi.org/10.1002/jctb.4860>
- Bellucci, M., Ofițeru, I. D., Head, I. M., Curtis, T. P., & Graham, D. W. (2013). Nitrification in hybrid bioreactors treating simulated domestic wastewater. *Journal of Applied Microbiology*, 115(2), 621–630. <https://doi.org/10.1111/jam.12233>
- Beltrano, J., & Gimenez, O. (2020). Cultivo en hidroponía. In J. Beltrano & D. O. Giménez (Eds.), *Cultivo en hidroponía* (1ra Edición). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). <https://doi.org/10.35537/10915/46752>
- Bentzon-Tilia, M., Sonnenschein, E. C., & Gram, L. (2016). Monitoring and managing microbes in aquaculture – Towards a sustainable industry. *Microbial Biotechnology*, 9(5), 576–584.

<https://doi.org/10.1111/1751-7915.12392>

- Blair, R. C., & Taylor, R. A. (2008). *Bioestadística* (S. A. de C. V. A. D.R. 2008 por Pearson Educación de México (ed.); PRIMERA ED). Pearson Education.
- Blancheton, J.-P., Piedrahita, R., Eding, E. H., Lemarie, G., Bergheim, A., Fivelstad, S., & Roque D'Orbcastel, E. (2007). Intensification of landbased aquaculture production in single pass and reuse systems. *Aquacultural Engineering and Environment*, 0(May 2014), 21–47. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/6831/>
- Bobbink, R., Bal, D., Dobben, H. F. Van, Jansen, a J. M., Nijssen, M., & Siepel, H. (2012). The effects of nitrogen deposition on the structure and functioning of ecosystems. *Ecol. Applications*, November, 39–79.
- Boyd, C. (2019). Nitrógeno , fósforo , eutrofización y estándares de efluentes para certificación acuícola. In *Global Aquaculture Advocate*.
- Boyd, C. E. (2018). Ammonia nitrogen dynamics in aquaculture. *Global Aquaculture Advocate*, October 2018, 8–11. <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/ammonia-nitrogen-dynamics-in-aquaculture/>
- Boyd, C. E. (2019). What is the role of bacteria in aquaculture ponds? « Global Aquaculture Advocate. *Global Aquaculture Advocate*, 7–10. <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/what-is-the-role-of-bacteria-in-aquaculture-ponds/>
- Bunting, S. W., & Edwards, P. (2018). Global prospects for safe wastewater reuse through aquaculture. *Wastewater Management Through Aquaculture*, 55–72. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7248-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7248-2_3)
- Caffrey, J. M., Bano, N., Kalanetra, K., & Hollibaugh, J. T. (2007). Ammonia oxidation and ammonia-oxidizing bacteria and archaea from estuaries with differing histories of hypoxia. *ISME Journal*, 1(7), 660–662. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.79>
- Calvin, M. (1969). Chemical evolution. *Chemistry in Britain*, 5(1), 22–28. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5782736>
- Cao, J., Zhang, C., Rong, H., Zhao, M., Wei, W., & Zhao, L. (2017). Study on effects of electron donors on phosphine production from anaerobic activated sludge. *Water (Switzerland)*, 9(8),

563. <https://doi.org/10.3390/w9080563>

- Chang, M., Wang, Y., Pan, Y., Zhang, K., Lyu, L., Wang, M., & Zhu, T. (2019). Bioresource Technology Nitrogen removal from wastewater via simultaneous nitrification and denitrification using a biological folded non-aerated filter. *BIORESOURCE TECHNOLOGY*, 289(April). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121696>
- Chapman, D. (1996). Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring. In *E&FN Spon* (Second). <https://doi.org/10.1109/SITIS.2016.54>
- Chaudhary, D. S., Vigneswaran, S., Ngo, H. H., Shim, W. G., & Moon, H. (2003). Biofilter in Water and Wastewater Treatment. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 20(6), 1054–1065. <https://doi.org/10.1007/BF02706936>
- Chawley, P., Banerjee, C., & Jagadevan, S. (2020). Growth of planktonic and biofilm culture of *Nitrosomonas mobilis* Ms1 in response to stoichiometric ammonia consumption. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 154(August), 105080. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105080>
- Chen, H., Liu, S., Yang, F., Xue, Y., & Wang, T. (2009). The development of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal. *Bioresource Technology*, 100(4), 1548–1554. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.003>
- Chen, Y., Liu, Y., & Wang, X. (2017). Spatiotemporal variation of bacterial and archaeal communities in sediments of a drinking reservoir, Beijing, China. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(8), 3379–3391. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8019-1>
- Cho, S., Kambey, C., & Nguyen, V. K. (2020). Performance of anammox processes for wastewater treatment: A critical review on effects of operational conditions and environmental stresses. *Water (Switzerland)*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/w12010020>
- Consejo Nacional de Planificación. (2017). Plan Nacional del Buen vivir 2017-2021. *Educational Research*, 1, 150. <http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/07/Plan-Nacional-para-el-Buen-Vivir-2017-2021.pdf>
- Cromey, C. J., Nickell, T. D., & Black, K. D. (2002). DEPOMOD — modelling the deposition



- and biological effects of waste solids from marine cage farms. *Aquaculture*, 214, 211–239.
- Cydzik-Kwiatkowska, A., & Zielińska, M. (2016). Bacterial communities in full-scale wastewater treatment systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(4), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2012-9>
- Dacewicz, E. (2019). The application of biofiltration with polyurethane foams for domestic sewage treatment. *Journal of Ecological Engineering*, 20(2), 131–140. <https://doi.org/10.12911/22998993/96342>
- Daims, H., Lücker, S., & Wagner, M. (2016). Review A New Perspective on Microbes Formerly Known as Nitrite-Oxidizing Bacteria. *Trends in Microbiology*, 24(9), 699–712. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.05.004>
- De J Ornelas, O., Ruiz, Y. J., & Medina, L. F. (2012). Bacterias nitrificantes y su utilidad para el tratamiento de aguas residuales: desarrollo de un enriquecimiento del Inóculo. *Informe Medico*, 14(3), 141–145.
- De la Rosa-Rodríguez, R., Lara-Herrera, A., Trejo-Téllez, L. I., Padilla-Bernal, L. E., Solis-Sánchez, L. O., & Ortiz-Rodríguez, J. M. (2020). Water and fertilizers use efficiency in two hydroponic systems for tomato production. *Horticultura Brasileira*, 38(1), 47–52. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620200107>
- Deng, Y., Wen, J., Zhu, X., Chen, N., Feng, C., Zheng, Y., Wang, H., Chen, F., & Gao, Y. (2020). Research on the redox behavior changes of humic-like substances wastewater during electrochemical oxidation process and using the treated effluent to improve the heavily contaminated soil: Taking petroleum hydrocarbon contaminated soil as example. *Journal of Cleaner Production*, 263, 121398. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121398>
- Douterelo, I., Boxall, J. B., Deines, P., Sekar, R., Fish, K. E., & Biggs, C. A. (2014). Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water Research*, 65, 134–156. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.008>
- Eck, M., Sare, A. R., Massart, S., Schmutz, Z., Junge, R., Smits, T. H. M., & Jijakli, M. H. (2019). Exploring bacterial communities in aquaponic systems. *Water (Switzerland)*, 11(2), 1–16. <https://doi.org/10.3390/w11020260>

- Edwards, J. A., Burn, S., & Othman, M. (2015). Anaerobic Digestion at Wastewater Treatment Plants: Opportunities with and without policy support. *Water Journal of the Australian Water Association*, 42(3), 83–88.  
[http://digitaledition.awa.asn.au/?xml=Water\\_Journal\\_Secure&iid=119475#folio=2](http://digitaledition.awa.asn.au/?xml=Water_Journal_Secure&iid=119475#folio=2)
- Effendi, H., Widyatmoko, Utomo, B. A., & Pratiwi, N. T. M. (2020). Ammonia and orthophosphate removal of tilapia cultivation wastewater with *Vetiveria zizanioides*. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 207–212.  
<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.018>
- El Sheshtawy, A., Salah, A., Rahman Ibrahim, M. A., Mocuta, D. N., Turek Rahoveanu, A., & Hossu, A. M. (2017). The Nitrification Capacity of Different Types of Biological Filters An Overview. *Risk in Contemporary Economy*, 1(November), 321–328.  
<https://doi.org/10.18662/lumproc.rce2017.1.27>
- Eliasson, T. (2015). Dairy waste – Feed for fish ? *Slu, August 2015*, 1–27.
- Er, H. H., Lee, L. K., Lim, Z. F., Teng, S. T., Leaw, C. P., & Lim, P. T. (2018). Responses of phytoplankton community to eutrophication in Semerak Lagoon (Malaysia). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(23), 22944–22962. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2389-0>
- Erguder, T. H., Boon, N., Wittebolle, L., Marzorati, M., & Verstraete, W. (2009). Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(5), 855–869. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00179.x>
- Fall, C., Jimenez, A., & Comeau, Y. (2014). *Total solids-retention in activated sludge : Modelling and simulation Total solids-retention in activated sludge : modelling and simulation*. May. <https://doi.org/10.2495/WP140281>
- FAO. (2010). Características , estructura y recursos del sector acuicola. *Departamento de Pesca y Acuicultura*, 2005.
- FAO. (2011). Manual básico de sanidad piscicola. *Ministerio de Agricultura y Ganadería. Viceministerio de Ganadería*, 1–52.
- FAO. (2018). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. <https://doi.org/CC BY-NC-SA 3.0 IGO>

- FAO. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. In *Inform* (Vol. 32, Issue 6).  
FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Feng, L., Luo, Y., Yang, J., & Sun, J. (2020). Nitrogen Removal Characteristics in a Biofilm System for Recirculating Aquaculture Wastewater Treatment under High-Salinity Conditions and Oligotrophic Stress. *Journal of Environmental Engineering*, *146*(7), 04020057. [https://doi.org/10.1061/\(asce\)ee.1943-7870.0001709](https://doi.org/10.1061/(asce)ee.1943-7870.0001709)
- Forss, J., Lindh, M. V., Pinhassi, J., & Welander, U. (2017). Microbial biotreatment of actual textile wastewater in a continuous sequential rice husk biofilter and the microbial community involved. *PLoS ONE*, *12*(1), e0170562.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170562>
- Fredricks, K. T. (2015). Literature review of the potential effects of formalin on nitrogen oxidation efficiency of the biofilters of recirculating aquaculture systems (RAS) for freshwater finfish. In *U.S. Geological Survey Open-File Report 2015–1097*.  
<http://dx.doi.org/10.3133/ofr20151097>
- GAD Carchi. (2013, April). La Concepción. *Periódico Parroquial Del Gobierno Provincial Del Carchi*, 5–8.
- Gallego-Valero, L., Moral-Parajes, E., & Román-Sánchez, I. M. (2021). Wastewater treatment costs: A research overview through bibliometric analysis. *Sustainability (Switzerland)*, *13*(9), 5066. <https://doi.org/10.3390/su13095066>
- García-Pulido, D., Gallego-Alarcón, I., Díaz-Delgado, C., Fall, C., & Burrola-Aguilar, C. (2011). Evaluación de un sistema de recirculación y acondicionamiento de agua en truticultura. *Tecnología y Ciencias Del Agua*, *2*(2), 83–96.
- Giustinianovich, E. A., Aspé, E. R., Behar, J. E., Campos, V. L., & Roeckel, M. D. (2015). Simultaneous removal of C and N from fish effluents in filter reactors: Effect of recirculation ratio on the axial distribution of microbial communities. *Journal of Environmental Management*, *161*, 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.013>
- Goddek, S. (2019). Aquaponics Food Production Systems. In S. Goddek, A. Joyce, B. Kotzen, & G. M. Burnell (Eds.), *Aquaponics Food Production Systems*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-15943-6>

- Goel, R. K., & Motlagh, A. M. (2014). Biological Phosphorus Removal. In *Comprehensive Water Quality and Purification* (Vol. 3). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382182-9.00051-7>
- González, E. J., & Quirós, R. (2011). Eutrofización de embalses en venezuela: Relaciones entre el nitrógeno, el fósforo y la biomasa del fitoplancton. *Oecologia Australis*, *15*(3), 458–475. <https://doi.org/10.4257/oeco.2011.1503.03>
- Guzmán, N. G. (2014). Eficiencia de remoción de DBO5 y SS en sedimentadir y lecho filtrante para el tratamiento de aguas residuales del beneficio de café ( *Coffea arabica* ). *Colombia Forestal*, *17*, 151–159.
- Häder, D. P., Banaszak, A. T., Villafañe, V. E., Narvarte, M. A., González, R. A., & Helbling, E. W. (2020). Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Science of the Total Environment*, *713*, 136586. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136586>
- Hernández Mancipe, L. E., Londoño Velez, J. I., Hernández García, K. A., & Torres Hernández, L. C. (2019). Los sistemas biofloc: una estrategia eficiente en la producción acuícola. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, *14*(1), 70–99. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.14.1.6>
- Holmes, D. E., Dang, Y., & Smith, J. A. (2018). Nitrogen cycling during wastewater treatment. In *Advances in Applied Microbiology* (1st ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2018.10.003>
- Hoseini, Z. (2020). Shrimp Aquaculture ' s Development Perspectives Reviewing on Improving Strategies and Management Plans in Ecuadorian Shrimp Industry. *Journal of Aquaculture Research & Development*, *11*, 1–5. <https://doi.org/10.35248/2155-9546.19.10.591>
- Hsieh, C. W. (2016). Geotextiles in agriculture and aquaculture. In *Geotextiles: From Design to Applications*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100221-6.00023-1>
- Ijoma, G. N., Selvarajan, R., Oyourou, J. N., Sibanda, T., Matambo, T., Monanga, A., & Mkansi, K. (2019). Exploring the application of biostimulation strategy for bacteria in the bioremediation of industrial effluent. *Annals of Microbiology*, *69*(5), 541–551. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-1443-6>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2014). *Código de práctica para limpieza, desinfección*

y esterilización en establecimientos de salud.

[http://181.112.149.204/buzon/normas/cpe\\_inen\\_20-1.pdf](http://181.112.149.204/buzon/normas/cpe_inen_20-1.pdf)

- Jácome, J., Abad, C. Q., Romero, O. S., Pérez, J. E., & Nirchio, M. (2019). Tilapia in Ecuador: Paradox between aquaculture production and the protection of Ecuadorian biodiversity. *Revista Peruana de Biología*, 26(4), 543–550. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i4.16343>
- Ji, B., Yang, K., Zhu, L., Jiang, Y., Wang, H., Zhou, J., & Zhang, H. (2015). Aerobic Denitrification : A Review of Important Advances of the Last 30 Years. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 651, 643–651. <https://doi.org/10.1007/s12257-015-0009-0>
- John, E. M., Krishnapriya, K., & Sankar, T. V. (2020). Treatment of ammonia and nitrite in aquaculture wastewater by an assembled bacterial consortium. *Aquaculture*, 526(October 2019), 735390. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735390>
- Juan, A. (2017). *Redalyc.CASE STUDY ON NITRIFICATION RATES IN A NON-STIRRED MEMBRANE-AERATED BIOFILM REACTOR OPERATED UNDER LAMINAR REGIME*. <https://doi.org/10.4090/juee.2017.v11n2.193201>
- Kalantary, R. R., Mohseni-Bandpi, A., Esrafil, A., Nasser, S., Ashmagh, F. R., Jorfi, S., & Ja'fari, M. (2014). Effectiveness of biostimulation through nutrient content on the bioremediation of phenanthrene contaminated soil. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 12(1), 143. <https://doi.org/10.1186/s40201-014-0143-1>
- Kamarudin, K. F., Tao, D. G., Yaakob, Z., Takriff, M. S., Rahaman, M. S. A., & Salihon, J. (2015). A review on wastewater treatment and microalgal by-product production with a prospect of palm oil mill effluent (POME) utilization for algae. *Der Pharma Chemica*, 7(7), 73–89.
- Kermani, M., Bina, B., Movahedian, H., Amin, M. M., & Nikaein, M. (2008). Application of moving bed biofilm process for biological organics and nutrients removal from municipal wastewater. *American Journal of Environmental Sciences*, 4(6), 675–682. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2008.675.682>
- Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M. S., Saqlan, S. M., & Rasheed, M. (2009). Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. *Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1(1), 48–58.

- Khanichaidecha, W., Nakaruk, A., Ratananikom, K., Eamrat, R., Kasama, F. (2019). Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification using pure-culture bacteria for wastewater treatment W. Khanichaidecha, A. Nakaruk, K. Ratananikom, R. Eamrat. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 09(1), 10–17.  
<https://doi.org/10.2166/wrd.2018.064>
- Kratzer, J. T., Lanaspá, M. A., Murphy, M. N., Cicerchi, C., Graves, C. L., Tipton, P. A., Ortlund, E. A., Johnson, R. J., & Gaucher, E. A. (2014). Evolutionary history and metabolic insights of ancient mammalian uricases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(10), 3763–3768.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1320393111>
- Kumar, J. Y., Reddy, S. J., & Suguna, T. (2020). Role of Plankton in Aquaculture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(9), 2848–2851.  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.909.351>
- Lan, S., Lai, Y., Wang, L., Liu, W., Liu, J., Liu, D., Li, K., Cao, Q., Wei, K., & Lan, H. (2022). Treatment of nitrate-nitrogen-containing wastewater via aerobic denitrifying bacteria using different carbon sources. *BioResources*, 17(2), 1972–1987.  
<https://doi.org/10.15376/biores.17.2.1972-1987>
- Langergraber, G., Rieger, L., Winkler, S., Alex, J., Wiese, J., Owerdieck, C., Ahnert, M., Simon, J., & Maurer, M. (2004). A guideline for simulation studies of wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*, 50(7), 131–138. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0436>
- Lazzari, R., Baldisserotto, B., De Nitrogênio, E., Fósforo, E., & Resumo, E. P. (2008). Nitrogen and Phosphorus Waste in Fish Farming. *LAZZARI e BALDISSEROTTO B. Inst. Pesca*, 34(344), 591–600.
- Lee, W. N., Kang, I. J., & Lee, C. H. (2006). Factors affecting filtration characteristics in membrane-coupled moving bed biofilm reactor. *Water Research*, 40(9), 1827–1835.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.03.007>
- Lefebvre, O., Ng, K. K., Tang, M., & Ng, H. (2013). Chapter 12: Hybrid processes, new generation membranes and MBR designs. *Membrane Biological Reactors: Theory, Modeling, Design, Management and Applications to Wastewater Reuse, January*, 379–400.

- Lei, Y., Saakes, M., van der Weijden, R. D., & Buisman, C. J. N. (2018). Effects of current density, bicarbonate and humic acid on electrochemical induced calcium phosphate precipitation. *Chemical Engineering Journal*, 342(February), 350–356.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.02.104>
- Lepine, C., Christianson, L., Davidson, J., & Summerfelt, S. (2018). Woodchip bioreactors as treatment for recirculating aquaculture systems' wastewater: A cost assessment of nitrogen removal. *Aquacultural Engineering*, 83(August), 85–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.09.001>
- Lezama-Cervantes, C., Paniagua-Michel, J. de J., & Zamora-Castro, J. (2010). Biorremediación de los efluentes de cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) utilizando tapetes microbianos en un sistema de recirculación. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38(1), 129–142. <https://doi.org/10.3856/vol38-issue1-fulltext-12>
- Li, H., Wu, S., Du, C., Zhong, Y., & Yang, C. (2020). Preparation, performances, and mechanisms of microbial flocculants for wastewater treatment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1360.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph17041360>
- Li, X., Wang, T., Fu, B., & Mu, X. (2021). Aquaculture Water Quality Improvement by Mixed Bacillus and Its Effects on Microbial Community Structure. *Environmental Science and Pollution Research*, 1–19. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1057159/v1>
- Liang, D. hui, Hu, Y., Liang, D., Chenga, J., & Chena, Y. (2021). Bioaugmentation of Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) with *Achromobacter* JL9 for enhanced sulfamethoxazole (SMX) degradation in aquaculture wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207(August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111258>
- Liang, S., Zhao, M., Lu, L., Wang, C., Zhao, L., & Liu, W. (2011). Isolation and characteristic of an aerobic denitrifier with high nitrogen removal efficiency. *African Journal of Biotechnology*, 10(52), 10648–10656. <https://doi.org/10.5897/AJB11.569>
- Liu, W., Du, X., Tan, H., Xie, J., Luo, G., & Sun, D. (2021). *Science of the Total Environment Performance of a recirculating aquaculture system using bio flocculants with convertible water-treatment efficiencies. 754.*

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141918>

- Liu, W. L., & Li, X. (2018). Flow distribution in a novel fixed bed bionic reactor. *Chemical Engineering Science*, 191(June), 525–536. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2018.06.063>
- Liu, X., Xu, Q., Guo, Y., Yu, X., & Deng, T. (2017). Ammonia Nitrogen Speciation Analysis in Aquatic Environments. *Proceedings of the 2016 International Conference on Biological Engineering and Pharmacy (BEP 2016)*, 3(Bep), 339–341. <https://doi.org/10.2991/bep-16.2017.75>
- Liu, Y., Ngo, H. H., Guo, W., Peng, L., Wang, D., & Ni, B. (2019). The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: A review. *Environment International*, 123(October 2018), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.039>
- López-Millán, A. F., Sagardoy, R., Solanas, M., Abadía, A., & Abadía, J. (2009). Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in hydroponics. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2–3), 376–385. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.11.010>
- López-Rebollar, B. M., Salinas-Tapia, H., García-Pulido, D., Durán-García, M. D., Gallego-Alarcón, I., Fonseca-Ortiz, C. R., García-Aragón, J. A., & Díaz-Delgado, C. (2021). Performance study of annular settler with gratings in circular aquaculture tank using computational fluid dynamics. *Aquacultural Engineering*, 92(June 2020). <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102143>
- Lotze, H. K., Guest, H., O’Leary, J., Tuda, A., & Wallace, D. (2018). Public perceptions of marine threats and protection from around the world. *Ocean and Coastal Management*, 152(November 2017), 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2017.11.004>
- Lu, J., Zhang, Y., Wu, J., & Wang, J. (2020). Nitrogen removal in recirculating aquaculture water with high dissolved oxygen conditions using the simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification system. *Bioresource Technology*, 305(November 2019), 123037. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123037>
- Luna-Imbacuán, M. A., Campos-Bermúdez, F., & Medina-Gutiérrez, O. (2016). Evaluación de las aguas residuales del lavado de estanques multipropósito con cultivo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 17(2), 191–202.



[https://doi.org/10.21930/rcta.vol17\\_num2\\_art:488](https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num2_art:488)

- MAATE. (2015). Norma De Calidad Ambiental Y De Descarga De Efluentes. In *Registro Oficial No. 387* (Issue 097). <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu155128.pdf>
- MAGAP. (2015). *Memorias del Primer Foro Ecuatoriano de Maricultura* (Issue January). <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1652.8087>
- Maharjan, A. K., Kamei, T., Amatya, I. M., Mori, K., Kazama, F., & Toyama, T. (2020). Ammonium-Nitrogen (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) Removal from Groundwater by a Dropping Nitrification Reactor: Characterization of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N Transformation and Bacterial Community in the Reactor. *Water (Switzerland)*, *12*(2), 1–13. <https://doi.org/10.3390/w12020599>
- Martha Prieto, G., & Victor Atencio, G. (2008). Zooplankton en la larvicultura de peces neotropicales. *Revista MVZ Cordoba*, *13*(2), 1415. <https://doi.org/10.21897/rmvz.401>
- Martínez, V. D. (2010). Remoción de nitrógeno en un reactor biológico por combinación de biomasa en suspensión y lecho fijo. In *Instituto Mexicano de Tecnología del Agua*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Mehrotra, T., Dev, S., Banerjee, A., Chatterjee, A., Singh, R., & Aggarwal, S. (2021). Use of immobilized bacteria for environmental bioremediation: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(5), 105920. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105920>
- Mekuto, L., Kim, Y. M., Ntwampe, S. K. O., Mewa-Ngongang, M., Mudumbi, J. B. N., Dlangamandla, N., Itoba-Tombo, E. F., & Akinpelu, E. A. (2019). Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification potential of cyanide and thiocyanate degrading microbial communities under cyanogenic conditions. *Environmental Engineering Research*, *24*(2), 254–262. <https://doi.org/10.4491/EER.2018.147>
- Metcalf & Eddy. (2003). *INGENIERIA DE AGUAS RESIDUALES TRATAMIENTO, VERTIDO Y REUTILIZACION* (F. TCHOBANOGLOUS, GEORGE. BURTON (ed.); 3rd ed.). McGraw-Hill.
- Metcalf, E. (2000). *Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización*.
- Młyński, D., Bugajski, P., & Młyńska, A. (2019). Application of the mathematical simulation methods for the assessment of the waste water treatment plant operation work reliability.

*Water (Switzerland)*, 11(5), 873. <https://doi.org/10.3390/w11050873>

Mpongwana, N., Ntwampe, S. K. O., Omodanisi, E. I., Chidi, B. S., Razanamahandry, L. C., Dlangamandla, C., & Mukandi, M. R. (2020). Bio-kinetics of simultaneous nitrification and aerobic denitrification (SNaD) by a cyanide- degrading bacterium under cyanide-laden conditions. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(14), 1–14.  
<https://doi.org/10.3390/app10144823>

Mustapha, A., & Bakali, M. El. (2021). Phosphorus Waste Production in Fish Farming a Potential for Reuse in Integrated Aquaculture Agriculture. *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR) ISSN*, 7(1).  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.4482931>

Musyoka, S. N. (2016). Types and Mechanisms of Bioremediation. *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*, 1(January), 138–155.

Myszograj, S. (2018). Mechanisms of Biological Processes in Domestic Wastewater Treatment Plants. *Civil and Environmental Engineering Reports*, 28(3), 177–192.  
<https://doi.org/10.2478/ceer-2018-0045>

Neofitou, N., & Klaoudatos, S. (2008). Effect of fish farming on the water column nutrient concentration in a semi-enclosed gulf of the Eastern Mediterranean. *Aquaculture Research*, 39(5), 482–490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01900.x>

Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A. H., Kraemer, G. P., Halling, C., Shpigel, M., & Yarish, C. (2004). Integrated aquaculture: Rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture*, 231(1–4), 361–391.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.015>

Numberger, D., Ganzert, L., Zoccarato, L., Mühldorfer, K., Sauer, S., Grossart, H. P., & Greenwood, A. D. (2019). Characterization of bacterial communities in wastewater with enhanced taxonomic resolution by full-length 16S rRNA sequencing. *Scientific Reports*, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46015-z>

Nur, S., Abu, H., Hasan, H. A., Mohammad, A. W., Rozaimah, S., Abdullah, S., Ngteni, R., Muis, K., & Yusof, M. (2020). Performance of a laboratory-scale moving bed biofilm reactor (MBBR) and its microbial diversity in palm oil mill effluent (POME) treatment.

*Process Safety and Environmental Protection*, 142, 325–335.

<https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.05.004>

- Ochoa, S. A., Erosa, G., Vega, D., & Nevárez, V. (2015). Amonio-Oxidasas Bacterianas Y Arqueales Involucradas En El Ciclo Del Nitrógeno. *Terra Latinoamericana*, 33(3), 233–245.
- Ome Barrera, Ó., & Zafra Mejía, C. (2018). Factores clave en procesos de biorremediación para la depuración de aguas residuales. Una revisión. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 21(2). <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n2.2018.1037>
- OMS. (2019). Guías para la calidad del agua de consumo humano. In *Organización Mundial de la Salud* (Vol. 4). <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272403/9789243549958-spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pakeman, R. J., Alexander, J., Brooker, R., Cummins, R., Fielding, D., Gore, S., Hewison, R., Mitchell, R., Moore, E., Orford, K., Pemberton, C., Trinder, C., & Lewis, R. (2016). Long-term impacts of nitrogen deposition on coastal plant communities. *Environmental Pollution*, 212, 337–347. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.084>
- Paredes-Mendoza, M., & Espinosa-Victoria, D. (2009). Organic Acids Produced by Phosphate Solubilizing Rhizobacteria : A Critical Review. *Terra Latinoamericana*, 28, 61–70.
- Paredes, D., Kusch, P., Mbwette, T. S. A., Stange, F., Müller, R. A., & Köser, H. (2007). New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment - A review. *Engineering in Life Sciences*, 7(1), 13–25. <https://doi.org/10.1002/elsc.200620170>
- Parra Cortés, R. (2018). La Agenda 2030 y sus Objetivos de Desarrollo Sostenible. *Revista de Derecho Ambiental*, 10, 99. <https://doi.org/10.5354/0719-4633.2018.52077>
- Pathak, N., & Mahajan, P. V. (2017). Ethylene Removal From Fresh Produce Storage: Current Methods and Emerging Technologies. In *Reference Module in Food Science* (Issue 2014, pp. 1–6). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22330-5>
- Rajta, A., Bhatia, R., Setia, H., & Pathania, P. (2020). Role of heterotrophic aerobic denitrifying bacteria in nitrate removal from wastewater. *Journal of Applied Microbiology*, 128(5), 1261–1278. <https://doi.org/10.1111/jam.14476>
- Rincón, A., & Herrera, O. F. (2014). Esquema para el dimensionamiento de unidades de

- sedimentación de alta tasa de flujo ascendente. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 8(16), 29–40.
- Rodziewicz, J., Ostrowska, K., Janczukowicz, W., & Mielcarek, A. (2019). Effectiveness of nitrification and denitrification processes in biofilters treating waste water from de-icing airport runways. *Water (Switzerland)*, 11(3), 630. <https://doi.org/10.3390/w11030630>
- Rosso, L., & Giannuzzi, L. (2017). Factores ambientales y antropogénicos que afectan la formación de floraciones de cianobacterias y cianotoxinas. *Cianobacterias Como Determinantes Ambientales de La Salud*, 79–93.
- Rurangwa, E., & Verdegem, M. C. J. (2015). Microorganisms in recirculating aquaculture systems and their management. *Reviews in Aquaculture*, 7(2), 117–130. <https://doi.org/10.1111/raq.12057>
- Saavedra, M. (2006). Manejo del cultivo de tilapia. Managua, Nicaragua. In *Manejo Del Cultivo De Tilapia* (pp. 1–27).
- Schmidt, D., Jacobson, L., & Nicolai, R. (2004). Biofilter design information. *University of Minnesota, March*. <http://www.extension.umn.edu/agriculture/manure-management-and-air-quality/air-quality/biofilter-design-information/>
- SENAGUA. (2016). Estrategia Nacional de Calidad del Agua. *Ministerio de Ambiente, Ecuador*, 97. [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2019/05/Estrategia-Nacional-de-Calidad-del-Agua\\_2016-2030.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2019/05/Estrategia-Nacional-de-Calidad-del-Agua_2016-2030.pdf)
- Shalini, & Y., P. S. (2019). Multistage fluidized bed bioreactor for dye decolorization using immobilized polyurethane foam: A novel approach. *Biochemical Engineering Journal*, 152(September), 107368. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107368>
- Sharma, I. (2021). Bioremediation Techniques for Polluted Environment: Concept, Advantages, Limitations, and Prospects. In *Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90453>
- Shen, M., Li, Q., Ren, M., Lin, Y., Wang, J., Chen, L., Li, T., & Zhao, J. (2019). Trophic Status Is Associated With Community Structure and Metabolic Potential of Planktonic Microbiota in Plateau Lakes. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02560>
- Shen, X., Xu, M., Li, M., Zhao, Y., & Shao, X. (2020). Response of sediment bacterial communities to the drainage of wastewater from aquaculture ponds in different seasons.

*Science of the Total Environment*, 717, 137180.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137180>

Shitu, A., Liu, G., Zhang, Y., Ye, Z., Zhao, J., Zhu, S., & Liu, D. (2021). Enhancement of mariculture wastewater treatment using moving bed biofilm reactors filled with modified biocarriers: Characterisation, process performance and microbial community evaluation. *Journal of Environmental Management*, 291(April), 112724.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112724>

Sikora, M., Nowosad, J., & Kucharczyk, D. (2020). Comparison of different biofilter media during biological bed maturation using common carp as a biogen donor. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(2), 626. <https://doi.org/10.3390/app10020626>

Soliman, M., & Eldyasti, A. (2018). Ammonia-Oxidizing Bacteria (AOB): opportunities and applications—a review. *Environ Sci Biotechnol*, 17(July). <https://doi.org/10.1007/s11157-018-9463-4>

Sowinska, A., & Makowska, M. (2016). Suspended and immobilized biomass in individual wastewater treatment systems SBR and SBBR. *Desalination and Water Treatment*, 57(50), 23610–23621. <https://doi.org/10.1080/19443994.2016.1140077>

Stottmeister, U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O., Müller, R. A., & Moormann, H. (2003). Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*, 22(1–2), 93–117.  
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.08.010>

Su, F., Xue, L., Huang, T., Wei, L., & Wen, Q. (2019). Performance and microbial community of simultaneous removal of NO<sub>3</sub>-N, Cd<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> in MBBR. *Journal of Environmental Management*, 250(August). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109548>

Suantika, G., Pratiwi, M., & Situmorang, M. (2016). Ammonium Removal by Nitrifying Bacteria Biofilm on Limestone and Bioball Substrate Established in Freshwater Trickling Biofilter. *Poultry, Fisheries & Wildlife Sciences*, 04(02), 2–7. <https://doi.org/10.4172/2375-446x.1000157>

Sugiura, S. H. (2018). Phosphorus, Aquaculture, and the Environment. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 26(4), 515–521. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1471040>

- Summerfelt, S. T., Zühlke, A., Kolarevic, J., Reiten, B. K. M., Selset, R., Gutierrez, X., & Terjesen, B. F. (2015). Effects of alkalinity on ammonia removal, carbon dioxide stripping, and system pH in semi-commercial scale water recirculating aquaculture systems operated with moving bed bioreactors. *Aquacultural Engineering*, 65, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.11.002>
- Tagesu, A. (2018). Microbiology examination. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 65–77. <https://doi.org/10.17352/ijvsr>
- Takenaka, S., Zhou, A. Q., Kuntiya, A. A., & Seesuriyachan, P. (2007). Isolation and characterization of thermotolerant bacterium utilizing ammonium and nitrate ions under aerobic conditions. 385–390. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9255-8>
- Tirado, J. O. (2015). Generalidades y conceptos generales. In *ACUACULTURA* (pp. 4–10).
- Toni, M., Manciooco, A., Angiulli, E., Alleva, E., Cioni, C., & Malavasi, S. (2019). Review: Assessing fish welfare in research and aquaculture, with a focus on European directives. *Animal*, 13(1), 161–170. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000940>
- Tseng, H. K. H. S. K. (2001). Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment. *Appl Microbiol Biotechnol*, 90–94.
- Tyson, R. V., Simonne, E. H., Davis, M., Lamb, E. M., White, J. M., & Treadwell, D. D. (2007). Effect of nutrient solution, nitrate-nitrogen concentration, and pH on nitrification rate in perlite medium. *Journal of Plant Nutrition*, 30(6), 901–913. <https://doi.org/10.1080/15226510701375101>
- Ulla, E. L. (2015). *Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz ( Zea Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz ( Zea mays L .) Isolation and char. August*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1763.8246>
- Urrestarazu Gavilán, M. (2015). *Manual práctico del cultivo sin suelo e hidroponía. February*, 278. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1940.0724>
- Wałęga, A., Chmielowski, K., & Młyński, D. (2018). Influence of the hybrid sewage treatment plant's exploitation on its operation effectiveness in rural areas. *Sustainability (Switzerland)*, 10(8), 2689. <https://doi.org/10.3390/su10082689>

- Wang, D., Duan, Y. Y., Yang, Q., Liu, Y., Ni, B. J., Wang, Q., Zeng, G., Li, X., & Yuan, Z. (2018). Free ammonia enhances dark fermentative hydrogen production from waste activated sludge. *Water Research*, *133*, 272–281.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.051>
- Wang, F., Liu, Y., Wang, J., Zhang, Y., & Yang, H. (2012). Influence of growth manner on nitrifying bacterial communities and nitrification kinetics in three lab-scale bioreactors. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *39*(4), 595–604.  
<https://doi.org/10.1007/s10295-011-1065-x>
- Wang, P., Ji, J., & Zhang, Y. (2020). Aquaculture extension system in China: Development, challenges, and prospects. *Aquaculture Reports*, *17*(May), 100339.  
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100339>
- WCR. (2016). Wastewater Treatment Technologies: A Basic Guide. In SALGA (Ed.), *Wastewater Treatment Technologies* (1er ed., Issue 55). [http://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/TT\\_651\\_15.pdf](http://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/TT_651_15.pdf)
- Wear, S. L. (2019). Battling a common enemy: Joining forces in the fight against sewage pollution. *BioScience*, *69*(5), 360–367. <https://doi.org/10.1093/biosci/biz025>
- White, K., O’Niell, B., & Tzankova, Z. (2004). At a Crossroads : Will Aquaculture Fulfill the Promise of the Blue Revolution ? *A SeaWeb Aquaculture Clearinghouse Report*, 17.  
[www.AquacultureClearinghouse.org](http://www.AquacultureClearinghouse.org)
- Willey, J., Sherwood, L., & Woolverton, C. (2013). Identification of Microorganisms from Specimens. In *Prescott’s Microbiology* (9th ed., pp. 812–814). Mc Graw Hill.
- Wurmann, C. (2017). Regional review on status and trends in aquaculture development in Latin America and the Caribbean – 2015. In *Regional review on status and trends in aquaculture development in Latin America and the Caribbean – 2015* (Vol. 1, Issue 1135/3).  
<https://doi.org/10.4060/cb7811en>
- Xi, H., Zhou, X., Arslan, M., Luo, Z., Wei, J., Wu, Z., & El-din, M. G. (2022). *Science of the Total Environment Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification process : Promising but a long way to go in the wastewater treatment. 805.*  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150212>

- Xiong, J., Zheng, Z., Yang, X., Dai, X., Zhou, T., He, J., & Luo, X. (2018). Recovery of NH<sub>3</sub>-N from mature leachate via negative pressure steam-stripping pretreatment and its benefits on MBR systems: A pilot scale study. *Journal of Cleaner Production*, *203*, 918–925. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.08.285>
- Yang, J., Feng, L., Pi, S., Cui, D., Ma, F., Zhao, H., & Li, A. (2020). Science of the Total Environment A critical review of aerobic denitrification: Insights into the intracellular electron transfer. *Science of the Total Environment*, *731*, 139080. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139080>
- Yildiz, B. S. (2012). Water and wastewater treatment: Biological processes. In *Metropolitan Sustainability: Understanding and Improving the Urban Environment* (pp. 406–428). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857096463.3.406>
- Yorkor, B., & Momoh, Y. (2019). A Review of anoxic wastewater treatment: an overlooked aspect in wastewater treatment in Nigeria. *American Journal of Water Resources*, *7*(4), 136–145. <https://doi.org/10.12691/ajwr-7-4-2>
- Yustiati, A., Nariswari, S., Rostini, I., & Suryadi, I. B. B. (2020). Effect of Stocking Density on Survival Rate and Growth of Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) in Round Container with Water Current Combined with Venturi Aeration System. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, *May*, 52–61. <https://doi.org/10.9734/ajfar/2020/v8i130132>
- Zafra-Mejía, C., Rondón-Quintana, H., & Chaves-Pabón, S. (2021). Biostimulation Of Microorganisms For The Wastewater Pretreatment From Palm Oil Processing. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*, *16*(14), 1461–1470.
- Zehr, J. P., Jenkins, B. D., Short, S. M., & Steward, G. F. (2003). Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: A cross-system comparison. *Environmental Microbiology*, *5*(7), 539–554. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00451.x>
- Zhu, S. M., Deng, Y. Le, Ruan, Y. J., Guo, X. S., Shi, M. M., & Shen, J. Z. (2015). Biological denitrification using poly(butylene succinate) as carbon source and biofilm carrier for recirculating aquaculture system effluent treatment. *Bioresource Technology*, *192*, 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.021>



## ANEXOS

### Anexo 1

*Condiciones generales para la recepción de ensayos en el laboratorio.*

Matriz General	Tipo Ensayo	Cantidad mínima requerida	Condición especial envases	Condiciones de almacenamiento
Agua/Suelos	FQ	2000ml/500g	Plástico o Vidrio	Temperatura ambiente
Agua/Suelos	MIC	200ml/500g	Plástico o Vidrio debe ser estéril	Refrigeración

Los ensayos FQ=Físico químicas y MIC=Microbiológicas, se trasladan de manera diferente debido a una mejor conservación de los microorganismos. Tabla realizada por Centrocasal (2021)


### Anexo 2

*Elementos del diseño del biorreactor*

Material	Cantidad	Descripción
Bidón de agua	1	Plástico de 70L
Bomba de aireación	1	JAD SC-7500
Tapas de botella	225	Plásticas
Biobolas	100	Plásticas de 5cm
Malla de fruta	1	Plástica de 25m
Piedras difusoras	2	Redondas de 2.5 cm
Manguera de pecera	1	Plástica 5m

### Anexo 3

*Fórmulas geométricas para el cálculo de volumen y área en la construcción del biorreactor*

Figura Geométrica	Formula	Descripción	Imagen referencia
Cono Trunco (biorreactor)	$v = \frac{h\pi}{3} (R_1^2 + R_2^2 + R_1 \cdot R_2)$	v= volumen	
		a= área	
	$r = \frac{c}{2\pi}$	r= radio	
		h= altura	
	$a = \pi [R_1^2 + R_2^2 + (R_1 + R_2) \cdot g]$	c= circunferencia	
		R1= radio inferior	

R2= radio superior

g= altura inclinada del cono

Esfera (biobolas)

$$a = 4 \cdot \pi \cdot r^2$$


a= área

r= radio



#### Anexo 4

*Fórmulas geométricas para el cálculo de volumen y área en la construcción del sistema hidropónico*

Figura Geométrica	Formula	Descripción	Imagen referencia
Paralelepípedo	$v = a \cdot b \cdot c$	v=volumen a=altura b=largo c=ancho	

#### Anexo 5




*Elementos del diseño del sistema de agua residual*

Material	Cantidad	Descripción
Canecas	2	Plástico de 70L
Tubo Roscable	1	Plástico PVC de 6m
Adaptador de tanque	9	Plástico PVC
Válvula	4	Plástico PVC
Sella tanque	3	Marca Sikasil antifúngico
Balde	3	Plástico de 74L
Cinta teflón	4	3/4 x 7m x 0,075mm
Topes de agua	2	Trozos de pingo
Lija	1	N° 150
Unión roscable	4	3/4*90
Bomba de recirculación	1	Marca WP-500
Difusor	2	Plástico 14 pulgadas

Manguera de pecera	1	Plástico maleable
Bomba de pecera	1	Marca SB-860A SOBO
Abrazadera	1	Metal 1/2
Tapón	1	Plástico PVC Hembra ¾
Grifo	1	Plástico media pulgada
Sierra	1	Marca Bahco 222 metálica
Adaptador de silicona	1	Marca Orgil metálico
Tarrajá	1	Cortador Kt205-112 de ¾
Llave inglesa	1	Marca Diamond metálica pequeña
Pinza de presión	1	Marca Knova metálica grande
Cortador de tubo	1	Marca Truper 3-30mm 1/8"-11/8"
Taladro	1	Marca Bosch pequeño
Nivel	1	Marca Bellota pequeño
Metro	1	Marca Kyoto 5m
Sacabocados	1	Marca Truper 28.5mm-1 1/8"
Manguera de agua	1	Plástico maleable para nivelar agua
Extensión	1	3m con 3 conexiones
Destornillador	1	Marca Stanley plano

## Anexo 6

*Materiales para medición de parámetros fisicoquímicos del biorreactor y el sistema de tratamiento de aguas residuales*

Materiales	Parámetro analizado	Rangos de medición	Imagen referencia
<b>Prueba colorimétrica marca "SERA"</b>	amonio/amoniaco (NH <sub>4</sub> /NH <sub>3</sub> )	0 mgL <sup>-1</sup> – 10 mgL <sup>-1</sup>	
	nitrito (NO <sub>2</sub> )	0 mgL <sup>-1</sup> – 5 mgL <sup>-1</sup>	
	nitrato (NO <sub>3</sub> )	0 mgL <sup>-1</sup> – 100 mgL <sup>-1</sup>	

fosfatos (PO<sub>4</sub>) 0 mgL<sup>-1</sup> – 10 mgL<sup>-1</sup>



**Milwaukee pH 51**

pH

0 – 14



Solidos totales  
disueltos (TDS)  
Temperatura (T)  
Conductividad  
eléctrica (CE)

0 – 2000 ppm o mgL<sup>-1</sup>

0 – 40°C

0-3999  $\mu$ S/cm<sup>-1</sup>

**Milwaukee EC 59**



## Anexo 7

Análisis estadístico con ajuste de datos para comprobar normalidad: A) Biofiltro 1; B) Biofiltro 2.

A)

Alimentación/Consumo	Variable	n	Media	D.E.	W*	p (Unilateral D)
A	RDUO NO <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	24,69	0,74	0,001
A	RDUO NO <sub>2</sub> (mg/L)	12	0	1,53	0,58	<0,0001
A	RDUO NH <sub>4</sub> /NH <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	3,7	0,8	0,0115
C	RDUO NO <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	28,3	0,86	0,0863
C	RDUO NO <sub>2</sub> (mg/L)	12	0	2,3	0,67	<0,0001
C	RDUO NH <sub>4</sub> /NH <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	0,09	0,48	<0,0001

B)

Alimentación/Consumo	Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
A	RDUO NO <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	19,07	0,57	<0,0001
A	RDUO NO <sub>2</sub> (mg/L)	12	0	1,9	0,64	<0,0001
A	RDUO NH <sub>4</sub> /NH <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	3,65	0,75	0,0012
C	RDUO NO <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	28,21	0,86	0,09
C	RDUO NO <sub>2</sub> (mg/L)	12	0	2,34	0,65	<0,0001
C	RDUO NH <sub>4</sub> /NH <sub>3</sub> (mg/L)	12	0	0,06	0,37	<0,0001

La tabla representa el análisis estadístico con los residuos para determinar la normalidad:  $p > 0,025$  en unilateral (distribución normal): n (número de datos), D.E. (desviación estándar), W\* (Shapiro-Wilks).

## Anexo 8

Análisis estadístico con método no paramétrico Wilcoxon: A) Biofiltro 1; B) Biofiltro 2.

A)

Clasificación	Variab le	Grup o 1	Grup o 2	n(1 )	n(2 )	Media( 1)	Media( 2)	DE( 1)	DE( 2)	W	p(2 colas)
Alimentación/Consumo	NO <sub>3</sub> (mg/L)	A	C	12	12	61,25	39	24,6 9	28,3	183, 5	0,034 5
Alimentación/Consumo	NO <sub>2</sub> (mg/L)	A	C	12	12	4,17	1,93	1,53	2,3	191	0,009 6
Alimentación/Consumo	NH <sub>4</sub> /N H <sub>3</sub> (mg/L)	A	C	12	12	3,74	0,03	3,7	0,09	220	<0,00 01

B)

Clasificación	Variab le	Grup o 1	Grup o 2	n(1 )	n(2 )	Media( 1)	Media( 2)	DE( 1)	DE( 2)	W	p(2 colas)
Alimentación/Consumo	NO <sub>3</sub> (mg/L)	A	C	12	12	63,33	39,08	22,7	28,2 1	18 7	0,022
Alimentación/Consumo	NO <sub>2</sub> (mg/L)	A	C	12	12	4,38	1,87	1,49	2,34	19 2	0,0065
Alimentación/Consumo	NH <sub>4</sub> /N H <sub>3</sub> (mg/L)	A	C	12	12	2,76	0,02	3,63	0,06	22 0	<0,00 01

La tabla representa el análisis estadístico con método Wilcoxon:  $p < 0,05$  existe diferencia en la alimentación y el consumo: n (número de datos), D.E. (desviación estándar), W\* (Shapiro-Wilks)

## Anexo 9

*Cepas identificadas en biofiltros con biobolas y tapas de botella*

<b>Codificación</b>	<b>Tinción Gram</b>	<b>Morfología</b>	<b>Género</b>
Bt3 10-4	Gram (+)	coco	<i>Staphylococcus sp.</i>
Bt2 10-4	Gram (+)	bacilos	<i>Bacilos sp.</i>
Bt4.1 10-1	Gram (+)	coco	<i>Staphylococcus sp.</i>
Bt4 10-1	Gram (+)	bacilos	<i>Bacilos sp.</i>
Bt2 10-5	Gram (+)	coco	<i>Staphylococcus sp.</i>
Bt3 10-5	Gram (+)	bacilos	<i>Acinetobacter sp.</i>
Bt1 10-7	Gram (+)	coco	<i>Staphylococcus sp.</i>
Bt2 10-6	Gram (+)	coco	<i>Staphylococcus sp.</i>
Bt2 10-7	Gram (+)	coco	<i>Staphylococcus sp.</i>
Bt3 10-6	Gram (+)	bacilos	<i>Acinetobacter sp.</i>
Bt3 10-7	Gram (+)	coco	<i>Staphylococcus sp.</i>
Bt2 10-1	Gram (-)	bacilos	<i>Flavobacterium sp.</i>
Bb1 10-7	Gram (-)	bacilos	<i>Flavobacterium sp.</i>
Bb1 10-6	Gram (+)	bacilos	<i>Bacilos sp.</i>
Bb2 10-7	Gram (+)	bacilos	<i>Acinetobacter sp.</i>
Bb7 10-7	Gram (-)	bacilos	<i>Pseudomonas sp.</i>

## Anexo 10

*Cálculos teóricos de parámetros de diseño*

<b>Variable</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Cálculo</b>	<b>Unidades</b>
HRTmin	$HRTmin = \frac{1}{\mu m}$	50,00	h
Caudal	$Q = \frac{Volumen}{Tiempo}$	20	h
SRTmin	$SRTmin = \frac{1}{\mu}$	250	h
SRT	$SRT = \frac{1}{\mu} k_d$	250,01	h
Smin	$Smin = \frac{k_d}{\mu m} k_s$	3,75	mg/L
Sustrato de salida	$S = \frac{k_s(1 + k_d SRT)}{SRT(\mu m - k_d) - 1}$	13,53	mg/L

**Anexo 11**

*Concentraciones de nitrógeno en la entrada y salida de los biofiltros 1 y 2*

<b>Biofiltro 1</b>	<b>NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub></b>	<b>NO<sub>2</sub></b>	<b>NO<sub>3</sub></b>
Entrada promedio	4,11	1,26	12,13
Salida promedio	0,07	0,73	7,94
<b>Biofiltro 2</b>	<b>NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub></b>	<b>NO<sub>2</sub></b>	<b>NO<sub>3</sub></b>
Entrada promedio	1,82	1,00	12,08
Salida promedio	0,02	0,59	9,03