



UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



OPERACIÓN DE UN SISTEMA DE LODOS ACTIVADOS PARA LA ELIMINACIÓN DE AMONIO EN AGUAS DE CULTIVOS DE SALMONES

Tesis para optar al título de Bioingeniero

PATRICIO IGNACIO SANHUEZA AMAZA

Tutor Dra. Gladys Vidal

Concepción (2013)

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	6
ABSTRACT	8
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. La industria de salmonicultura.....	9
1.1.1. Producción de salmón a nivel mundial y nacional.....	9
1.1.2. Proceso productivo del salmón	10
1.2. Impacto ambiental asociado a la industria del salmón	11
1.3. Características de las aguas provenientes de la industria del salmón	13
1.4. Tecnologías para mejorar la calidad de las aguas provenientes de la industria del salmón. 14	
1.5. Eliminación de amonio mediante sistemas de lodos activados. Efecto de las variables operacionales.	17
2. METODOLOGÍA	21
2.1. Influyente	21
2.2. Inóculo	21
2.3. Sistemas de lodos activados.....	21
2.4. Métodos analíticos	23
3. RESULTADOS	25
3.1. Operación del reactor de lodos activados	25
3.2. Parámetros de eficiencia de operación.....	28
3.3. Caracterización de la biomasa bacteriana	33
4. DISCUSIÓN	36
4.1. Parámetros operacionales y de eficiencia del reactor de lodos activados.....	36

4.2.	Evolución de la biomasa durante la operación del reactor	41
5.	CONCLUSIONES	43
6.	AGRADECIMIENTOS	44
7.	BIBLIOGRAFÍA	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo del nitrógeno.	14
Figura 2. Sistema de lodos activados.....	23
Figura 3. Tiempo de retención hidráulico del sistema de lodos activados.	25
Figura 4. pH del influente y efluente del reactor a lo largo del tiempo de operación. ...	26
Figura 5. Concentración de OD y potencial Redox en el sistema de lodos activados....	27
Figura 6. Eficiencia de eliminación de DQO en etapa de alimentación con carbono orgánico (CH_3COONa).....	29
Figura 7. Eficiencia de eliminación de amonio durante el tiempo de operación y actividad amonio oxidante.	30
Figura 8. Concentración de nutrientes a lo largo del tiempo de operación del reactor de lodo activado.....	31
Figura 9. Balances de materia carbonacea y nitrogenada para la primera etapa de operación.....	32
Figura 10. Balance de materia nitrogenada correspondiente a la segunda etapa de operación.....	33
Figura 11. Relación entre IVL y razón A/M.....	34
Figura 12. Microorganismos presentes en el sistema en la primera etapa de operación.	34
Figura 13. Lodo filamentoso presente en el sistema en la segunda etapa de operación.	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Determinación de la alcalinidad del sistema de lodos activados.	28
--	----

ABREVIATURAS

A/M	Razón Alimento/Microorganismos	(gDQO/gSSV·d)
BAO	Bacteria Amonio Oxidante	
BNO	Bacteria Nitrito Oxidante	
DBO₅	Demanda Biológica de Oxígeno	(mg/L)
DQO	Demanda Química de Oxígeno	(mg/L)
IVL	Índice Volumétrico del lodo	(mL Sol. Sed/gSSV)
OD	Oxígeno Disuelto	(mg/L)
SST	Sólidos Suspendidos Totales	(g/L)
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles	(g/L)
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico	días
VCO	Velocidad de Carga Orgánica	(gDQO/L·d)

RESUMEN

Chile presenta producciones aproximadas de salmón de 1,44 millones de toneladas. Esta producción ha significado una serie de problemas ambientales (eutrofización) relacionados principalmente con la presencia de nitrógeno. La fuente principal de nitrógeno, corresponde a las proteínas (35-50%) presentes en la alimentación, que al no ser asimilada completamente por el pez, son excretadas en forma de amonio (NH_4^+) y liberada al medio ambiente, pudiendo provocar toxicidad en organismos acuáticos. El NH_4^+ bajo condiciones de $\text{pH} > 8,1$, es transformado en amoniaco (NH_3). Estudios previos han demostrado que concentraciones entre 0,02 - 0,07 mg N- NH_3 /L ocasionan en peces inhibición del crecimiento e irritación branquial.

De acuerdo a lo anterior, el objetivo del presente trabajo, es evaluar un sistema de lodos activados para la eliminación del NH_4^+ presente en aguas residuales de cultivo de salmones, mediante el proceso biológico de nitrificación. Se implementó un reactor de lodos activados el cual fue inoculado con 5 gSSV/L, cuya concentración de oxígeno disuelto fue > 2 mg/L. El estudio fue realizado en dos etapas, utilizando en cada una un influente sintético (0,33 g NH_4^+ /L·d). La primera etapa, cuenta con una fuente de carbono orgánica (CH_3COONa), mientras que la segunda etapa de operación contó con una fuente de carbono inorgánica (NaHCO_3) La actividad de bacterias heterotróficas y nitrificantes fue evaluada mediante ensayos de respirometría. La máxima eficiencia de eliminación de NH_4^+ se encontró en la primera etapa de operación, correspondiendo a un 49,7% con un valor máximo de actividad amonio oxidante de 0,47 mgO_2 /L·min. El balance de materia, el origen del inóculo y el tiempo de aclimatación corrobora los datos obtenidos, demostrando que en la primera etapa de operación se registran las máximas eliminaciones de Demanda Química de Oxígeno y NH_4^+ , con valores de capacidad de bacterias heterotróficas de 1,5 gO_2 /d y de Bacterias Amonio Oxidantes de 1,72 gO_2 /d.

ABSTRACT

Nowadays, salmon production in Chile is about 1.44 million tons. This production has meant a number of environmental problems mainly related to the presence of nitrogen (e.g. eutrophication). The main source of nitrogen are proteins (35-50%) present in the feed, which, not being fully assimilated by the fish, are excreted in the form of ammonium (NH_4^+) and released to the environment and can cause toxicity in aquatic organisms. The ammonium under pH higher than 8.1, is transformed into ammonia (NH_3). Previous studies have shown that concentrations ranging from 0.02 to 0.07 mgN- NH_3 /L cause growth inhibition in fish and gill irritation. According to this, the aim of this study is to evaluate the removal of NH_4^+ present in salmon farming wastewater by nitrification. Using an activated sludge reactor which was inoculated with 5 gSSV/L, the concentration of dissolved oxygen was higher than 2 mg/L. The study was conducted in two stages, using in each a synthetic influent (0.33 g NH_4^+ /L·d). The first stage has an organic carbon source (CH_3COONa), while the second stage of operation has a source of inorganic carbon (NaHCO_3). The activity of nitrifying and heterotrophic bacteria was assessed using respirometry test. The maximum NH_4^+ removal efficiency was found in the first stage of operation, corresponding to 49.7%. The maximum value of ammonium oxidizing activity was 0.47 mg O_2 /L·min. The mass balance, the source of the inoculum and the acclimatization period corroborated the data obtained, showing that in the first stage of operation the Chemical Oxygen Demand and NH_4^+ removal, with capacity values of heterotrophic bacteria of 1.5 g O_2 /d and Ammonium Oxidizing Bacteria of 1.72 g O_2 /d.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La industria de salmonicultura

1.1.1. Producción de salmón a nivel mundial y nacional

La producción mundial de Salmón durante el año 2009 fue de 1,44 millones de toneladas (FAO, 2009). El mayor productor de salmón corresponde a Noruega, con un 41% de la producción mundial, seguido de Chile, con un 31% (Directorio Aqua, 2009).

En Chile durante el año 2009, la exportación de salmónes alcanzó un valor de 460 mil toneladas, siendo Japón el principal destinatario (50,9%), seguido de Estados Unidos (17,4%), Latinoamérica (14,9%), y la Unión Europea (3,3%), entre otros (Directorio Aqua, 2009). En el año 2006, la industria del salmón alcanzó retornos económicos de US\$2200 millones (León-Muñoz, 2007). Esta industria en Chile, se concentra en las regiones X, XI y XII, denominado “Cinturón del Salmón”, que se localiza entre las ciudades de Puerto Montt y Punta Arenas.

Las especies salmonídeas en nuestro país son especies introducidas, en 1921, el salmón Coho u *Oncorhynchus kisutch* fue introducido por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). Desde el año 1973, el IFOP implementó tecnologías pioneras desde el extranjero para el cultivo de diferentes especies acuícolas, además de traer a Chile expertos extranjeros para transmitir sus conocimientos a la comunidad acuícola. Luego en 1974, se empezó a cultivar la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en Chile, con un objetivo netamente comercial para consumo nacional y exportación. Después, en 1976, se construyeron las 2 primeras jaulas para alevines además de llegar a Chile 500 mil ovas de salmón Coho para que finalmente a principios de los años 80, gracias un pequeño grupo de empresarios, con un alto nivel de riesgo en ese entonces, se comenzó a cultivar el salmón en Chile (SalmonChile, 2012).

El salmón, es una de las pocas especies cuyo desarrollo fisiológico lo realiza tanto en agua salada como dulce. Las etapas de reproducción, ocurren en agua dulce, como ríos y lagos, mientras que, gran parte del desarrollo y maduración la efectúa en

agua salada. Para finalmente retornar e incubar sus crías en sistemas dulceacuícolas (Muñoz, 2009).

1.1.2. Proceso productivo del salmón

El proceso productivo del salmón, se divide en tres etapas fundamentales: piscicultura, la etapa de mar, y la de faena (SalmonChile, 2011). El siguiente proyecto, considera como fundamento la primera etapas.

Piscicultura. Esta etapa del proceso productivo se subdivide en las cuatro primeras fases del desarrollo fisiológico del salmón. Esta se realiza en agua dulce.

a) **Fertilización:** En otoño se produce el desove de los reproductores. Por consiguiente, se cosechan las ovas de las hembras y el semen de los machos, resultando la ova fertilizada. Este proceso se realiza a una temperatura de 8 °C, aproximadamente.

b) **Incubación:** La incubación de las ovas ocurre en agua dulce, completando su desarrollo hasta la eclosión. La velocidad con que se desarrollan las ovas depende principalmente de la temperatura del agua durante la incubación. Se requiere una temperatura máxima de 12 °C en condiciones de penumbra o semipenumbra. Durante esta etapa, la manipulación de las ovas debe ser mínima, reduciéndose solo a la extracción cuidadosa de las ovas muertas, que se distinguen fácilmente por su color blanquecino opaco. Luego de 4 semanas en incubadora, los huevos alcanzan el estado de “ova ojo”, adquiriendo la fuerza para tolerar su traslado.

c) **Eclosión:** En esta fase, los alevines rompen el huevo, y pueden empezar a nadar junto a sus sacos vitelinos. Esta primera etapa se lleva a cabo en incubadoras y termina alrededor de 1 mes después, cuando se produce la total absorción del saco vitelino.

d) **Alevinaje:** Cumplida esta fase, el alevín nada libremente y puede comenzar su alimentación, ya sea en la misma incubadora, o en mallas de primera alimentación, hasta convertirse en el alevín “parr”, o salmón juvenil. Es en esta etapa, cuando los peces crecen de forma más rápida debido a sus requerimientos nutricionales.

Etapa del Mar. Durante esta etapa, llevada a cabo en agua salada, se realiza el desarrollo y maduración de los individuos de salmón. Esto se subdivide en tres etapas: smoltificación, engorda y cosecha.

- a) **Smoltificación:** Para el cultivo del salmón en el mar, se han desarrollado balsas-jaulas flotantes. Dichas estructuras tienen la capacidad de soportar fuertes vientos, corrientes y oleajes, característicos del clima presente en el sur de Chile. Cuando los peces alcanzan un peso promedio de 150 g, cuentan con el tamaño suficiente para tolerar el agua de mar, se les denomina “smolt”. Esto ocurre normalmente en la época de primavera del año siguiente a su primera alimentación. Durante este proceso llamado “smoltificación”, el salmón pierde su estado “parr”, cambiando el color del dorso del individuo a pardo o verde, y el estómago se platea.
- b) **Engorda:** En esta etapa, los peces comienzan a ser alimentados por sistemas automatizados, y casi un año después del ingreso a las balsas-jaulas, los peces alcanzan en promedio 1 lb (libra) de peso (454 g). Alcanzado un peso de aproximado de 7 lb, los salmones pueden ser posteriormente cosechados.
- c) **Cosecha:** Esta etapa comienza levantando las mallas y separando los peces por tamaño, para agrupar los que serán extraídos. Por años, este proceso se ha realizado a través de barcos especializados para iniciar el faenamiento junto a las mismas jaulas. En la actualidad, son cada vez más las empresas que contratan los servicios de “well-boats”, los cuales permiten llegar con los peces vivos hasta la misma planta faenadora.

1.2. Impacto ambiental asociado a la industria del salmón

En general, en el proceso productivo del salmón y de acuerdo al estado fisiológico del salmón, se requiere de una cantidad de agua total de 1354 L/s, para su producción (COREMA, 2005). Así, individuos en estado de incubación necesitan de un caudal de agua de 23 L/s. Mientras que, salmones en estado de alevinaje, requieren de 255 L/s, siendo los individuos pre-smolt, los que necesitan de un mayor caudal de agua en el proceso, 1076 L/s. La alimentación ingerida por los salmones, en las etapas de alevinaje y pre-smolt, corresponden a 260 toneladas de “pellets” por año (COREMA, 2005). Los “pellets” están constituidos en su mayor parte por aceite y harina de pescado (35 – 50%), proteínas (35 – 50%), lípidos (25 – 40%), humedad (10%), cenizas (10%), y fósforo (1,2%) (Reid, 2007). La presencia de proteínas en la alimentación de los salmones, constituye una fuente importante de nutrientes tales como nitrógeno con

aproximadamente el 2,9% (Reid, 2007), entre otros, que pueden repercutir en el crecimiento y desarrollo del salmón, y que son causante de problemas ambientales (ej. eutrofización, etc.) (Lotze y col., 1999; Worm y col., 2000). De este modo, el cultivo intensivo de salmones, y en altas densidades, ocasiona una serie de problemas relacionados con la salud del individuo, y con el medio ambiente.

Por otra parte, de la alimentación ingerida por el pez, sólo un 25% de los nutrientes presentes en él, son asimilados por los salmones, mientras que, entre un 75 a 80% puede quedar en el ambiente a partir del alimento suministrado para la producción (Buschmann, 2001). Se ha estimado que más del 80% del nitrógeno y el 60% del fósforo, contribuido por los desechos de las especies cultivadas, termina en la columna de agua. Estos cambios físico-químicos en la columna de agua, provocan un desbalance en los niveles de nutrientes (ej. nitrógeno y fósforo), una reducción en la concentración de oxígeno disuelto, aumento de la materia orgánica disuelta, alteración del pH, en la transparencia y en la conductividad del agua (Buschmann, 2001).

El uso de antibióticos como parte de la materia prima en la industria del salmón, permite evitar los brotes de enfermedades entre los individuos (ej. Síndrome rickettsial del salmón, Renibacteriosis) (SalmonChile, 2011). Un ejemplo de antibiótico utilizado en la salmonicultura corresponde a la flumequina. Esta quinolona se caracteriza por tener una acción rápida y fuerte frente a bacterias tipo Gram-negativas inhibiendo la ADN-girasa (Onne y col., 1995). Se ha incrementado el uso de este antibiótico de 30 a 100 toneladas entre los años 1998 y 2002 (Bravo y col., 2005; Cabello, 2006). Sin embargo, el uso y el efluente de descarga con presencia de antibióticos puede ocasionar la resistencia de los microorganismos presentes en los ecosistemas (Fortt y col., 2006).

El alto consumo de agua durante la etapa de pre-smolt, la excreción de fecas con un contenido de nitrógeno de 6,24 g N/kg de alimento consumido (Reid, 2007) y el uso de antibióticos, puede ocasionar un serie de impactos ambientales, repercutiendo en la productividad de este rubro acuícola, y afectando la calidad físico-química del agua utilizada durante el proceso.

1.3. Características de las aguas provenientes de la industria del salmón

Las características de las aguas provenientes de la industria del salmón, está determinada principalmente por la calidad del alimento ingerido, y el consumo de agua. De acuerdo a esto, la alimentación en el cultivo de salmones, alrededor de un 75% del nitrógeno, carbono y fósforo que ingresa al sistema, se pierde como alimento no capturado, heces no digeridas y otros productos de excreción (Folke y col., 1998). Un 25% se recupera al cosechar los peces (Buschmann y col., 1996). La excreción de nitrógeno en forma de NH_4^+ por el pez, ha significado un aumento en la concentración de dicho compuesto en las vecindades de las balsas-jaulas, provocando la aparición de microalgas y el fenómeno de la eutrofización (Troell y col., 1997). Esto ha significado un desequilibrio en las relaciones tróficas en el medio acuático y cambios en la diversidad (Buschmann y Fortt, 2005).

Sin embargo, la presencia de nitrógeno en forma de amonio libre (NH_3), es en función de parámetros tales como el pH y la temperatura del medio (Anthonisen y col., 1976). Masser y col. (1999), señalan que los salmones son capaces de tolerar un rango de pH entre valores de 6 a 9,5. No obstante, a un pH en el medio cercano a la neutralidad (7,0), la mayoría del nitrógeno disponible se encuentra en su forma ionizada (NH_4^+) (Losordo y col., 1998). Mientras que, a un pH mayor a 8,1, el nitrógeno se encuentra en su forma desionizada (NH_3) (Losordo y col., 1998). En peces, el NH_3 inhibe el crecimiento a concentraciones entre 0,02-0,07 mg N- NH_3 /L (Masser y col., 1999), siendo además tóxico para los organismos encargados de oxidar los compuestos nitrogenados en el ambiente acuático como las bacterias nitrificantes. (Anthonisen y col., 1976).

El NH_4^+ presente en el medio acuático de cultivo de salmones, bajo condiciones aeróbicas, es oxidado a nitrito (NO_2^-), por medio de Bacterias Amonio Oxidantes (BAO) (ej. *Nitrosomonas sp*). Sin embargo, el NO_2^- , puede llegar a ser nocivo para los peces, ya que este compuesto puede unirse con la hemoglobina para formar metahemoglobina, ya que no es capaz de unir el oxígeno y menos transportarlo (Masser y col., 1999). Debido a esto, en las aguas utilizadas para el cultivo de salmones, no es recomendable exceder la concentración máxima de NO_2^- , fijada en 0,1 mg N- NO_2^- /L (Blancheton y col., 2007).

Con respecto al nitrógeno en forma de nitrato (NO_3^-), este corresponde a la forma menos tóxica para los peces, pudiendo estos soportar concentraciones > a 200 mg/L (Losordo y col., 1998).

1.4. Tecnologías para mejorar la calidad de las aguas provenientes de la industria del salmón.

El proceso de nitrificación, corresponde a uno de los tratamientos biológicos más utilizados en lodos activados para reducir el contenido de nitrógeno en las aguas residuales (Ahn, 2006). El primer paso de este proceso consiste en la oxidación del NH_4^+ a NO_2^- mediante BAO autótrofas (ej. *Nitrosomonas sp.*). Posteriormente, el NO_2^- pasa a ser oxidado a NO_3^- , mediante bacterias nitrito oxidantes (BNO) (ej. *Nitrobacter sp.*) (Ahn, 2006; Bothe y col., 2007; Chen y col., 2006) (Figura 1).

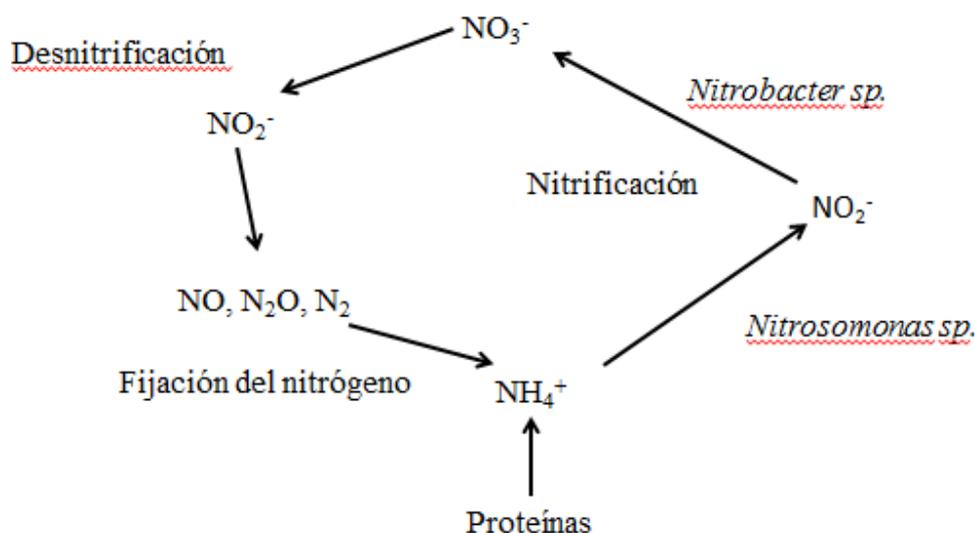
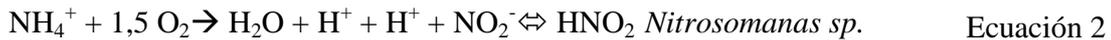
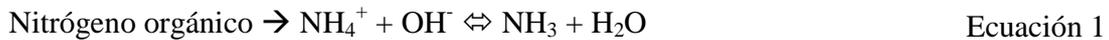


Figura 1. Ciclo del nitrógeno.

La estequiometría del proceso y el equilibrio de la reacción se muestran en las siguientes ecuaciones:



Anthonisen y col. (1976), señalan que determinadas concentraciones de NH_3 , en sistemas de tratamiento biológico de nitrificación, provoca la inhibición de BAO (10 mg/L hasta los 150 mg/L) y de BNO (0,1 mg/L hasta los 1,0 mg/L). Sin embargo, como este compuesto depende del pH, en BAO el rango de pH óptimo corresponde entre valores de 7,5 y 8,0, mientras que, para BNO, el rango está entre valores de 7,2 y 7,8 (Chen y col., 2006). Además, la concentración óptima de oxígeno disuelto (OD) para lograr una buena nitrificación es relativamente baja, a partir de 2 a 3 mg/L (Gerardi, 2002).

A nivel general, existen una serie de tecnologías utilizadas para la eliminación de nitrógeno en aguas residuales, se clasifican en sistemas de procesos físico-químicos, o biológicos.

Procesos de tipo físico-químico:

- Una de las técnicas, ampliamente utilizadas para la eliminación y recuperación de nitrógeno y fósforo en efluentes, es la estruvita ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). La técnica de la precipitación de la estruvita puede aplicarse a varios tipos de aguas residuales tales como: efluentes agro-industriales (Altinbas y col., 2002), residuos de cerdos (Burns y col., 2001) y curtido de piel de animal (Tunay y col., 1997). La precipitación de la estruvita, puede usarse para la remoción de NH_4^+ y/o fosfato, siendo el ión Mg^{2+} el reactivo limitante, pudiendo utilizar como sustituto del ión Mg^{2+} el: MgO , $\text{Mg}(\text{OH})_2$, y $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Uludag-Demirer y col., 2005).

- Air stripping: Este es un proceso físico-químico, que se utiliza en la agricultura. Este proceso puede ser utilizado para la remoción y recuperación de nitrógeno, siendo objeto de estudio en el manejo de aguas residuales donde el nitrógeno se halla en abundancia. Al disminuir la concentración de NH_3 en el sustrato de alimentación del proceso, aumenta el rendimiento del proceso.

Procesos de tipo biológico, basados en condiciones óxicas (presencia de oxígeno):

- Reactores de membrana biológica: Estos sistemas combinan el tratamiento de lodos activados (condiciones aeróbicas) con membranas filtrantes. Removiendo sólidos en suspensión, y nitrógeno. Estos tipos de reactores retienen una alta concentración de microorganismos necesarios para el proceso. Al operar estos sistemas a tiempos de retención hidráulico (TRH) de 40,8 horas, se obtienen eliminaciones de sólidos (expresados como sólidos suspendidos totales (SST), ó sólidos suspendidos volátiles totales (SSV) de un 99% en todos los niveles de salinidad. Mientras que, la reducción del nitrógeno total fluctúa entre un 92 y 95%. Con respecto a los microorganismos heterótrofos y coliformes la eliminación es entre un 3–4 \log_{10} (Sharrer, 2007).
- Bioreactor de lecho sumergible: Este tipo de reactor se utiliza en los sistemas de producción de camarones, para la cual se utilizan consorcios bacterianos para llevar a cabo la oxidación de NH_3 y de NO_2^- . Para esto, se utiliza el consorcio AMOPCU-1 “oxidantes de NH_4^+ para cultivos de *Penaeidae* (de la familia de los crustáceos)” y NIOPCU-1 (oxidantes de NO_2^- para cultivos de *Penaeidae*), respectivamente. Este bioreactor presenta una remoción del orden de 79% de NH_4^+ . (Kumar y col., 2008).
- Lodos activados: Este es uno de los sistemas más convencionales el cual ha sido utilizado para el tratamiento de aguas residuales tanto municipales como industriales. En cuanto al proceso de lodos activados, es un método biológico de tratamiento de aguas residuales mediante el uso de microorganismos bajo aireación. Este consorcio de microorganismos es denominado lodos activados. Las plantas de lodos activados, ocupan una variedad de procesos y mecanismos

para usar oxígeno disuelto y promover el crecimiento de organismos biológicos capaces de remover sustancialmente la materia orgánica. A la vez, es capaz de atrapar partículas de material y puede, bajo condiciones ideales, convertir el NH_4^+ en NO_2^- y NO_3^- . En estos sistemas utilizados para eliminar la materia orgánica (expresado como Demanda Biológica de Oxígeno o DBO) y el nitrógeno amoniacal, a cargas de 0,073 kg DBO₅/kg SSV·d y 0,07 kg N-NH₄⁺/kg SSV·d, respectivamente, operado con un tiempo de residencia hidráulico de 10 días, se logran eficiencias de eliminación de DBO₅ del 98% y de N-NH₄⁺ del 99% (Droppelmann y Oettinger, 2009).

De esta manera, la tecnología de lodos activados es la más adecuada para llevar a cabo la nitrificación, y reducir la cantidad de NH_4^+ presente en aguas de piscicultura, y evitar la formación de NH_3 dañino al medio ambiente, maximizando la producción pecuaria de peces y reduciendo el impacto ambiental provocado por estos efluentes.

1.5. Eliminación de amonio mediante sistemas de lodos activados. Efecto de las variables operacionales.

El proceso de nitrificación es un paso crítico en la depuración de aguas, ya que este proceso cuenta con una baja tasa de crecimiento y a la gran sensibilidad a sustancias inhibitorias y a los cambios del sistema que pueden impedir el crecimiento y actividad de las bacterias nitrificantes (Bitton, 1994). Además, en el proceso de lodos activados se cuenta con la presencia de bacterias heterótrofas además de las nitrificantes, teniendo las bacterias heterótrofas una tasa de crecimiento máximo 5 veces mayor a las de las bacterias nitrificantes, aproximadamente (Grady y Lim, 1980), específicamente las BAO tienen un μ_{max} de 0,6 – 0,8 d⁻¹ y las BNO de 0,6 – 1,0 d⁻¹, mientras que las bacterias heterótrofas cuentan con un μ_{max} de 3,7 d⁻¹ (Belmonte, 2012; Kayombo y col., 2003). Debido a lo previamente mencionado, un sustrato con carbono orgánico (CH_3COONa) favorecería el crecimiento de las bacterias heterótrofas en el sistema, a diferencia de un sustrato de carbono inorgánico (NaHCO_3) el cual favorecería el crecimiento de las bacterias nitrificantes al ser estas del tipo quimolitotróficas (Austin, 1980). Además,

debido a que las bacterias nitrificantes obtienen solo una pequeña porción de energía a partir de la oxidación del NH_4^+ y del NO_2^- , no siempre se encuentra suficiente energía para la aclimatación. Por otra parte, las bacterias heterótrofas pueden aclimatarse de una manera más rápida. Esto debido a la mayor cantidad de energía que obtienen las bacterias heterótrofas a partir de la oxidación de la DBO_5 siendo esta energía utilizada para la reparación de los sistemas enzimáticos (Gerardi, 2002). En consecuencia, la pequeña cantidad de energía disponible para la aclimatación de las bacterias nitrificantes, las hace más sensibles a la presencia de bajas concentraciones de compuestos orgánicos, metales pesados, entre otros.

Entre los compuestos orgánicos capaces de inhibir la nitrificación como el tricloroetileno, el cual a una concentración de 0,65 mg/L es capaz de inhibir en un 50% la producción de NO_2^- y NO_3^- , el clorobenceno, a una concentración de 0,5 mg/L provoca una inhibición de un 74% en la producción de NO_3^- y NO_2^- y también el etilbenceno, el cual tiene una menor capacidad de inhibición que los dos compuestos anteriores, ya que se necesita de 10 mg/L de este compuesto orgánico para poder inhibir en un 59% la producción de NO_2^- y NO_3^- . Por último, el fenol también presenta una capacidad inhibitoria a nivel de la nitrificación, teniendo este compuesto una mayor influencia que el anterior debido a que más de un 50% de inhibición se alcanza con 4 mg/L de fenol (Juliastuti y col., 2003). Además, se ha encontrado que los lodos activados de las plantas de tratamiento de aguas municipales tienen una gran capacidad de absorción de compuestos orgánicos tales como los del tipo farmacéutico, teniendo un potencial de absorción de $\log K_d$ entre 2,8 y 3,8 (Stevens-Garmon y col., 2011). Por otra parte, se ha encontrado que estos compuestos orgánicos del tipo farmacéutico tienen la capacidad de inhibir la nitrificación, específicamente en las BAO. Estos compuestos farmacéuticos son capaces de inhibir la producción de NO_2^- con concentraciones que van desde los 1 a 10 μM , con un porcentaje de inhibición de: 25%, 29%, 22% y 26% para ketoprofeno, naproxeno, carbamazepina y gemfibrozil, respectivamente (Wang y col., 2011).

El Zn^{2+} , Cu^{2+} y el Cd^{2+} alcanzan un 50% de inhibición de la producción de NO_3^- y NO_2^- a una concentración de 0,35 mg/L, de 0,09 mg/L y de 8,3 mg/L, respectivamente (You y col., 2009).

En cuanto a la inhibición de la nitrificación, esta puede ser efectuada también por la radiación ultravioleta, siendo la longitud de onda más dañina para las bacterias nitrificantes de unos 265 nm el cual puede causar una inactivación en los sistemas enzimáticos de estas bacterias (Gerardi, 2002).

Otra variable del control del proceso es la alcalinidad, ya que esta está directamente relacionada con la eliminación de NH_4^+ debido a que 7,14 g de $CaCO_3/L$ son consumidos por cada gramo por litro de NH_4^+ (Li e Irvin, 2007). La razón carbono nitrógeno (C:N) es una variable operacional que influye en el proceso de nitrificación, este trabajo constó de dos etapas, en el cual se utilizaron dos C:N y dos fuentes de carbono distintas, se utilizó en la primera etapa una fuente de carbono orgánico y una C:N de 0,84. En cuanto a la segunda etapa, se utilizó una fuente de carbono inorgánico y una C:N de 8. Según autores se ha demostrado que la nitrificación en sistemas discontinuos puede estar favorecida a una C:N < 10:1 (Xia y col., 2008). Otro parámetro físico importante en la nitrificación es la temperatura, debido a que las bacterias nitrificantes son sensibles a ésta, por lo tanto, la nitrificación también. Existe una reducción importante en la razón de la nitrificación con la disminución de temperatura y una significativa aceleración en la razón de la nitrificación con un incremento en la temperatura. La razón de crecimiento de las bacterias nitrificantes aumenta considerablemente sobre el rango de 8° a 30°C, donde las *Nitrosomonas sp* alcanzan un incremento en su razón de crecimiento por grado aumentado. Por lo tanto, para propósitos operacionales la temperatura óptima para la nitrificación en lodos activados generalmente es de 30°C (Gerardi, 2002).

HIPÓTESIS

Los sistemas biológicos de lodos activados son capaces de reducir el amonio contenido en aguas de cultivos de salmones por procesos de nitrificación.

OBJETIVOS GENERALES

Evaluar un sistema de lodos activados para la eliminación del amonio presente en aguas residuales de cultivo de salmones, mediante el proceso biológico de nitrificación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el comportamiento del amonio en sistemas biológicos de lodos activados, optimizando los parámetros operacionales.
- Estudiar la biomasa del sistema de lodos activados para el tratamiento de aguas residuales del cultivo de salmones, y su evolución respecto de la actividad nitrificante.
- Relacionar la operación del sistema de lodos activados respecto de la eliminación de amonio y la actividad de la biomasa nitrificante.

2. METODOLOGÍA

2.1. Influyente

En la primera etapa de este proyecto, se utilizó un influente que correspondió a un medio sintético de agua de piscicultura, que contiene una cantidad de nitrógeno y carbono C:N igual a 0,84, este influente inicial está constituido por una concentración de NH_4^+ de 700 mg NH_4^+ /L como fuente de nitrógeno; 1,5 g/L de acetato de sodio (CH_3COONa) como fuente de carbono, 0,06 g/L de sulfato de magnesio (MgSO_4) 1,00 g/L de cloruro de sodio (NaCl). Además, se añadió una solución tampón, constituida por: 0,025 g/L de fosfato de potasio (KH_2PO_4). Luego, en una segunda etapa, se utilizó un influente con carbono inorgánico, específicamente NaHCO_3 con una concentración de 20 g/L, cuya relación de C:N fue de 8.

2.2. Inóculo

Se utilizaron 2 tipos de inóculo, desde el día 0 al 100 se utilizó un lodo que provenía de un reactor nitrificantes mientras que para la segunda fase de operación, desde el día 101 al 180 se utilizó un lodo que provevía de una planta de tratamiento de aguas servidas. En ambos caso se inoculó el sistema con 5 gSSV/L.

2.3. Sistemas de lodos activados

Se implementó un sistema de lodos activados (Figura 2) para la oxidación de NH_4^+ a NO_3^- , el cual está constituido por dos unidades, una óxica (1 L) y un sedimentador (0,4 L). La primera etapa del sistema de lodos activados, tuvo una duración de 100 días donde se inoculó con un lodo cuyo origen fue un reactor nitrificante. En cuanto a la segunda etapa, cuyo período fue desde el 101 hasta el 180, se inoculó con un lodo cuyo origen fue de una planta de tratamiento de aguas servidas, localizada en Hualqui, VIII Región. A lo largo de toda la operación, se contempló mantener la carga de NH_4^+ en el influente (0,33 g NH_4^+ /L·d) y 1 g/L de NaCl manteniendo constante el TRH ($2,05 \pm 0,19$ días).

La unidad óxica del sistema de lodos activados fue alimentado con el influente sintético de piscicultura, mediante una bomba peristáltica (marca Masterflex), manteniendo una concentración de OD en esta unidad sobre 2 mg/L, y a una temperatura ambiente (18 ± 2 °C). El OD fue suministrado en el sistema mediante una bomba de aireación.

En el sistema de lodos activados, se realizó una evaluación físicoquímica en el influente y efluente donde se evaluó la DQO (soluble), la DBO₅, el contenido de NH₄⁺, NO₂⁻ y NO₃⁻ (estos dos últimos solo en el efluente), alcalinidad y NH₃ dos veces por semana. Además se evaluaron los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el reactor, sedimentador y efluente una vez a la semana. Asimismo, se determinó la razón Alimento/Microorganismos (A/M) e Índice Volumétrico del Lodo (IVL) en el reactor una vez a la semana (el primero solo se realizó en la primera etapa de operación debido a la ausencia de materia orgánica en el sistema en la segunda etapa). Como también, se evaluaron parámetros tales como: pH, temperatura y OD en el influente, efluente y el reactor de lunes a viernes (excepto el OD que solo fue evaluado en el reactor)

En cuanto al balance de materia, en la primera etapa de la operación del sistema de lodos activados, se evaluó la capacidad heterotrófica y su relación con la carga de materia orgánica en el influente y en el efluente del sistema. Como también, se evaluó la capacidad amonio oxidante y su relación con la carga de NH₄⁺ en el influente y efluente. En cuanto a la segunda etapa de operación, solo se evaluó la capacidad amonio oxidante y la carga de NH₄⁺ otorgada al sistema, debido a la falta de materia orgánica en la segunda etapa de operación.



Figura 2. Sistema de lodos activados.

2.4. Métodos analíticos

Se determinó las características física-químicas del influente y del efluente del sistema de lodos activados, se evaluaron los siguientes parámetros: demanda química de oxígeno DQO (soluble), sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos suspendidos volátiles (SSV) de acuerdo con los protocolos establecidos en Standard Methods (APHA, 2005). La demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), se determinó según el método de Winklerazida modificado por Carpenter. (1965). El contenido de NH_4^+ , NO_2^- y NO_3^- fue determinado mediante kit específicos de Spectroquant NOVA-60 de Merck mientras que el NH_3 fue determinado según Hansen y col., (1997). En cuanto a la alcalinidad, se utilizó el método de la valoración con H_2SO_4 de un volumen dado de muestra hasta pH 4,3 (APHA, 2005).

Parámetros tales como: pH, temperatura y OD, fueron medidos mediante electrodos específicos, a través de un equipo portátil Oakton PC650 (pH y temperatura), y un equipo Oxi 330 WTW (OD).

La actividad específica nitrificante y heterotrófica se evaluó mediante ensayos de respirometría de acuerdo al protocolo descrito por López-Fiuza y col. (2002). Esta actividad se basa en la determinación del consumo de oxígeno por parte de los microorganismos. En la medición de la actividad heterotrófica, los microorganismos degradan un sustrato orgánico, correspondiente al acetato de sodio (CH_3COONa) a una concentración de 0,75 M, mientras que la actividad nitrificante, los microorganismos encargados de la oxidación del NH_4^+ son las BAO, las cuales utilizan como sustrato sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) a una concentración de 0,25 M, y los microorganismos que oxidan el NO_2^- , la BNO, utilizan como sustrato nitrito de sodio (NaNO_2) a una concentración de 0,25 M. Para llevar a cabo estos ensayos de actividad, se empleó un sistema de monitorización de oxígeno (BOM, modelo YSI 5300). Este sistema está provisto de un electrodo de oxígeno (sensor polarográfico de oxígeno, modelo YSI 5331), que se encuentra en una celda dotada de un agitador magnético, y en la que se realizarán los ensayos. Este sistema estará termostatzado a 20 °C, que corresponderá a la temperatura ambiente a la cuál operará el sistema de lodos activados.

En el tratamiento con lodos activados, se controlaron variables de operación como el TRH, el cual mide el tiempo en el que un influente se encuentra en un reactor, la razón A/M que se expresa en gDQO/gSSV del reactor, como también la sedimentabilidad del lodo, mediante la determinación IVL el cual se define como el volumen en mililitros ocupado por 1 g de sólidos en suspensión dentro del reactor, después de sedimentar por 30 minutos en una probeta graduada de 1000 mL (Ramalho, 1996).

Para evaluar la calidad del lodo, se llevaron a cabo la observación de protozoos que se encontraba en suspensión, esto se realizó mediante microscopía óptica acoplado a una cámara y se determinó la presencia de microorganismos tales como ciliados, y zooflagelados (Baeza, 2012).

3. RESULTADOS

3.1. Operación del reactor de lodos activados

En la Figura 3, se muestra el TRH en 180 días de operación. En los primeros 100 días el TRH del sistema presentó variaciones debido a problemas hidráulicos en la alimentación. Sin embargo, esta variación se encontró entre $2,05 (\pm 0,19)$ días del tiempo que permanece el medio de alimentación en el sistema. Después de los 100 días, se cambió el sustrato de alimentación manteniendo el TRH en 2 días.

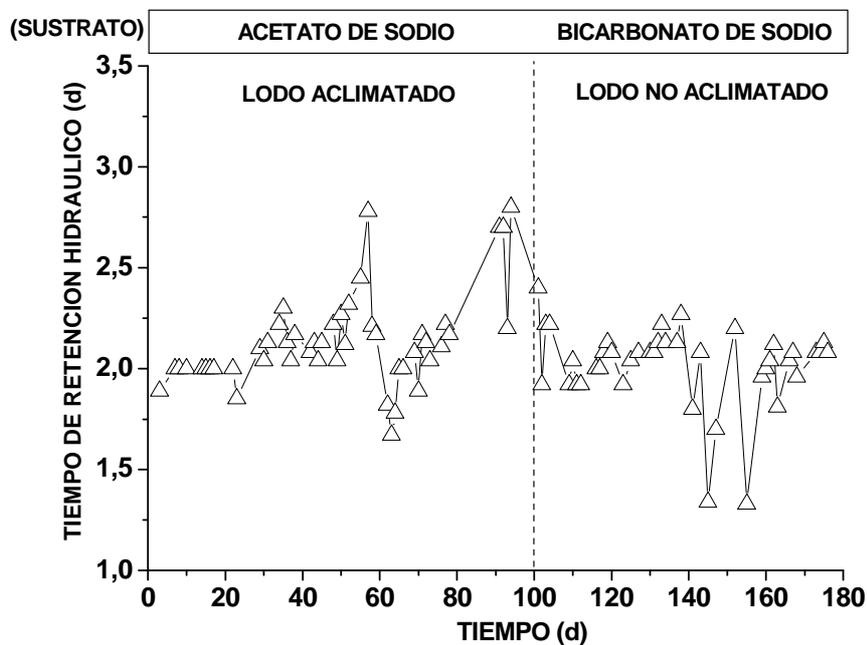


Figura 3. Tiempo de retención hidráulico del sistema de lodos activados.

Como se observa en la Figura 4, desde el día 0 hasta el día 100, se obtuvo un pH promedio en el influente de $7,11 (\pm 0,21)$. Luego, en la segunda etapa de operación, desde el día 101 hasta el día 180 se obtuvo un pH en el influente de $6,99 (\pm 0,10)$. Sin embargo, al principio de la operación se observa un pH en el influente más alto de lo anteriormente planteado, específicamente un promedio de pH de $7,29 (\pm 0,10)$ en los primeros 13 días. En cuanto al pH del efluente, este obtuvo un pH promedio de $7,86 (\pm$

0,68) en los primeros 100 días y un promedio de pH de 9,22 ($\pm 0,29$) en los últimos 80 días que correspondieron a la segunda etapa de operación.

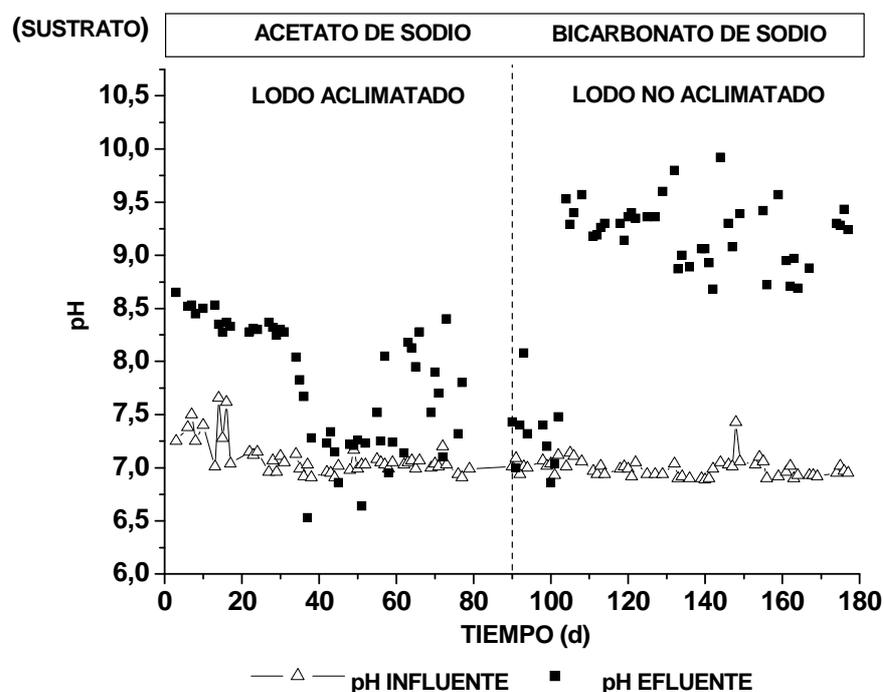


Figura 4. pH del influente y efluente del reactor a lo largo del tiempo de operación.

En la Figura 5, se observó el desarrollo de OD y del potencial Redox a lo largo del tiempo de operación. La concentración de OD se mantuvo $> 2,0$ mg/L, específicamente con una concentración promedio de 6,75 ($\pm 1,18$) mg/L para la primera etapa de operación y una concentración promedio 5,55 ($\pm 0,87$) mg/L para la segunda etapa de operación. Por otra parte, el potencial Redox se mantuvo con un valor promedio de 105,18 ($\pm 38,74$) mV, confirmando la presencia de un ambiente aeróbico propicio para el desarrollo las bacterias nitrificantes.

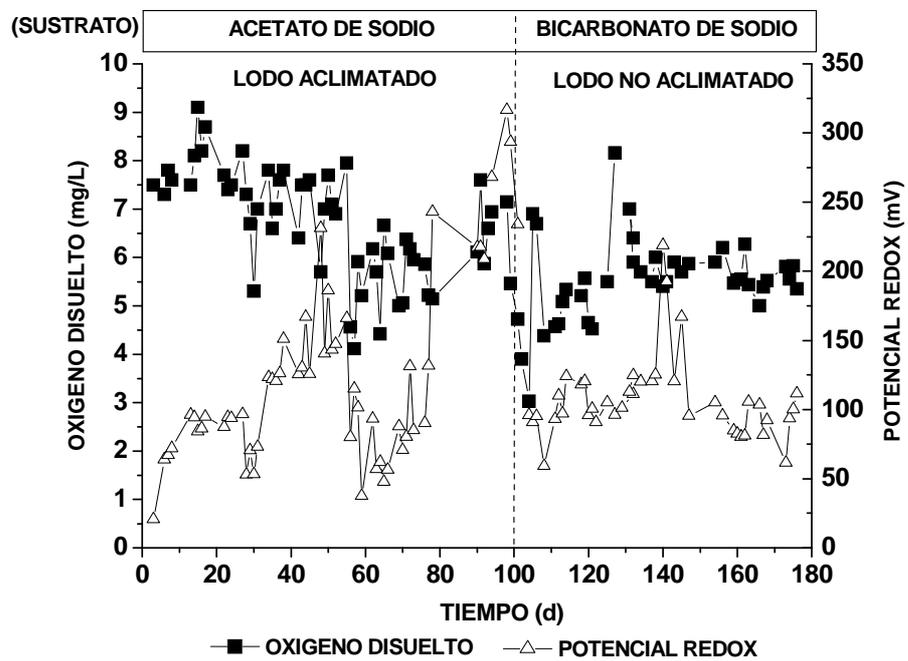


Figura 5. Concentración de OD y potencial Redox en el sistema de lodos activados.

Tabla 1. Determinación de la alcalinidad del sistema de lodos activados.

Sustrato	Tiempo (d)	Alcalinidad parcial (mg CaCO ₃ /L)	
		Influyente	Efluente
Acetato de sodio	92	81,2 ± 0,0	78,1 ± 4,4
	94	81,25 ± 8,8	75,0 ± 0,0
Bicarbonato de sodio	111	4937,5 ± 88,4	14625,0 ± 176,8
	133	10062,5 ± 88,4	9937,5 ± 88,4
	139	8375,0 ± 176,8	7375,0 ± 176,8
	146	1687,5 ± 88,4	3062,5 ± 88,4
	160	3312,5 ± 88,4	6250,0 ± 176,8
	176	12000,0 ± 353,6	11562,5 ± 441,9

3.2. Parámetros de eficiencia de operación.

La Figura 6, muestra la eficiencia de eliminación de materia orgánica versus la velocidad de carga orgánica (VCO) durante la primera etapa de operación otorgada al sistema, se utilizaron 3 VCO en la primera etapa, específicamente 0,32, 0,36 y 0,38 gDQO/L·d. Cada una de las cuales tuvo una eficiencia de eliminación de DQO de 77,5% ($\pm 2,84$), 84,2% ($\pm 2,75$) y 82,1% ($\pm 2,16$), respectivamente. Se observó que la VCO obtuvo una mayor eficiencia de eliminación de DQO en la VCO de 0,36 gDQO/L·d. En la segunda etapa, debido al cambio de sustrato desde orgánico a inorgánico la presencia de DQO fue nula.

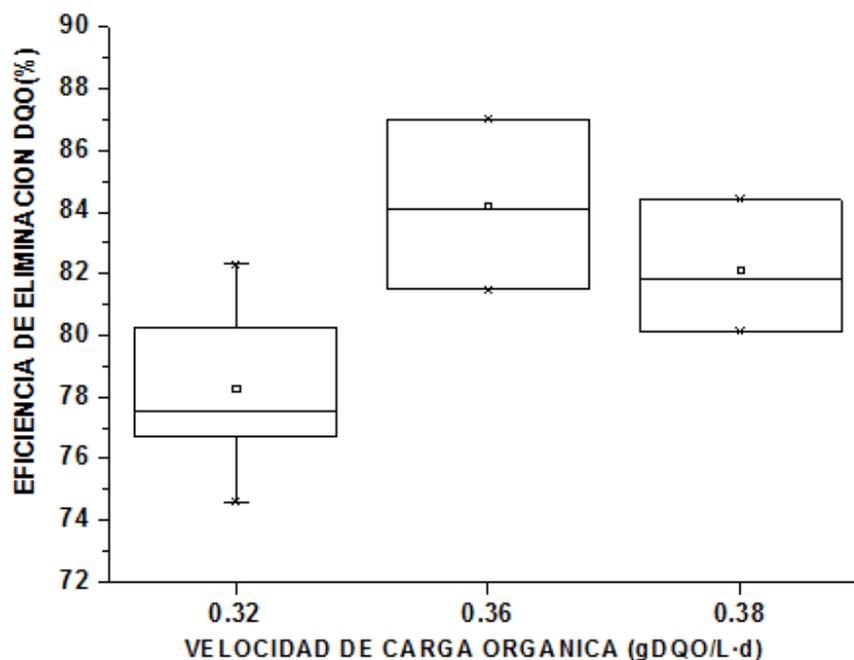


Figura 6. Eficiencia de eliminación de DQO en etapa de alimentación con carbono orgánico (CH_3COONa)

La Figura 7, muestra la actividad amonio oxidante que se obtuvieron mediante la técnica de respirometría que se encontró en las dos etapas de operación: donde se utilizó un sustrato de carbono orgánico y un sustrato de carbono inorgánico. En la primera etapa se llevaron a cabo dos respirometrías, las cuales se obtuvieron dos actividades amonio oxidante de: $0,1 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{min}$ y $0,47 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{min}$ en los días 29 y 62, respectivamente. Además, en la primera etapa de operación se obtuvo un porcentaje mínimo de eliminación de $11,1\%$ y un máximo de $49,7\%$. En cuanto a la segunda etapa de operación, se llevaron a cabo 4 respirometrías en las cuales se obtuvieron 4 actividades amonio oxidante de: $0,016 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{min}$, $0,0013 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{min}$, $0,037 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{min}$ y $0,021 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{min}$ en los días 112, 139, 162 y 168, respectivamente. Asimismo, en esta etapa se obtuvo un porcentaje mínimo de eliminación de NH_4^+ de un $10,4\% (\pm 8,2)$ y un porcentaje máximo de $42,0\% (\pm 0,28)$.

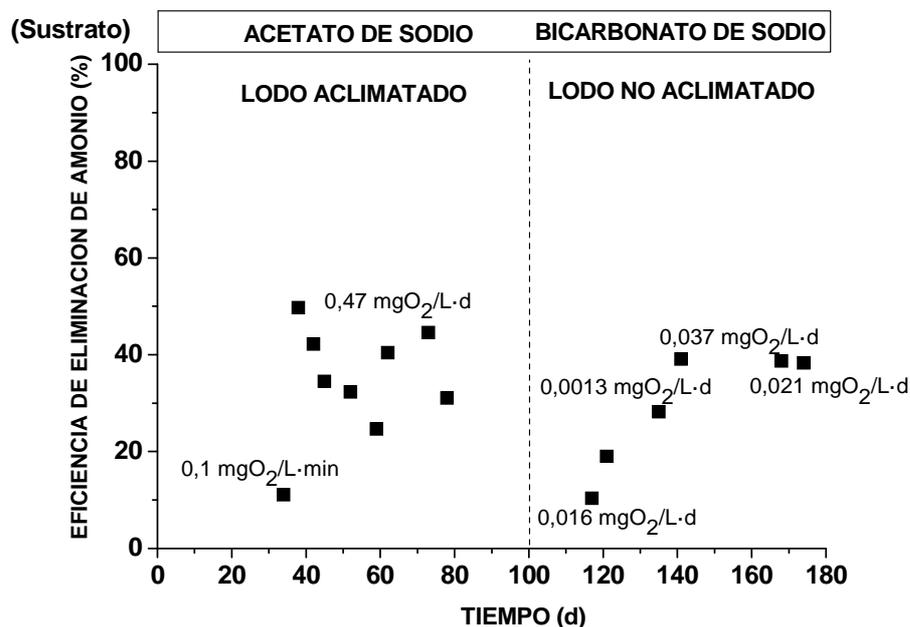


Figura 7. Eficiencia de eliminación de amonio durante el tiempo de operación y actividad amonio oxidante.

La Figura 8, muestra las concentraciones de NH_4^+ (influyente y efluente), NO_2^- , NO_3^- y NH_3 en el efluente alcanzadas a lo largo de la operación del reactor. La concentración más alta de NO_2^- alcanzada fue de 35,6 mg/L en la primera etapa de operación donde se utilizó un lodo aclimatado y un sustrato de carbono orgánico, mientras que para el NO_3^- fue de 46,7 mg/L. Además, la concentración más alta de NH_3 encontrada en el sistema para la primera etapa de operación fue de 4,80 mg/L. Por otro lado, para la segunda etapa de operación donde se utilizó un lodo no aclimatado y un sustrato de carbono inorgánico las concentraciones más altas de NO_2^- , NO_3^- y NH_3 fueron las siguientes: 0,06 mg/L, 2,2 mg/L y 330,74 mg/L, respectivamente.

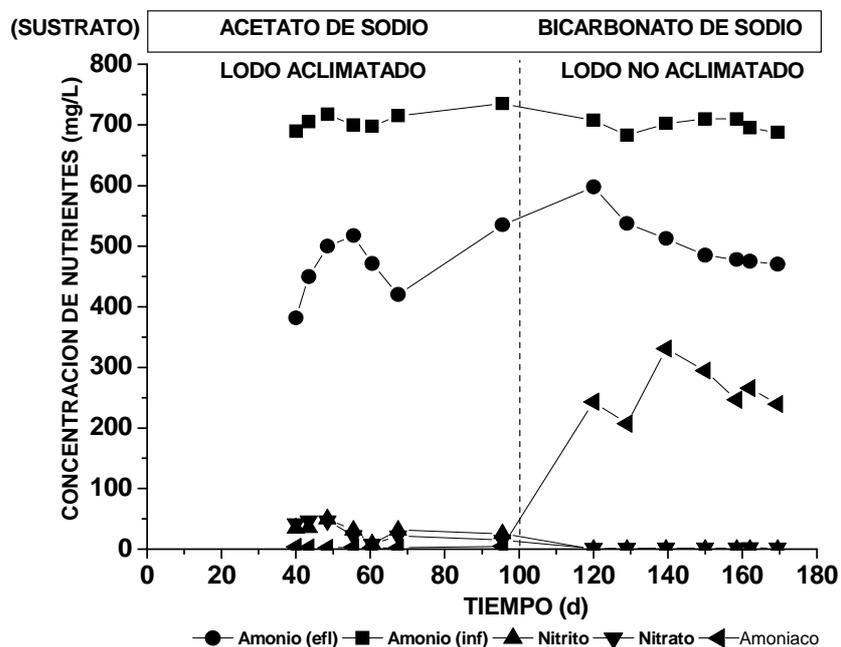
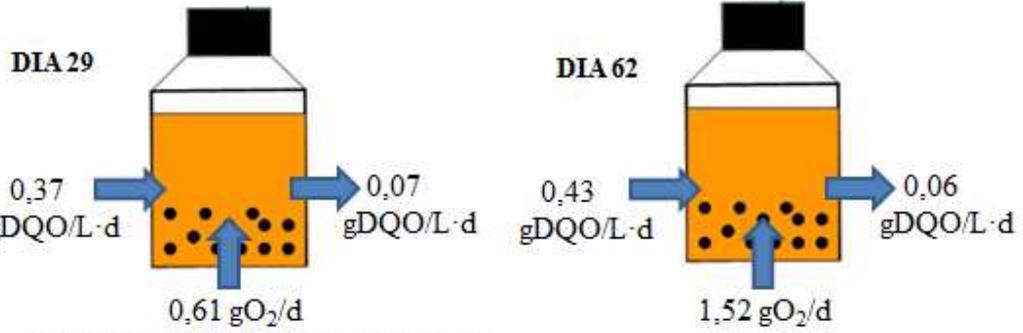


Figura 8. Concentración de nutrientes a lo largo del tiempo de operación del reactor de lodo activado.

La Figura 9, muestra el balance de materia en la primera etapa de operación donde se utilizó un sustrato de carbono orgánico y un lodo aclimatado en cuanto a la VCO, la carga de NH_4^+ otorgada al sistema, la capacidad heterotrófica y la capacidad amonio oxidante para los días 29 y 62. La Figura 10, muestra el balance de materia para la segunda etapa de operación en la cual se utilizó un sustrato de carbono inorgánico y un lodo no aclimatado donde se estudió la carga de NH_4^+ otorgada al sistema en relación a la capacidad amonio oxidante del sistema utilizando los parámetros previamente mencionados para los días 112, 139, 161 y 168. Si bien en la Figura 9 se observó una evolución de la biomasa en cuanto a su capacidad amonio oxidante en la primera etapa donde se utilizó un lodo aclimatado y un sustrato con carbono orgánico, en la segunda etapa de operación no se observó el mismo comportamiento ya que se observó una capacidad amonio oxidante con un comportamiento oscilante y de menos valor que en la primera etapa de operación como se demuestra en la Figura 10.

BALANCE DE MATERIA ORGÁNICA



BALANCE DE MATERIA NITROGENADA

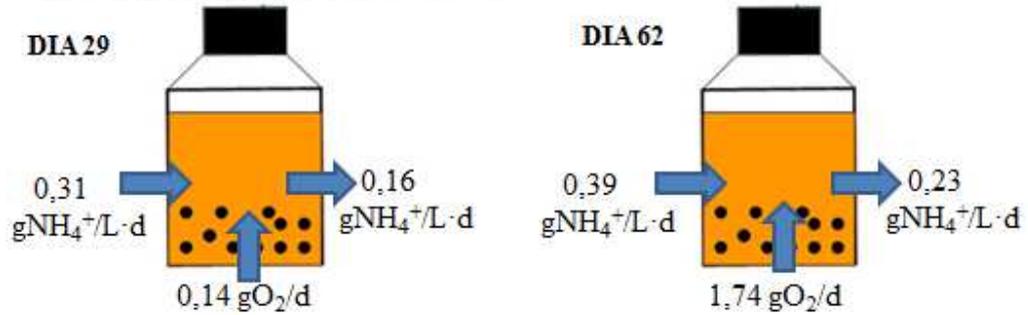


Figura 9. Balances de materia carbonacea y nitrogenada para la primera etapa de operación.

BALANCE DE MATERIA NITROGENADA

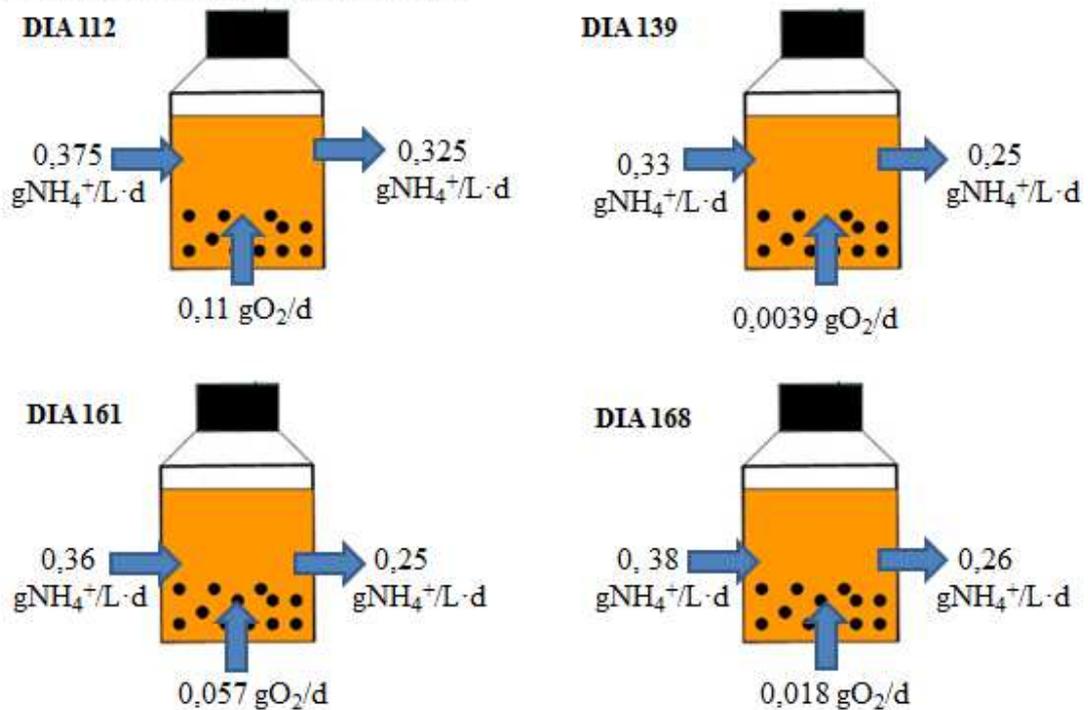


Figura 10. Balance de materia nitrogenada correspondiente a la segunda etapa de operación.

3.3. Caracterización de la biomasa bacteriana

Se evaluó la calidad del lodo y su capacidad de sedimentación mediante la relación entre la razón alimento microorganismo (A/M) y el índice volumétrico del lodo (IVL). La Figura 11, muestra una estimación del lodo para poder determinar si este se encuentra de forma disperso, floculento o en estado de bulking. Se utilizó una VCO de 0,32 y 0,38 $\text{gDQO}/\text{L}\cdot\text{d}$ a lo largo de los primeros 100 días de operación, donde se observó una tendencia a un lodo del tipo disperso. Sin embargo, esta estimación no se realizó en la segunda etapa de operación, debido a la ausencia de DQO en el sistema.

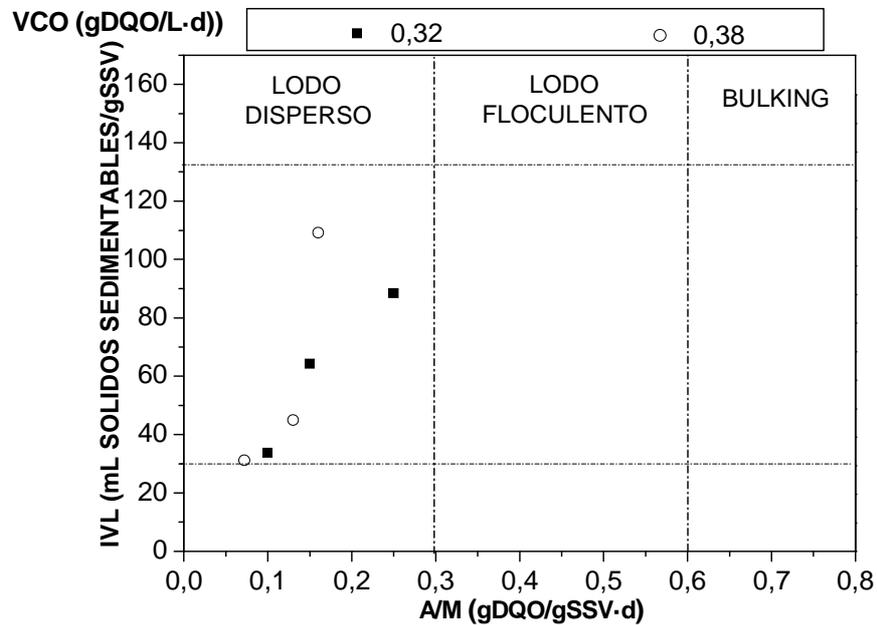


Figura 11. Relación entre IVL y razón A/M.

Por otro lado, se evaluó la biomasa microscópicamente para poder analizar los microorganismos presentes en el reactor de lodos activados, esto debido a que los protozoos presentes indicaron la calidad de operación del sistema. La Figura 12 muestra los microorganismos encontrados mediante microscopía óptica donde (a) y (b) corresponden a ciliados y (c) es un ciliado nadador libre. En cuanto a la segunda etapa de operación, no se observó ningún protozoo, sino más bien un lodo del tipo filamentoso (Figura 13).



Figura 12. Microorganismos presentes en el sistema en la primera etapa de operación.

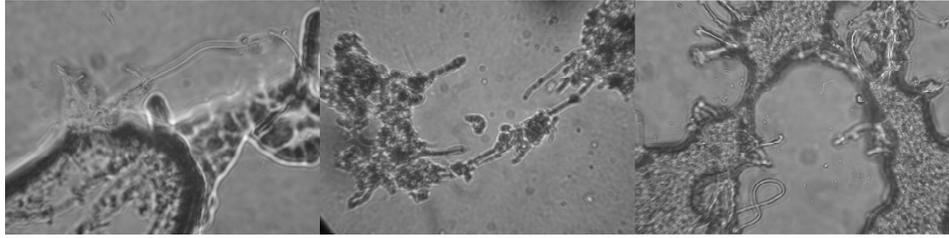


Figura 13. Lodo filamentoso presente en el sistema en la segunda etapa de operación.

4. DISCUSIÓN

4.1. Parámetros operacionales y de eficiencia del reactor de lodos activados

La Figura 3, muestra el tiempo de retención hidráulico obtenido a lo largo de los 180 días de operación, donde se obtuvo un TRH promedio de 2,05 ($\pm 0,19$) días. Li y col., (2006) señalan que en sistemas convencionales de lodos activados se puede alcanzar altas eficiencias de eliminación de NH_4^+ , alrededor de un 98%, con un TRH ≥ 20 h. Por otro lado, demostraron que a TRH inferiores, ocurre un lavado completo de la biomasa del reactor, siendo perjudicial para el proceso. Sin embargo, en este estudio pese a trabajar con un TRH de 2,05 ($\pm 0,19$) días, se obtuvieron máximas eliminaciones de NH_4^+ de 49,7%. Además, estudios previos con lodos activados se ha encontrado que a TRH altos también existe una alta eliminación de DQO otorgado al sistema, es así como Han y col., (2010) obtuvieron una eliminación de DQO del 87% ($\pm 5,0$) en los días del 1 al 20 y del 71% ($\pm 2,0$) desde el día 21 al 55 con un TRH de 42 horas, mientras que con un TRH de 25 horas, se obtuvieron eliminaciones de un 59,0% ($\pm 4,0$). Esto concuerda con los resultados de este estudio, ya que al utilizar un TRH de 2,05 ($\pm 0,19$) días, se alcanzó un porcentaje máximo de eliminación de DQO de 84,2% ($\pm 2,75$).

Los factores ambientales que pueden influir en la nitrificación, son esencialmente el pH, la alcalinidad, OD y potencial Redox (Belmonte, 2012). En este estudio, se utilizó un sistema de lodos activados para llevar a cabo este proceso, donde se trató de controlar estos factores para llevar a cabo una nitrificación de alta eficiencia.

Otro factor importante en el proceso de la nitrificación es el pH. La Figura 4, muestra el comportamiento del pH a lo largo de los 180 días de operación. Se observó un valor de pH promedio en el efluente de 7,86 ($\pm 0,68$) en los primeros 100 días de operación, estando este valor dentro de un rango aceptable para que las BAO (pH de 7,50 y 8,00) puedan oxidar el NH_4^+ y también para que las BNO puedan ejercer su función de oxidar el NO_2^- (pH de 7,20 y 7,80) (Chen y col., 2006). Sin embargo, en la segunda etapa de operación, en los últimos 80 días se observó un pH promedio de 9,22 ($\pm 0,29$), estando fuera del rango óptimo para que las bacterias *Nitrosomonas sp.* y *Nitrobacter sp.* puedan nitrificar. Esto debido a los compuestos químicos presentes en el

influyente sintético preparado en la segunda etapa de operación ya que el NaHCO_3 por sí solo no logra cumplir la función de buffer para el sistema, ya que el criterio para saber si se trata de un sistema buffer es que debe tener un ácido débil y su sal (que contiene la base conjugada débil, siendo en este caso Na_2CO_3) (Chang, 2007). Las bacterias nitrificantes al ser de naturaleza autotrófica utilizan carbono inorgánico (CO_2 y HCO_3^-) para su crecimiento (Ahn, 2006). Además, para que exista una completa oxidación del NH_4^+ , se necesita del consumo de alcalinidad, debido a que la primera etapa de la nitrificación, donde se oxida el NH_4^+ para generar NO_2^- , ocurre la liberación de H^+ al medio, acidificando el sistema si no se cuenta con la alcalinidad necesaria (Anthonisen y col., 1976). Por lo tanto es importante tener en cuenta que por cada gramo por litro oxidado de NH_4^+ se consumen 7,14 g de CaCO_3/L (Li e Irvin, 2007). Además, Leu y col., (2010) establecen que el CO_2 al ser liberado, conlleva a una alza en el pH, lo cual ocasiona un cambio en la dirección del equilibrio hacia la formación del bicarbonato (Ecuación 4), responsable de la mayor cantidad de alcalinidad en el efluente que en el influente, lo cual se observó en la segunda etapa de operación (Tabla 1).



Por lo tanto, se forma CO_2 en el medio y se libera, subiendo el pH mientras que los protones agregados al medio se transforman en H_2O (Chang, 2007).

La Figura 5, muestra el comportamiento del OD suministrado al sistema de lodos activados, la concentración de OD tuvo un valor promedio de 6,21 ($\pm 1,2$) mg/L. En la nitrificación, es importante mantener una adecuada concentración de OD en el sistema para llevar a cabo este proceso debido a que las BAO y BNO son bacterias aerobias quimolitotróficas, capaces de obtener la energía necesaria para la oxidación a partir de compuestos nitrogenados inorgánicos y tener como último aceptor de electrones al O_2 (Austin, 1988). Asimismo, los valores de las constantes de afinidad del oxígeno para las BAO y para las BNO son 0,36 mg/L y 1,1 mg/L, respectivamente (Wiesmann, 1994). Esto indica que como la constante de afinidad es más alta para las BNO, la oxidación de NO_2^- ocurre más rápido que la oxidación de NH_4^+ a bajas

concentraciones de OD, lo cual podría repercutir en una acumulación de NO_2^- . Campos y col. (2007) indicaron que en lodos activados el NH_4^+ puede oxidarse totalmente a NO_3^- cuando el sistema es operado a valores de OD $> 1 \text{ mg O}_2/\text{L}$. Sin embargo, pueden haber acumulaciones de NH_4^+ y NO_2^- en el sistema a concentraciones de OD de $0,6 \text{ mgO}_2/\text{L}$ y $0,4 \text{ mgO}_2/\text{L}$, respectivamente. En este estudio, la concentración de OD correspondió a $6,75 (\pm 1,18) \text{ mg/L}$ para la primera etapa de operación, obteniendo una eliminación máxima de NH_4^+ de 49,7% y concentraciones máximas de NO_2^- y NO_3^- de $35,6 \text{ mg/L}$ y $46,7 \text{ mg/L}$, respectivamente. En cuanto a la segunda etapa de operación, la concentración de OD correspondió a $5,55 (\pm 0,87) \text{ mg/L}$, obteniendo una eliminación máxima de NH_4^+ de 42,0% ($\pm 0,28$) y concentraciones máximas de NO_2^- y NO_3^- de $0,06 \text{ mg/L}$ y $2,2 \text{ mg/L}$, respectivamente. En cuanto a la eficiencia de eliminación de DQO en el sistema de lodos activados. La eficiencia de DQO pudo detectarse solamente en la primera etapa debido a la ausencia de CH_3COONa en la segunda etapa y su substitución por NaHCO_3 . La Figura 6, muestra el porcentaje de eliminación de DQO versus la velocidad de carga orgánica. Si bien en este estudio no se contempló un cambio en la VCO como estrategia de operación, se obtuvieron 3 VCO distintas: $0,32 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$, $0,36 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$ y $0,38 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$. Se observó en este estudio que la mayor eficiencia de eliminación de DQO fue de 84,2% ($\pm 2,75$) en VCO $0,36 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$. Por lo tanto, se sugiere trabajar por sobre esta velocidad de carga orgánica para obtener un eficiencia de eliminación de materia orgánica (DQO) mayor al 80%.

En relación al potencial Redox, estudios previos de reactores en discontinuo para la eliminación de NH_4^+ mediante desnitrificación/nitrificación se encontraron valores que varían entre los -100 mV y los $+100 \text{ mV}$, respectivamente (Kuai y Verstrete, 1998). Este último valor es similar al valor determinado de potencial Redox encontrado a lo largo de toda la operación, indicando la presencia de un ambiente aerobio, $105,18 (\pm 38,74) \text{ mV}$, en el sistema de lodos activados necesario para la nitrificación.

En cuanto a la eliminación de NH_4^+ en el sistema de lodos activados, se muestra en la Figura 7 que en la primera etapa donde se contó con un lodo aclimatado y un influente con materia orgánica se alcanzó un porcentaje máximo de eliminación de NH_4^+

de un 49,7%. En la dos respirometrías realizadas en la primera etapa de operación, se observó un aumento de velocidad de consumo de oxígeno, desde 0,10 mgO₂/L·min para el día 29 y 0,47 mgO₂/L·min para el día 62 para las BAO. Si bien el porcentaje de eliminación de NH₄⁺ obtenido alcanzó un valor importante, estudios previos en reactores en discontinuo con una fuente de carbono orgánico han presentado una mayor eficiencia de eliminación de NH₄⁺ dado a la aclimatación del lodo utilizado ya que esta aclimatación fue de 140 días, donde se presentó una mejora gradual de eliminación de NH₄⁺ a partir del día 92, con un valor máximo de eliminación de NH₄⁺ de un 61,9% (Wang y col., 2010) y se utilizó una concentración de N-NH₄⁺ de 500 mg/L, asemejándose a los 700 mg/L de NH₄⁺ utilizados en el influente de este estudio. Por otro lado, en la segunda etapa de operación donde se contó con un lodo no aclimatado proveniente de una planta de aguas residuales municipales y un influente con un contenido de carbono inorgánico, se presentó un valor máximo de eliminación de NH₄⁺ de un 42,0% (± 0,28). No obstante, en esta etapa se presentaron valores de actividad NH₄⁺ oxidante de 0,016 mgO₂/L·min, 0,0013 mgO₂/L·min, 0,037 mgO₂/L·min y 0,021 mgO₂/L·min para los días 112, 139, 162 y 168, respectivamente, siendo estos de un valor más bajo que en la primera etapa, además de no demostrar un aumento sino más bien un comportamiento oscilante a lo largo de los 80 días restantes de operación. Estudios previos en reactores en discontinuo realizados por Jarpa y col., (2007), demuestran también una baja actividad amonio oxidante de 0,05 (± 0,0011) donde se utilizaron niveles similares de concentración de NH₄⁺ en el influente, 500 mg/L de N-NH₄⁺, y un sustrato de carbono inorgánico. Además, los bajos valores de NO₂⁻ y NO₃⁻ obtenidos en la primera etapa, 30,75 mg/L (± 17,89) y 34,93 mg/L (± 18,26), respectivamente, evidenciaron la baja μ_{max} de las BAO y BNO 0,6 – 0,8 y 0,6 – 1,0 (Belmonte, 2012). Además, en esta primera etapa de operación, se alcanzó un porcentaje máximo de eliminación de NH₄⁺ de 49,7%, esto se relacionó a la baja cantidad de días de operación para la primera etapa, ya que como se mencionó anteriormente, estudios previos han demostrado que en sistemas de lodos activados la nitrificación ha necesitado de hasta 140 días para estar totalmente aclimatado el lodo (Wang y col, 2010). Por otro lado, si bien el lodo utilizado en la segunda etapa de operación, tampoco

contó con los días necesarios para aclimatarse (80 días) las bajas concentraciones de NO_2^- y NO_3^- generadas en esta etapa 0,039 mg/L ($\pm 0,018$) y 1,76 mg/L ($\pm 0,40$), respectivamente, se debió además a la generación de NH_3 en el sistema como se observó en la Figura 8. Esta generación de NH_3 se debió principalmente a los altos valores de pH en la segunda etapa de operación (Figura 4) debido a la liberación de CO_2 producto del NaHCO_3 añadido al sustrato. La Ecuación 5 demuestra la generación de NH_3 que se puede calcular en función de la temperatura, el pH y el NH_4^+ total ingresado al sistema (Hansen y col., 1998).

$$\frac{[\text{NH}_3]}{[\text{TNH}_3]} = \left(1 + \frac{10^{-\text{pH}}}{10^{-\left(0,09018 + \frac{2729,92}{T(\text{K})}\right)}} \right)^{-1} \quad \text{Ecuación 5}$$

La concentración de NH_3 generado en la primera etapa de operación fue de un promedio de 3,18 mg/L ($\pm 1,16$) y en la segunda etapa de operación se obtuvo una concentración promedio de 264,94 mg/L ($\pm 142,28$). Anthonisen y col., (1976) establecen que la inhibición de las BNO se puede alcanzar a niveles de concentración de NH_3 desde 0,1 mg/L a 1,0 mg/L, por lo tanto en ambas etapas se alcanza una inhibición de las BNO. Por otro lado, estos autores establecieron también que la inhibición de las BAO se alcanza a una concentración de NH_3 desde 10 mg/L a 150 mg/L, en la primera etapa de operación no se observó una inhibición de las BAO, no obstante, en la segunda etapa de operación sí se observó una clara inhibición de las BAO. Esto se demostró mediante los balances de materia realizados para la primera y segunda etapa de operación en relación a la carga de NH_4^+ otorgada al sistema. La Figura 9, muestra el balance de materia realizado para la materia carbonacea y nitrogenada, en ambos balances, se observó una tendencia de la biomasa a aumentar su capacidad de oxidar la materia orgánica y a aumentar la actividad amonio oxidante. Para ambos balances, se contó con un TRH adecuado para que cada capacidad oxidante se llevara a cabo de forma óptima. En cuanto a la capacidad amonio oxidante, en la primera etapa de operación se contó con un TRH adecuado para la nitrificación (2 días), además de contar

con un pH dentro del rango aceptable para el correcto funcionamiento de las BAO un pH promedio de $7,84 \pm 0,68$ también se contó con un lodo previamente aclimatado para la nitrificación aunque se haya utilizado un sustrato de carbono orgánico en la alimentación. Por otro lado, la Figura 10 muestra un comportamiento oscilante de la capacidad amonio oxidante presente en la segunda etapa de operación, este comportamiento se pudo haber debido al pH que se observó en esta etapa ($9,22 \pm 0,29$), a la alta concentración de NH_3 presente en el sistema ($264,94 \text{ mg/L} \pm 142,28$) y el lodo utilizado en la segunda etapa al no haber estado aclimatado previamente y que además proviene de una planta de aguas municipales la cual tiene la característica de poseer una gran capacidad de absorción (K_d entre 2,8 y 3,8) pudiendo absorber compuestos orgánicos de origen farmacológico capaces de inhibir la nitrificación tales como: ketoprofeno, naproxeno, carbamazepina y gemfibrozil en un 25%, 29%, 22% y 26%, respectivamente (Wang y col., 2011). Estos datos corroboran el hecho de que a pesar de haber utilizado un sustrato de carbono orgánico con CH_3COONa en la primera etapa de operación, situación la cual se haya más proclive a generar una competencia entre las bacterias heterótrofas con las bacterias nitrificantes, debido a la gran diferencia en las μ_{max} de $0,6 - 0,8 \text{ d}^{-1}$ para las BAO y de $0,6 - 1,0 \text{ d}^{-1}$ para las BNO, mientras que las bacterias heterótrofas cuentan con una μ_{max} de $3,7 \text{ d}^{-1}$ (Belmonte, 2012; Kayombo y col., 2003), de igual forma, se encontró la mayor capacidad amonio oxidante en la primera etapa, debido a los factores que impactaron negativamente en la nitrificación previamente descritos y no en la segunda etapa, donde se utilizó un sustrato de carbono inorgánico (NaHCO_3), la cual contaba teóricamente con una condición más favorable para las bacterias nitrificantes.

4.2. Evolución de la biomasa durante la operación del reactor

La evaluación del lodo se realizó a través de la caracterización de la biomasa suspendida en el sistema de lodos activados. Para llevar esto a cabo se evaluó la razón alimento/microorganismo y el índice volumétrico del lodo (IVL) (Figura 11). Se obtuvieron dos cargas de materia orgánica de $0,32 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$ y $0,38 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$, las cuales se realizaron a un TRH de 2 días. Para la carga de $0,32 \text{ gDQO/L}\cdot\text{d}$ se obtuvieron

rangos A/M de 33,7 gDQO/gSSV·d – 88,43 gDQO/gSSV·d e IVL de 0,1 mL Sol. Sed/gSSV – 0,25 mL Sol. Sed/gSSV. Para la carga de 0,38 gDQO/L·d se obtuvieron rangos de razón A/M de 0,072 gDQO/gSSV·d – 0,16 gDQO/gSSV·d e IVL de 31,89 mL Sol. Sed/gSSV – 111,68 mL Sol. Sed/gSSV. La razón A/M indica un requerimiento nutricional de los microorganismos, el cual se necesita un rango de 0,3 – 0,6 gDQO/gSSV·d. Además, el IVL tiene relación a la capacidad de sedimentación del lodo la cual se relacionó con la concentración de SSV en el sistema de lodos activados que debe encontrarse en un rango para obtener un lodo del tipo floculento de 35 mL Sol. Sed/gSSV – 135 mL Sol. Sed/gSSV (Ramalho, 1996). Por ende, se evidenció que la condición del lodo no fue la óptima, obteniéndose en esta primera etapa de operación un lodo del tipo disperso, no obstante, se obtuvo un valor máximo de eliminación de DQO de 84,2% ($\pm 2,75$).

Además, en la primera etapa de operación se encontró la presencia de ciliados fijos y ciliados nadadores libres. Estos organismos se caracterizan por crecer a pH de 6,0 – 8,0 y a temperaturas entre 15°C – 25°C (Baeza, 2012). Gerardi (2006), señaló que estos protozoos ciliados (Figura 12a, 11b y 11c) proveen beneficios a los sistemas de lodos activados tales como: añadir peso al flóculo y mejorar la estabilidad del lodo, consumir células dispersas en el medio y limpiar el flujo de agua, producir y liberar soluciones que recubren semi-sólidos (coloides, células dispersas y material particulado) llevándolos a la superficie y reciclar nutrientes (nitrógeno) mediante sus excreciones. Por otro lado, la Figura 13 muestra un lodo del tipo filamentoso proveniente de una planta de aguas residuales municipales, este lodo al no contar con la presencia de protozoos, se observó la baja calidad del mismo.

5. CONCLUSIONES

Al haberse utilizado un sustrato de carbono inorgánico en el sistema (NaHCO_3) en la segunda etapa de operación, se buscó obtener una condición más favorable para las bacterias nitrificantes ya que su μ_{max} es 5 veces más lenta que la de las bacterias heterótrofas y de esa forma, evitar la posible competencia entre estas bacterias presentes en la primera etapa de operación donde se utilizó un sustrato de carbono orgánico (CH_3COONa).

Sin embargo, la máxima eficiencia de eliminación de NH_4^+ se encontró en la primera etapa de operación, correspondiendo a un 49,7%. El balance de materia, el origen del inóculo y el tiempo de aclimatación corrobora los datos obtenidos, demostrando que en la primera etapa de operación se registran las máximas eliminaciones de DQO y NH_4^+ , con valores de capacidad de bacterias heterotróficas de 1,5 gO_2/d y de BAO de 1,72 gO_2/d .

Por lo antes mencionado, se acepta la hipótesis propuesta ya que los sistemas de lodos activados son eficientes en la eliminación de NH_4^+ pero requieren un mayor tiempo de aclimatación de las bacterias nitrificantes y además el origen del inóculo es otro factor a considerar.

Como recomendación, para la eliminación del NO_3^- generado en el proceso de nitrificación se requiere una etapa posterior, de desnitrificación, y así generar N_2 .

6. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer a mis padres por su cariño y apoyo incondicional siempre presente, a mi familia y amigos, por la paciencia y comprensión durante este período donde estuve más ausente.

De forma especial, quisiera agradecer a mi tutora de este trabajo la Dra. Gladys Vidal por darme la oportunidad de trabajar en esta tesis y sobre todo por su apoyo, ayuda y que siempre creyó en mí. También quisiera agradecer a la candidata a Doctor en Ciencias Ambientales, Mayra Jarpa por su apoyo, buena disposición y ayuda en el IV Congreso Nacional de Acuicultura. Además, quisiera extender mis agradecimientos a Guillermo Pozo y a la Dra. Marisol Belmonte por toda su ayuda brindada en esta tesis.

Finalmente agradezco a todo el Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA) del Centro EULA, por su amistad, compañerismo, consejos varios y excelentes momentos.

7. BIBLIOGRAFÍA

Ahn, Y.-H. (2006). Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. *Process Biochem.* 41: 1709-1721.

Altinbas, M., Ozturk I., y Aydin A. F. (2002). Ammonia recovery from high strength agro-industry effluents. *Wat. Sci. Tech.* 45:189–196.

American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Pollution Control Federation (WPCF). (2005). *Standard methods for examination of water and wastewater*. 21st ed. Washington.

Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B. S. y Srinath, E. G. (1976). Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid. *Water Pollut. C.*, 48: 835-852.

Austin, B. (1988). *Methods in aquatic bacteriology*, John Wiley & Sons, New York, 425 pp.

Baeza, R. (2012). Obtención de polihidroxialcanoatos (PHA) como subproducto de un sistema de tratamiento de biomasa adherida y su incidencia en la eliminación de compuestos disruptores endocrinos presentes en efluentes de la industria papelera. Tesis para obtener el grado de Bioingeniero, Universidad de Concepción, Chile, 58 pp.

Belmonte, M. (2012) Reducción de material orgánica y nutrientes contenidos en purines de cero a través de tecnologías combinadas y su efecto en bioindicadores acuáticos. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Universidad de Concepción, Chile, 50 pp.

Bitton, G. (1994). *Wastewater Microbiology*, Wiley – Liss Inc., New York, 804 pp.

Blancheton, J. P., Piedrahita, R., Eding, E. H., Orbcastel, D. E. R. y Lemarié, G. (2007). Intensification of landbased aquaculture production in single pass and reuse systems. *Aquacult. Eng.* 21-47.

Bothe, H. (2007) *Biology of the Nitrogen Cycle*, ELSEVIER, Amsterdam, 427 pp.

Bravo, S, Dolz, H., Silva, M. T., Lagos C., Millanao, A. y Urbina M. (2005). Informe Final. Diagnóstico del uso de fármacos y otros productos químicos en la acuicultura. Universidad Austral de Chile. Facultad de Pesquerías y Oceanografía, Instituto de Acuicultura. Casilla 1327. Puerto Montt, Chile. Proyecto No 2003; 28.

Burns, R. T., Moody L. B., Walker F. R., Raman D. R. (2001). Laboratory and in situ reductions of soluble phosphorus in swine waste slurries. *Environ. Technol.* 22: 1273–1278.

Buschmann, A. H. (2001). Impacto ambiental de la acuicultura. *TERRAM* (562).

Buschmann, A. H., Troell, M., Kautsky, N. y Kautsky, L. (1996). Integrated tank cultivation of salmonids and *Gracilariachilensis* (Rhodophyta). *Hydrobiologia* 326: 75-82.

Buschmann, A. H., y Fortt, A. (2005). Efectos ambientales de la acuicultura intensiva y alternativas para un desarrollo sustentable, *Ambient. Desarro.* 21: 58-64.

Cabello, F.C. (2004). Antibiotics and aquaculture in Chile: Implications for human and animal health. *Rev. Med. Chile.* 132: 1001-1006.

Cabello, F.C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.* 8:1137-1144.

Campos, J. L., Garrido, J. M., Mosquera-Corral, A. y Méndez, R. (2007). Stability of a nitrifying activated sludge reactor. *Biochem. Eng. J.* 35: 87–92.

Carpenter, J. (1965). The accuracy of the winkler method for dissolved oxygen analysis. *Limnol. Oceanogr.* 10:135–140.

Chang, R. (2007). *Química general*, Mc Graw-Hill, New York, 1039 pp.

Chen, S., Ling, J. y Blancheton, J.-P. (2006). Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacult. Eng.* 34: 179-197.

COREMA (2005). Califica Ambientalmente Proyecto "Modificación Proyecto Instalación Piscicultura Estero Peuco". <https://www.e-seia.cl/documentos/documento.php?idDocumento=625615>.

De Schryver, P. y Verstraete, W. (2009) Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresource Technol.* 100: 1162-1167.

Droppelmann, C. V. y Oettinger, M. (2009). Treatment of Landfill Leachate using Activated Sludge. *Inf. Tecnol.* 20: 11-19.

FAO 2009 Producción mundial de acuicultura de peces, crustáceos, moluscos, etc., por especies principales en 2009. <ftp://ftp.fao.org/FI/STAT/summary/a-6.pdf>

Folke, C., N. Kautsky, N., Berg, H., Jansson A. y Troell, M. (1998). The ecological footprint concept for sustainable seafood production. *Ecol. Appl.* 8: 63-71.

Gerardi, M. (2002). *Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process.* John Wiley and Sons, New York, 195 pp.

Gerardi, M. (2006). *Wastewater bacteria,* Wiley & Sons, New Jersey, 255 pp.

Grady, C. P. L. y Lim, H. C. (1980). *Biological Wastewater Treatment: Theory and Applications.* Marcel Dekker, New York, 1092 pp.

Han, H., Zhang, Y., Cui, C., y Zheng, S. (2010). Effect of COD level and HRT on microbial community in a yeast-predominant activated sludge system. *Bioresource Technol.* 101: 3463–3465.

Hansen, K. H., Angelidaki, I. y Ahring, B. K. (1998). Anaerobic Digestion of Swine Manure: Inhibition By Ammonia. *Water Res.* 32: 5-12.

Jarpa, M., Aguilar, A., Belmonte, M., Decap, J., Abarzúa, M. y Vidal G. (2007). Determinación de la capacidad nitrificante de un sedimento marino proveniente de un centro de cultivo de salmones. *Interciencia,* 32: 679–685.

Juliastuti, S. R., Baeyens, J. y Creemers, C. (2003). Inhibition of Nitrification by Heavy Metals and Organic Compounds: The ISO 9509 Test. *Environ. Eng. Sci.* 20: 79–90.

Kayombo, S., Mbwette, T., Katima, J. y Jorgensen S. (2003). Effects of substrate concentrations on the growth of heterotrophic bacteria and algae in secondary facultative ponds. *Water Res.* 37: 2937 – 2943.

Kuai, L. y Verstraete, W. (1998). Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system. *Appl Environ. Microb.* 64: 4500–4506.

León-Muñoz, J., Tecklin, D., Farías, A. y Díaz, S. (2007). Salmon Farming in the Lakes of Southern Chile - ValdivianEcoregion. WWF Chile.

Leu, S.-Y., Libra, J. A, y K, S. y Stenstrom M. A. (2010). Monitoring off-gas O₂/CO₂ to predict nitrification performance in activated sludge processes. *Water Res.* 44: 3434–3444.

Li, B., e Irvin, S. (2007). The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification. *Biochem. Eng. J.*, 34, 248–255.

López-Fiuza, J., Buys, B., Mosquera-Corral, A., Omil, F. y Méndez, R. (2002). Toxic effects exerted on methanogenic, nitrifying and denitrifying bacteria by Chemicals used in a milk analysis laboratory. *Enzyme Microbial Technol.* 31: 976-985.

Losordo, T. M., Masser, M. P. y Rakocy, J. (1998). Recirculating Aquaculture Tank Production Systems An Overview of Critical Considerations. S. R. A. C.451.

Lotze, H.K., Schramm, W. y Worm B. (1999) Control of macroalgal blooms at early developmental stage: *Pilayella* and *Enteromorpha* sp. *Oecologia.* 119: 46-54.

Masser, M. P., Rakocy, J. y Losordo, T. M. (1999). Recirculating Aquaculture Tank Production Systems Management of Recirculating Systems. S. R. A. C.452.

Muñoz, O. (2009) Aguas arriba: La transformación socioeconómica del ecosistema Llanquihue-Chiloé (Chile) durante los años 90. Colección de becas de investigación. Buenos Aires. 176 pp.

Onne, M. y Arne, K. (1995). Bioavailability of flumequine after oral administration to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture.* 136: 209–219.

Ramallo R. S. (1996). Tratamiento de Aguas Residuales. Editorial Reverté S.A. Barcelona, 705 pp.

Reid, G. (2007). Nutrient impacts of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) on pelagic ecosystems and implications for carrying capacity. WWF.

SalmonChile 2011, ciclo de producción. Página web: <http://www.salmonchile.cl/frontend/seccion.asp?contid=39&secid=3&secoldid=3&subsecid=15&pag=1>.

Stevens-Garmon, J., Drewes, J. E., Khan, S. J., McDonald, J. y Dickenson, E. R. V. (2011). Sorption of emerging trace organic compounds onto wastewater sludge solids. *Water Res.* 45: 3417–3426.

Troell, M., Halling, C., Nilsson, A., Buschmann, A. H., N. Kautsky, N. y Kautsky, L. (1997) Integrated marine cultivation of *Gracilariachilensis* (Gracilariales, Rhodophyta) and salmon cages for reduced environmental impact and increased economic output. *Aquaculture.* 156: 45-61.

Tunay, O., Kabdasli, I., Orhon, D. y Kolcak S. (1997). Ammonia removal by magnesium ammonium phosphate precipitation in industrial wastewaters. *Wat. Sci. Tech.* 36: 225–228.

Uludag-Demirer, S., G. N., Demirer, G. N., S. y Chen, S. (2005). Ammonia removal from anaerobically digested dairy manure by struvite precipitation. *Process Biochem.* 40: 3667-3674.

Wang, F., Ding, Y., Ge, L., Ren, H. y Ding, L. (2010). Effect of high-strength ammonia nitrogen acclimation on sludge activity in sequencing batch reactor. *J. Environ. Sci.* 22: 1683–1688.

Wang, S., y Gunsch, C. K. (2011). Effects of selected pharmaceutically active compounds on the ammonia oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Chemosphere.* 82: 565–572.

Wiesmann, U. (1994). Biological nitrogen removal from wastewater, in *advances in biochemical engineering* by A. Fletcher, Springer-Verlag, Berlín 113-154 pp.

Worm, B., Lotze, H. K., y Sommer, U. (2000). Coastal food web structure, carbon storage, and nitrogen retention regulated by consumer pressure and nutrient loading. *Limnol. Oceanogr.* 45: 339-349.

Xia, S., Li, J., y Wang, R. (2008). Nitrogen removal performance and microbial community structure dynamics response to carbon nitrogen ratio in a compact suspended carrier biofilm reactor. *Ecol. Eng.* 32: 256–262.

You, S.-J., Tsai, Y.-P., y Huang, R.-Y. (2009). Effect of heavy metals on nitrification performance in different activated. *J. Hazard. Mater.* 165: 987–994.

