

**EVALUACIÓN DE PROCESOS DE OXIDACIÓN FOTOCATALÍTICA EN
ACUACULTURA MARINA (ENFOQUE INGENIERIL)**

JUAN GUILLERMO GARCÍA GARAY

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI**

2012

**EVALUACIÓN DE PROCESOS DE OXIDACIÓN FOTOCATALÍTICA EN
ACUACULTURA MARINA (ENFOQUE INGENIERIL)**

JUAN GUILLERMO GARCÍA GARAY

**Proyecto de trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al
título de Ingeniero Químico.**

DIRECTORES

**Ing. Químico: Fiderman Machuca, Ph.D.
Profesor Facultad de Ingeniería**

**Biólogo: Efraín Alfonso Rubio Ph.D.
Profesor Emérito-Departamento de Biología**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI**

2012

DEDICATORIA

A todas aquellas personas que con su fortaleza y paciencia
supieron sobrellevar mi ausencia ante las ocasiones
familiares y demás que no pude asistir por estar
cumpliendo con mis obligaciones académicas.

Entre todas ellas especialmente a:

Hernando Garay a quien no le di el último adiós,
Martha Garay a quien no acompañe en su enfermedad,
Y a Oscar Torres a quien no acompañe su grado.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a la Universidad del Valle por darme la oportunidad de desarrollar simultáneamente mis dos pasiones; la ingeniería química y la biología marina. A la escuela de ingeniería Química y el Departamento de Biología por la infraestructura. Y mis sinceros agradecimientos a Efraín Rubio y Fiderman Machuca por la confianza y apoyo hacia a este “loco” y el proyecto.

Esta investigación no se hubiera podido realizar sin la ayuda logística y asesoría de los profesores de la Universidad del Valle: Alan Giraldo, Edgardo Londoño y German Bolívar, además del aporte de los camarones por parte de Cartagenera de acuacultura. También agradezco a los profesores Miguel Mueses y Sandra Coronado de la Universidad de Cartagena por la ayuda en el transporte intramunicipal en Cartagena.

También agradezco a mis colegas y amigos; Victoria Castillo, Diego Montenegro, Felipe Muriel, Katerine Mejía, Andrés Cuellar, Andrés Carmona, Sandra Franco, Nhora Suatena y Felipe Niño, por su ayuda en los distintos momentos que necesite una mano extra.

Finalmente, y por supuesto no menos importante a mis padres: Argenis Garay y Guillermo García y a mis hermanos Adriana G. y Sebastián G. a quienes agradezco por la confianza depositada, el apoyo, paciencia y muchas enseñanzas.

CONTENIDO

Pág.

INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	4
1.1 MARCO CONCEPTUAL	4
1.1.1 Compuestos nitrogenados	4
1.1.2 Fotocatálisis heterogénea	4
1.1.3 Características del TiO ₂	5
1.2 ANTECEDENTES	6
2. MATERIALES Y MÉTODOS	9
2.1 TRATAMIENTO FOTOCATALÍTICO	11
2.1.1 Pruebas preliminares	12
2.1.2 Evaluación del efecto del pH y concentración de catalizador	13
2.2 ENSAYO DE CULTIVO DE CAMARÓN	14
2.2.1 Transporte, montaje y aclimatación de <i>L. vannamei</i>	14
2.2.2 Ensayo de crecimiento y supervivencia	17
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
3.1 TRATAMIENTO FOTOCATALÍTICO	24
3.1.1 Efecto de la salinidad y el tiempo de oxidación en las pruebas preliminares	24
3.1.2 Efecto del pH y la concentración de catalizador en la fotooxidación de NH ₄ ⁺ y MO-N	30
3.1.3 Velocidad de formación del amonio y conversión de nitratos	36

3.1.4 Variación del pH y la salinidad durante la fotocatálisis del agua marina	40
3.2 ENSAYO DE CULTIVO	41
3.2.1 Aclimatación	41
3.2.2 Efecto de los tratamientos de recambio, fotocatálisis y filtración en la supervivencia.....	42
3.2.3 Efecto de los tratamientos de recambio, fotocatálisis y filtración en el crecimiento, FCA y la biomasa	44
3.2.4 Ahorro de agua en el ensayo de cultivo.....	48
3.2.5 Disminución de nitritos y nitratos en cada tratamiento.....	51
3.2.6 Efecto esterilizador de la fotocatálisis y detección de la infección.	52
4. CONCLUSIONES	54
5. RECOMENDACIONES.....	56
BIBLIOGRAFÍA.....	58
ANEXOS	61

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Diagrama energético de un semiconductor durante el proceso de fotooxidación.	5
Figura 2. Definición de los parámetros de entrada y objetivos para cada Etapa.	9
Figura 3. Fotoreactores de 250 ml sometidos a la fuente de luz y agitación en la cámara de fotooxidación.	12
Figura 4. Diagrama de flujo general de la etapa 1 donde se aplica un tratamiento fotocatalítico a las soluciones artificiales de NH_4^+ en agua marina.	13
Figura 5. Acuarios del ensayo de cultivo y reservorio con “agua nueva”.	16
Figura 6. Individuos de <i>L.vannamei</i> y los elementos del acuario: a) caja esquinera de filtración y piedra difusora, b) malla de angeo.	17
Figura 7. Cajas de filtración y su contenido según el tratamiento: a) vidrio liso para los tratamientos de fotocátalisis y de recambio, b) sustrato poroso del tratamiento con filtración biológica.	21
Figura 8. Diagrama de flujo y variables manejadas en los tratamientos: a) de recambio de agua y b) de fotocátalisis.	22

Figura 9. Formación de NH_4^+ por degradación de materia orgánica nitrogenada (primera hora) y posterior consumo de NH_4^+ por producción de NO_2^- y/o NO_3^- (segunda hora).25

Figura 10. Variación de la concentración de NH_4^+ durante las 6 horas de fotooxidación. $[\text{TiO}_2]=1 \text{ g/l}$26

Figura 11. Concentración de NH_4^+ durante la fotooxidación y reposo (en 1 hora a (+) sal. la $[\text{NH}_4^+]$ se detectó por encima del intervalo de medición $> 3\text{mg/l}$). $\text{pH}=8$ $[\text{TiO}_2]=1 \text{ g/l}$28

Figura 12. Cambios de concentración del NO_2^- durante la fotocátalisis a $\text{pH } 9$ y $1 \text{ g TiO}_2/\text{l}$29

Figura 13. Cambios de concentración del NO_3^- durante la fotocátalisis: a) en el presente estudio a $\text{pH } 9$ y $1 \text{ g TiO}_2/\text{l}$ y b) del NO_3^- reportado en la literatura a $\text{pH } 10$ y $2\text{g TiO}_2/\text{l}$. (tomado de Bravo et al., 1993).30

Figura 14. Porcentaje de conversión del NH_4^+ (colores) para las distintas concentraciones de catalizador y pH . Los colores rojo y blanco representan eliminación de NH_4^+ y el azul su formación.31

Figura 15. Porcentaje de conversión global de MO-N y NH_4^+ (colores), para las distintas concentraciones de catalizador y pH . Los colores rojo y blanco indican la eliminación de MO-N y NH_4^+ y el azul la mínima eliminación.36

Figura 16. Velocidad de formación de NH_4^+ para las distintas concentraciones de catalizador y pH37

Figura 17. Conversión de NO_3^- (colores) para las distintas concentraciones de catalizador y pH. El color rojo indica degradación de NO_3^- y el azul indica su formación.	38
Figura 18. Concentración de los compuestos nitrogenados inorgánicos durante la fotocátalisis, pH=9, $[\text{TiO}_2]= 2 \text{ g/l}$	40
Figura 19. Cambios promedio de salinidad (superior) y pH (inferior), durante la fotocátalisis para los distintos pH iniciales con el pH final promediado, tomando como replicas cada concentración de catalizador.	41
Figura 20. Supervivencia promedio para cada tratamiento durante el ensayo de cultivo.	43
Figura 21. Peso promedio de los camarones para cada tratamiento durante el ensayo de cultivo.	45
Figura 22. Biomasa promedio obtenida para los tratamientos durante el ensayo de cultivo.	47
Figura 23. Variación del NH_4^+ durante el ensayo de cultivo, con 23 individuos por acuario.	48
Figura 24. Presencia de colonias amarillas de <i>Vibrio</i> sp. en las muestra antes (superior) y después (inferior) del tratamiento fotocatalítico. [fotocátalisis con $2\text{gTiO}_2/\text{l}$ y pH 9].	53

LISTA DE ABREVIATURAS

FCA: factor de conversión alimenticia.

Ind: individuos.

$\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$: amonio.

NH_3 : amonio no ionizado.

NH_4^+ : amonio ionizado.

$[\text{NH}_4^+]$: concentración amonio.

NO_2^- : nitrito.

NO_3^- : nitrato.

OD: Oxígeno disuelto.

TiO_2 : dióxido de titanio.

$[\text{TiO}_2]$: concentración de dióxido de titanio.

UFC: unidades formadoras de colonias.

UPS: unidades prácticas de salinidad.

X: Conversión.

ρ : densidad de individuos, definida como ind/m^2

GLOSARIO

ACLIMATACIÓN: proceso por el cual a través de un determinado tiempo, las especies se acostumbran a las nuevas condiciones físicas, químicas y de manipulación en los laboratorios.

AMONIFICACION: proceso de conversión de la materia orgánica nitrogenada a amonio. Entre la materia orgánica nitrogenada se encuentran distintos compuestos con grupos amino-NH₂, o imino (-NH-).

AMONIO: forma inorgánica del nitrógeno que es toxica para los animales acuáticos, este es producto de la excreción de los camarones o peces y de la descomposición de la materia orgánica.

CONSERVACIÓN EX-SITU: metodología para la conservación de especies que se quieren conservar en espacios distintos a su habitat natural, es decir en ambientes artificiales que simulan condiciones similares a las naturales. Un ejemplo de este tipo de conservación es la que se lleva a cabo en los zoológicos, donde se hace reproducción y repoblamiento con las especies conservadas.

CONVERSIÓN: relación entre la cantidad que reacciona y la cantidad que había inicialmente.

CULTIVO INTENSIVO: tipo de cultivo bajo condiciones controladas, donde se suministra oxígeno y alimento artificial para el engorde de especies acuícolas. En este sistema las densidades de siembra es alta y su proceso tecnificado.

FACTOR DE CONVERSIÓN ALIMENTICIA (FCA): es una medida que indica cuantos kilogramos de alimento son necesarios suministrar, para que el organismo de cultivo aumente un kilogramo de peso.

GUATA: nombre comercial que recibe una especie de algodón sintético, este se usa en los acuarios para retener el material particulado y filtrar mecánicamente el agua.

LC₅₀: prueba toxicológica aguda que determina cual es la concentración de la sustancia que causa mortalidad en la mitad de la población tras pasar 24, 48 o 96 horas de exposición a la sustancia de prueba.

MELANOSIS: mancha negra presente en los camarones, su apariencia es desagradable, por lo tanto los camarones con melanosis son poco provocativos ante el consumidor.

PATÓGENO: entidad biológica capaz de producir enfermedades o daños a la biología de un huésped.

RESUMEN

Actividades como la acuicultura, la conservación ex-situ de especies y la acuariofilia en medios confinados marinos alejados del mar no se pueden realizar fácilmente debido a la acumulación de material nitrogenado (materia orgánica, amonio, nitritos, etc.). Esto lleva a que se realice un costoso y continuo proceso de recambio de agua. Después del oxígeno, la variable que le sigue en importancia es el contenido de compuestos nitrogenados inorgánicos. De estos compuestos el más tóxico es el amonio ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$), la oxidación y eliminación de este compuesto, se realiza generalmente con filtros biológicos, pero estos presentan problemas en etapas de inicio, paradas y cuando están muy maduros estos filtros. Una alternativa para la eliminación de la materia orgánica y los compuestos nitrogenados son los procesos avanzados de oxidación (PAOx). Dentro de los PAOx se encuentra la fotocatálisis heterogénea, que puede degradar rápidamente compuestos contaminantes con la ayuda de una fuente de fotones y un semiconductor como catalizador.

En el presente estudio se evaluó la remoción de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ en agua marina a diferentes pH (8, 9, 10 y 10.6), con cuatro concentraciones de dióxido de titanio (TiO_2) como catalizador (0.05, 0.6, 1.3 y 2 g TiO_2/l), estas dos variables tuvieron un efecto significativo y se encontró una relación directa entre la concentración de catalizador y la remoción de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$. Además de la eliminación del $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, también se logró evaluar las condiciones óptimas para la eliminación de la materia orgánica y el nitrato. Posteriormente, en el ensayo de cultivo superintensivo con *Litopenaeus vannamei* se sembraron 264 ind/ m^2 en acuarios de 0.087 m^2 y se evaluaron tres sistemas que eliminaban los compuestos nitrogenados de manera diferente: con filtración biológica, con tratamiento fotocatalítico del 25% del agua y otro con recambio condicionado si aumentaba el $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$). Comparando estos tratamientos se encontró que hay diferencias significativas entre ellos, y que la más alta supervivencia y biomasa se obtuvo en los cultivos donde se trataba

semanalmente con fotocátalisis, además se determinó que bajo condiciones de aumentos de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, es posible reducir 31.72 % el ingreso de “agua nueva” en el sistema con fotocátalisis si se compara con el de recambio.

Adicionalmente se detectó la presencia de bacterias patógenas en el cultivo y se evaluó el efecto de la fotocátalisis en ellas. En total se logró un multiefecto del proceso fotocatalítico, ya que podría remplazar tres etapas separadas (disminución de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, materia orgánica y carga bacteriana) en el proceso de tratamiento de agua marina para la acuicultura, esto indica que la fotocátalisis es un proceso prometedor y aplicable a los cultivos acuícolas marinos.

INTRODUCCIÓN

Distintos factores como la sobrepesca, la contaminación, la destrucción del hábitat y el cambio climático han disminuido ampliamente la producción de las grandes pesqueras del mundo. Pero mientras esta pesca extractiva está disminuyendo, la producción por acuicultura está aumentando exponencialmente desde 1990 a nivel mundial; estos cultivos acuícolas tienen un gran crecimiento económico y son una buena fuente de alimento rico en proteínas. En Colombia la producción acuícola era alrededor de 5.000 toneladas anuales para 1990, pero esta cifra ha aumentado drásticamente, alcanzando 85.000 ton de producción en el 2010 (FAO, 2011).

El nitrógeno en elevadas concentraciones es una fuente importante de contaminación. Este es usado ampliamente como fertilizante del suelo y llega por flujo a ríos, aguas subterráneas, lagos y mares pudiendo provocar eutrofización. En el campo de la acuicultura, el nitrógeno en forma de amonio ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) es altamente tóxico y continuamente se incorpora al medio acuático: por las excretas de los organismos, la descomposición del alimento que no es consumido y la amonificación de la materia orgánica en general, provocando el recambio de agua, para disminuir la concentración de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$. Este compuesto debe ser eliminado del agua en los cultivos ya que su presencia disminuye el apetito y crecimiento de los organismos (Rodríguez et al., 2007).

El control del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ es importante en los sistemas acuícolas de recirculación y en el tratamiento de agua potable. La organización mundial para la salud dictamina que para el agua de consumo humano; la concentración no puede exceder de 1.5 mg/l de NH_3 (Lee et al., 2002). Adicionalmente Chavez & Higuera (2003), aconsejan en las prácticas acuícolas, que el NH_3 y el NH_4^+ del agua de cultivo no supere 0.1 mg/l y 2 mg/l respectivamente.

Para un buen rendimiento en los cultivos acuícolas es necesario controlar muchos factores de calidad de agua como el oxígeno disuelto, pH, salinidad, temperatura y compuestos nitrogenados inorgánicos, como el NH_4^+ , los nitritos (NO_2^-) y los nitratos (NO_3^-). Después del oxígeno, el $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ es la variable más importante a controlar en los sistemas acuícolas. Para un mejor control de este compuesto es necesario un proceso que disminuya su concentración y que se pueda implementar en un cultivo intensivo de recirculación, los cultivos convencionales generan un alto consumo de agua y efluentes nitrogenados que deben ser tratados. Es necesario desarrollar alternativas sustentables como la fotocatálisis para alcanzar mejores rendimientos en la biomasa de cultivos intensivos de recirculación y una mayor supervivencia en los acuarios ornamentales y de conservación ex-situ.

La fotocatálisis puede ser una alternativa factible en el tratamiento del agua en los cultivos intensivos de organismos acuáticos. Este es un proceso general que degrada tanto el $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, como la materia orgánica, los nitritos (NO_2^-) y los nitratos (NO_3^-).

La fotocatálisis heterogénea es una tecnología avanzada de oxidación, esta es un proceso aplicado en el área de producción más limpia para el tratamiento y la degradación de sustancias contaminantes. La fotodegradación catalítica se basa en la destrucción de estructuras químicas por efecto de reacciones de óxido-reducción inducidas por radiación, en presencia de un catalizador. Los estudios de la degradación fotocatalítica del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ y de los compuestos nitrogenados se han realizado mayoritariamente para sistemas gaseosos, hay algunos estudios en agua dulce y pocos los realizados en agua marina hasta la fecha.

La recirculación del agua de cultivo en los sistemas acuícolas marinos, permite llevar a cabo cultivos lejos del mar a altas densidades de individuos, manteniendo la producción durante todo el año en condiciones controladas. En estos sistemas,

las concentraciones de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ alcanzan valores altos que son tóxicos, en ellos hay altas densidades de individuos, quienes en su conjunto aportan aún mucho más material nitrogenado, estos son los llamados sistemas intensivos cerrados de cultivo (Rodríguez et al., 2007).

Actualmente en la acuariofilia marina también existe una problemática relacionada con el tratamiento del agua, en estos sistemas vivos es muy importante un sistema de recirculación ya que sus instalaciones son alejadas del mar. Los sistemas de recirculación usuales para acuarios son costosos y poco eficientes. En estos sistemas convencionales de tratamiento de agua marina, se usan de forma separada, tres procesos para reutilizar el agua: el desproteinizador (*Skimmer*) que retira la MO-N, el filtro biológico que oxida el $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ y el filtro UV-C que esteriliza el agua. Con la tecnología de fotocátalisis, se podría lograr estos tres procesos de reutilización del agua en uno solo, sin utilizar este tipo de tratamientos. En cuanto a la acuicultura, la fotocátalisis podría disminuir los costos de desinfección y el de transporte del agua marina desde el mar (para recambios parciales), además se podrían tener mayores supervivencias de las especies acuáticas marinas que se deseen conservar.

La “Evaluación de procesos de oxidación fotocatalítica en acuicultura marina (enfoque ingenieril)” es el resultado de un estudio interdisciplinario, en donde se unen los conocimientos de ingeniería química y biología marina. En este estudio se hace un énfasis en los componentes ingenieriles de proceso para la fotocátalisis y la respuesta biológica cuantitativa de los parámetros zootécnicos de los camarones. En él se buscaron las mejores condiciones de pH y concentración de catalizador para la fotooxidación del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ y aplica estas condiciones a un ensayo de cultivo intensivo del camarón: *Litopenaeus vannamei*, en esta especie, se evaluaron variables biológicas y finalmente se estimó el ahorro de agua en el cultivo. Este estudio es importante ya que la fotocátalisis puede aumentar la sustentabilidad de los cultivos acuícolas marinos y mejorar la calidad del agua.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 MARCO CONCEPTUAL

1.1.1 Compuestos nitrogenados. Los compuestos nitrogenados tienen distintas toxicidades para los organismos acuáticos. El amonio ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) se puede encontrar ionizado (NH_4^+) o no ionizado en forma de amoniaco (NH_3), la forma en la cual se encuentra depende del pH, para valores de pH mayores a 9.2 predomina la forma NH_3 y para los menores la NH_4^+ ($\text{pKa}=9.2$). En acuicultura el NH_3 es la forma más tóxica y el NO_3^- la menos tóxica. En los sistemas de recirculación convencionales, la materia orgánica nitrogenada (MO-N) es retirada (se pierde agua) y el NH_4^+ es generalmente oxidado en filtros biológicos por acción de bacterias (*Nitrosomona* sp.). Los procesos convencionales con filtros biológicos oxidan el NH_4^+ a NO_2^- y el NO_2^- a NO_3^- (Chavez & Higuera, 2003).

Los valores óptimos de las concentraciones de los compuestos nitrogenados en el cultivo de *L. vannamei* según Chavez & Higuera 2003, son (mg/l):

NH_3	<	NO_3	<	NO_2
< 0.1		0.4 - 0.8		< 1
Amonio no ionizado		Nitratos		Nitritos

1.1.2 Fotocatálisis heterogénea. En la fotocatálisis heterogénea ocurre una absorción directa o indirecta de energía radiante por un sólido (fotocatalizador heterogéneo, que normalmente es un semiconductor de banda ancha). En este proceso ocurre oxidación bajo la radiación ultravioleta, visible o infrarroja, en presencia de un fotocatalizador que absorbe la luz (puede ser solar) y participa en la transformación química de los reactivos. El proceso se inicia como se muestra en la Figura 1, con la generación de pares electrón-hueco (cuya vida media está en el orden de nanosegundos) en la partícula del semiconductor. Un fotón con una

energía $h\nu$ que es mayor a la energía del salto de banda del semiconductor (E_g), promociona un electrón (e^-) de la banda de valencia a la de conducción, lo cual causará fotoreducción y generación de iones. Lo anterior deja un hueco en la banda de valencia (h^+) que causará fotooxidación (Sanz et al., 2009).

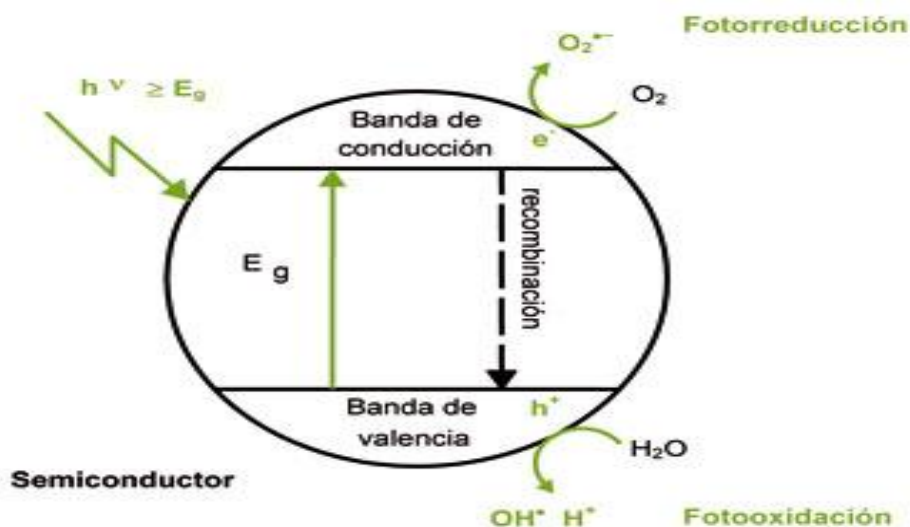


Figura 1. Diagrama energético de un semiconductor durante el proceso de fotooxidación. Fuente: INTERPRESAS (2011)

1.1.3 Características del TiO_2 . El catalizador seleccionado fue el TiO_2 , sus propiedades varían según el fabricante. Para el presente estudio se usó la presentación de Degusa, Aeroxide® P-25 (TiO_2 P-25), su estructura cristalina es de 75% anatasa y 25% rutilo. Éste catalizador es el más usado para fotocátalisis heterogénea, debido a su bajo costo y su amplia disponibilidad. También tiene buenas propiedades ópticas y físicas para las reacciones fotoquímicas. Cuando ocurre un recuperación eficiente, puede ser reutilizado varias veces sin perder significativamente su actividad catalítica (Sanz et al., 2009). Una ventaja adicional es que el catalizador puede ser soportado en un medio sólido, lo que evita que sea retirado por filtración.

1.2 ANTECEDENTES

Los efectos negativos que tiene el NH_3 en el camarón de la especie *L. vannamei* se han estudiado por varios autores. El NH_3 es tóxico y la mortalidad que causa en *L. vannamei* dependen de varios factores, entre ellos de la salinidad (Tabla 1). No solamente se han encontrado valores de concentraciones letales, sino que también se han hecho estudios en el sistema inmune. Chin & Chun (2004) encontraron que hay una vulnerabilidad inmunológica alta en *L. vannamei* cuando en el agua de cultivo se encuentra el NH_3 , este causaba una mayor mortalidad cuando se incubó *Vibrio alginolyticus* (patógeno que causa millonarias pérdidas en camaricultura). La fotocatálisis no solamente disminuye la concentración de NH_3 y NH_4^+ en los cultivos de camarones, sino que también puede ayudar en la disminución del número de bacterias patógenas como *V. alginolyticus*.

Tabla 1. Concentraciones letales del 50% (LC_{50}) de N- NH_3 a distintas salinidades para *L. vannamei*.

Espece	N- NH_3 (mg/l)*	Salinidad
<i>L. vannamei</i>	1.2	5
	1.57	25
	1.6	35

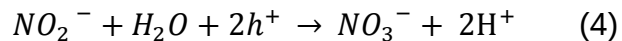
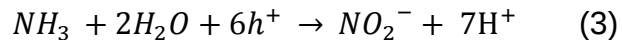
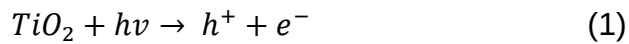
*Chin & Chen (2001)

La fotocatálisis de compuestos nitrogenados se ha realizado tradicionalmente en fase gaseosa. Hasta los años 90's había poca información para soluciones acuosas, según Pollema et al., (1992) "hay relativamente poca información de literatura en la fotocatálisis del NH_4^+ ", este autor estudió la fotocatálisis del NH_3 con TiO_2 en agua dulce y encontró un mayor rendimiento con 0.08 g TiO_2/l , además de la dependencia al pH, del producto final; favoreciéndose la producción de NO_2^- con valores básicos y de NO_3^- con valores ácidos.

Por otro lado Bravo et al., (1993) proponen que la vía de degradación del amonio ocurre por reacción del NH_4^+ en la superficie de catalizador con los iones formados por fotoreducción que son adsorbidos en la superficie. Estos autores no consideraron la posibilidad, de que hubiera reacción del NH_4^+ con los iones formados en el seno del líquido.

Solo hasta inicios del 2000, retomó el interés por los procesos avanzados de oxidación en la degradación del amonio. Las publicaciones más recientes proponen una ruta alterna de degradación del amonio, por vía NH_3 . Lee et al., (2002) estudiaron la fotocátalisis selectiva del NH_3 hasta N_2 , ellos utilizaron TiO_2 y TiO_2 dopado con oro (Au-TiO_2) y platino (Pt-TiO_2). Con el TiO_2 y Au-TiO_2 encontraron que la única ruta de degradación del NH_3 , es $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. Con el Pt-TiO_2 , se confirmó la conversión del 80% de NH_3 por una ruta de degradación hasta N_2 , esta se logró con la saturación del medio con N_2O .

Murgia et al., (2005) estudiaron la fotooxidación del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, obteniendo 64% como la máxima degradación del NH_4^+ , ellos hallaron que esta fotooxidación se da por vía NH_3 y que ocurre en presencia del oxígeno y dos huecos creados en la superficie del TiO_2 (ecuación 2), por esta razón los ensayos tuvieron una fuente de aire extra (además de que ayudó en la agitación). El mecanismo de reacción propuesto por ellos es mostrada a continuación:



Kropp et al., (2009) estudiaron la electrofotocatálisis con un fotoánodo recubierto de TiO_2 y encontró que por este método también se puede oxidar directamente el NH_4^+ hasta NO_3^- (85% de rendimiento). Esta investigación fue realizada en agua

marina y concluyó que en este medio salino, hay una remoción más rápida del NH_3^- .

Es importante realizar la evaluación de la supervivencia y el comportamiento de los organismos con las aguas tratadas fotocatalíticamente, porque se ha encontrado que aunque el TiO_2 no es considerado altamente tóxico, si hay evidencia de sus efectos negativos. En *Daphnia magna*, hay una concentración letal para el 50% de la población (LC_{50}) de tan solo 0.016 mg TiO_2 /l, además este catalizador causa inhibición por bioluminiscencia en las semillas (García et al., 2011).

Finalmente estudios de Xiaoshan et al., (2011) también con *D. magna*, encontraron que las nano-partículas del TiO_2 tienen una toxicidad mínima a las 48 h, pero que esta aumenta con exposiciones prologadas. En los análisis crónicos (a largo plazo) estos individuos mostraron retardo severo del crecimiento, mortalidad y defectos reproductivos a los 21 días, por esta razón el ensayo de cultivo duró más de 21días.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación tuvo en general dos etapas; en la primera se hizo énfasis en la evaluación del tratamiento fotocatalítico y en la segunda se realizó un ensayo de cultivo con camarones. Los objetivos y parámetros de entrada en cada etapa se muestran en la Figura 2. Para la primera etapa se realizaron pruebas preliminares y en la segunda se realizó una aclimatación preliminar al ensayo de cultivo. Para ambas etapas se necesitó una fuente de NH_4^+ ; para la primera se usó una fuente artificial y para la segunda una natural (producido por los camarones).

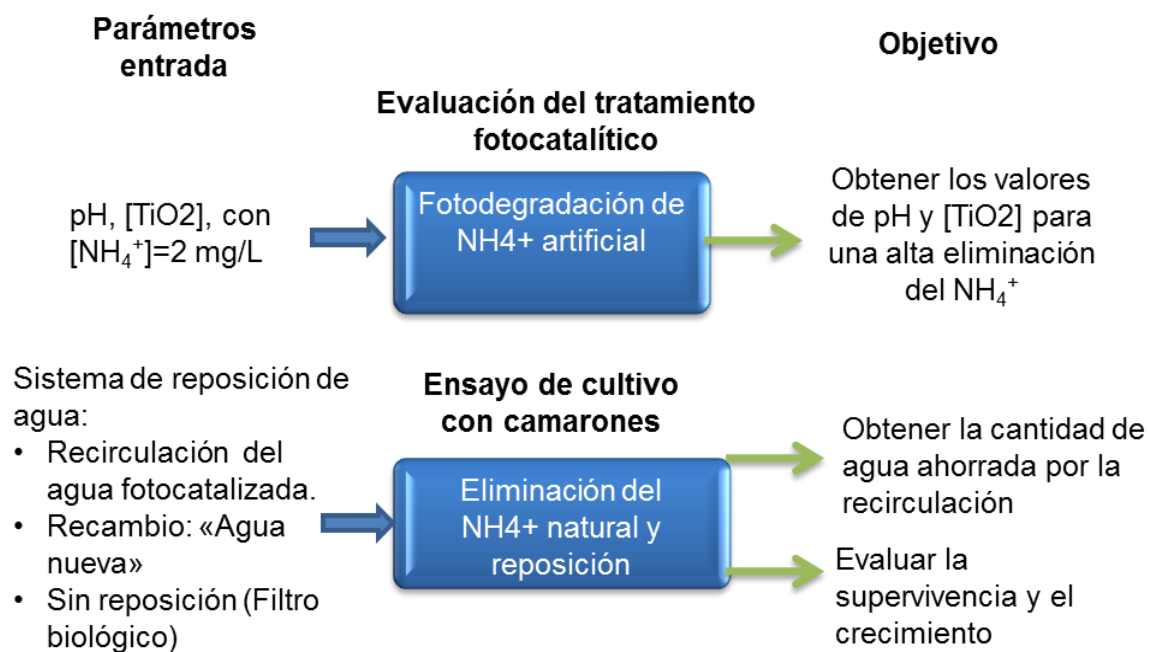


Figura 2. Definición de los parámetros de entrada y objetivos para cada etapa.

Las concentraciones de NH_4^+ , NO_2^- y NO_3^- fueron determinadas en el Espectroquant Pharo 300 de Merck, gracias a los kits de ensayo estandarizados de la misma marca, este espectrofotómetro determinaba el nitrógeno como amonio (N-NH_4^+), nitrito (N-NO_2^-) o nitrato (N-NO_3^-). El pH, salinidad y oxígeno disuelto fueron medidos con electrodos por medio del multiparámetro Orion 5 Star.

La temperatura fue medida con un termómetro infrarrojo y los pesos de los camarones con una balanza de ± 0.02 g. El control y pretratamientos del pH en el agua marina se realizó con CH_3COOH , $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ y CaO .

La eficiencia de la fotocatálisis se determina con la conversión, que se define como la cantidad de moles reaccionadas sobre las moles iniciales.

$$\text{Conversión (X)} = \frac{\text{moles iniciales} - \text{moles finales}}{\text{moles iniciales}} \quad (5)$$

con : $X > 0$ cuando se consume o degrada el compuesto

$X < 0$ cuando se forma el compuesto

La variable respuesta que se manejó fue adimensional (conversión), por lo tanto es lo mismo referirse a conversión de NH_4^+ o de N-NH_4^+ y por practicidad se manejará, el término para la molécula completa (NH_4^+ , NO_2^- , etc.). Adicionalmente, cabe resaltar que el método de medición estandarizado para NH_4^+ determina el amonio total ($\text{NH}_3^+ + \text{NH}_4^+$), pero por convención lo expresa como NH_4^+ y es así como se expresará en los siguientes capítulos. Entonces cuando se nombre el valor de NH_4^+ reportado por la metodología utilizada, se referirá al amonio total. Este método utiliza una base para llevar el amonio presente en ambas formas hasta un pH 12.5, valor en el cual todo el amonio se ha convertido a NH_3 y este es el valor que determina.

La salinidad fue determinada indirectamente por medio de la conductividad eléctrica (us/cm) y la temperatura ($^\circ\text{C}$), por lo tanto se manejan las unidades prácticas de salinidad (UPS), aunque hay que tener en cuenta que la salinidad no tiene unidades. Esta medida fue importante al realizar el recambio de agua y la aclimatación porque no se podían hacer cambios mayores a 1 UPS por día para no estresar a los camarones.

Las mediciones de los compuestos nitrogenados de todas las muestras, se realizaron en un cuarto climatizado a 25°C. Todas estas muestras fueron procesadas hasta máximo una hora después de haberse tomado. Además, los volúmenes de agua y reactivos necesarios para la determinación, fueron medidos con micropipetas, para garantizar un volumen más preciso

2.1 TRATAMIENTO FOTOCATALÍTICO

En el tratamiento fotocatalítico se utilizó el TiO_2 Degussa P-25 como catalizador. Las pruebas de esta etapa se realizaron en la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad del Valle. Para llevar a cabo esta fotooxidación se requirió una estufa con agitación, un aireador, NH_4SO_4 , un fotoreactor (Erlemeyer de 250 ml), una cámara de luz UV-A con 6 lámparas de 25 W, el catalizador y agua marina. El montaje general es mostrado la Figura 3.

El agua de mar fue obtenida del Pacífico Oriental Tropical. Esta fue filtrada al vacío a través de un papel filtro para eliminar los sólidos suspendidos. Después de medir la concentración inicial del NH_4^+ , se calculaba la cantidad faltante para alcanzar los 2 mg NH_4^+/l (los valores óptimos de cultivo están por debajo de este valor) y se agregaban para iniciar las pruebas desde una situación teóricamente peligrosa para los camarones.



Figura 3. Fotoreactores de 250 ml sometidos a la fuente de luz y agitación en la cámara de fotooxidación.

2.1.1 Pruebas preliminares. Para determinar un tiempo de reacción y un intervalo de salinidad aplicable, se realizaron varias pruebas preliminares, estas tenían como objetivo fijar los parámetros de operación para salinidad y el tiempo de fotooxidación. Para esto se dejaron constantes la concentración de catalizador en 1 g TiO_2/l y el pH en 8 y 9.5.

Como los camarones pueden cultivarse en un intervalo amplio de salinidades (15-30 UPS), se decidió efectuar una prueba inicial, para estudiar el comportamiento del proceso en un valor bajo de 16 UPS (- sal.) y uno alto de 30 UPS (+ sal.). En una primera prueba se dejó fotooxidar las soluciones por 2 horas.

Para la determinación del tiempo de reacción, se dejaron transcurrir las fotooxidaciones por un periodo de 6 horas, en estas se midió la concentración de NH_4^+ cada hora. Además se realizó la medición de las concentraciones de NO_2^- y NO_3^- al inicio y al final.

Para evaluar la estabilidad del NH_4^+ , se realizó la fotooxidación por 6 horas, midiendo el NH_4^+ cada hora y se dejó reposar las soluciones sin reacción. La última medición se realizó al día siguiente, a la solución que se había dejado en reposo después de haberse fotocatalizado.

2.1.2 Evaluación del efecto del pH y concentración de catalizador. Una vez definida la salinidad y el tiempo de reacción, se procedió a seguir con las pruebas definitivas. En estas, se siguió un diseño factorial 4^2 , con réplicas en el punto central, para evaluar 4 concentraciones de catalizador [0.05, 0.65, 1.34 y 2 g/l] y 4 valores de pH [8, 9, 10 y 10.6]. En estas fotooxidaciones, se utilizó el NH_4SO_4 como fuente artificial de NH_4^+ para alcanzar los 2 mg N- NH_4^+ /l. El diagrama de flujo para esta etapa es mostrado en la Figura 4.

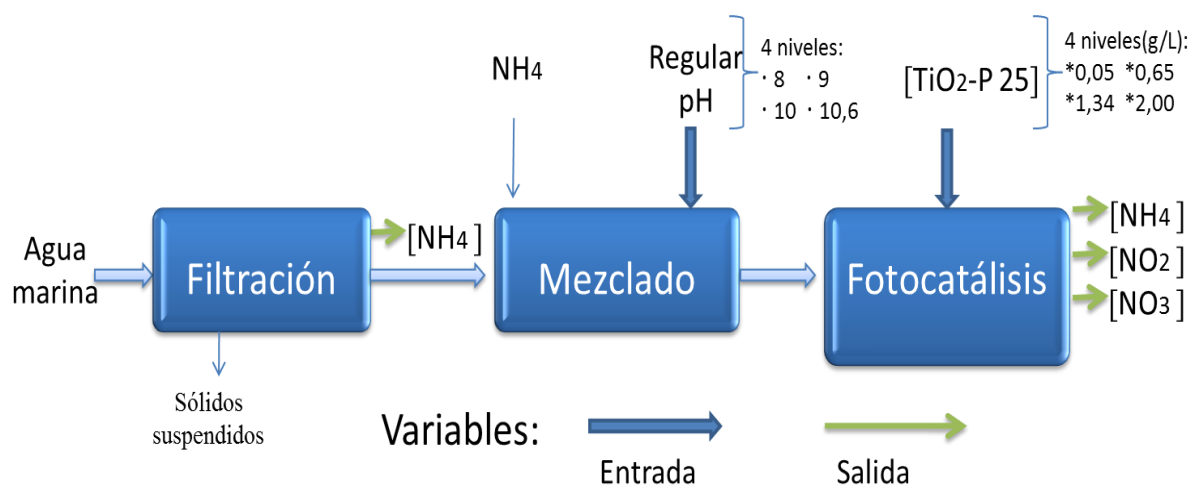


Figura 4. Diagrama de flujo general de la etapa en que se realizó el tratamiento fotocatalítico.

Posteriormente, se comparó el porcentaje de eliminación del NH_4^+ y la producción de NO_2^- y de NO_3^- entre los diferentes ensayos. El tiempo de reacción se definió en las pruebas preliminares. Para la evaluación del efecto de la concentración del catalizador y del pH se cuantificó el NH_4^+ . También se realizó la cuantificación del NO_2^- y NO_3^- al inicio y al final de la fotocatálisis, mientras que el NH_4^+ se determinó cada 90 min.

Como la fotocatálisis puede alterar las propiedades del agua marina, se debieron analizar ciertos parámetros, después de culminado el proceso. Con el tratamiento fotocatalítico, la salinidad o el pH podrían cambiar hasta valores no convenientes para la acuicultura marina. Para corregir estos posibles cambios fue necesario monitorear el pH y salinidad, por lo tanto se tomaron los valores de estas variables antes y después del proceso fotocatalítico. Según estos resultados se planteó un pretratamiento de regulación de pH, para el agua marina fotocatalizada antes de que se tuviera que regresar al acuacultivo.

2.2 ENSAYO DE CULTIVO DE CAMARÓN

El ensayo de cultivo se llevó a cabo durante 45 días en la sección de Biología Marina de la Universidad del Valle, los individuos de prueba fueron postlarvas de *L. vannamei* provenientes del Mar Caribe. El ensayo se realizó en dos etapas, la primera de aclimatación y la segunda de crecimiento definitivo.

2.2.1 Transporte, montaje y aclimatación de *L. vannamei*. Las 500 postlarvas de *L. vannamei* provenientes de Cartagena, con 15 días de siembra y un peso promedio de 1.23 (± 0.40) g, fueron embaladas en doble bolsa con oxígeno, éstas estaban protegidas y aisladas térmicamente en 10 cajas de icopor de 40 L. El transporte desde Cartagena se realizó por vía aérea hasta Cali, donde se recibieron 12 horas después con una supervivencia del 99%.

Los 50 individuos que había en cada una de las 10 cajas de icopor, fueron cambiados a 10 cajas plásticas manteniendo la misma densidad de individuos con el agua original que traían. Después de acomodar a los individuos en los sistemas de cultivo se les suministró alimento hasta el momento en el cual los camarones ya no recogían el alimento, sino que se empezaba a acumular en el fondo. Los camarones se dejaron aclimatar por los 15 días siguientes.

El sistema de aireación constaba de dos líneas, una principal específicamente para el aire y una secundaria para los filtros esquineros. La principal constaba de 3 aireadores con dos salidas cada uno y una derivación por cada salida, lo cual permitió airear simultáneamente 12 salidas con piedras difusoras; 9 en los acuarios y 3 en una pileta de reserva. Esta línea estaba conectada a una UPS de 850 W que regulaba y suplía de energía en caso de fallas en el fluido eléctrico. La línea de aire secundaria también tenía 3 aireadores y 12 salidas que eran conectadas a 9 cajas de filtración esquineras en los acuarios de prueba y 3 en la pileta de reserva. Cada aireador era de 5 W y su ubicación era lo más cercana posible al acuario, para garantizar un aparente buen flujo de aire (que se evidenciaba cualitativamente en la salida de las burbujas por la piedra difusora) con pocas pérdidas por fricción.

La pileta de reserva se acondicionó para mantener los individuos más pequeños, que se extrajeron después de homogenizar las tallas (tamaños). Estos sirvieron para garantizar una población de reserva ante cualquier problema por muerte repentina o contaminación de algún acuario.

Cada montaje para los ensayos (Figuras 5 y 6) constaba de una caja plástica con capacidad de 28 l y un área superficial de 0.087 m^2 , una fuente de aire conectada a una piedra difusora, una malla de angeo colgada verticalmente, una caja de filtración esquinera la cual varía en contenido, según el tratamiento (Tabla 3), una tapa para evitar que se escapen los individuos y una línea de nivel para percibir

cualquier cambio repentino en el volumen del agua. Cada montaje conto con 15 l de agua marina, la cual se recambió totalmente al final de la etapa de aclimatación. La malla de angeo fue útil para proporcionar un lugar adicional de reposo para los camarones, y así disminuir su estrés a causa de la densidad alta.

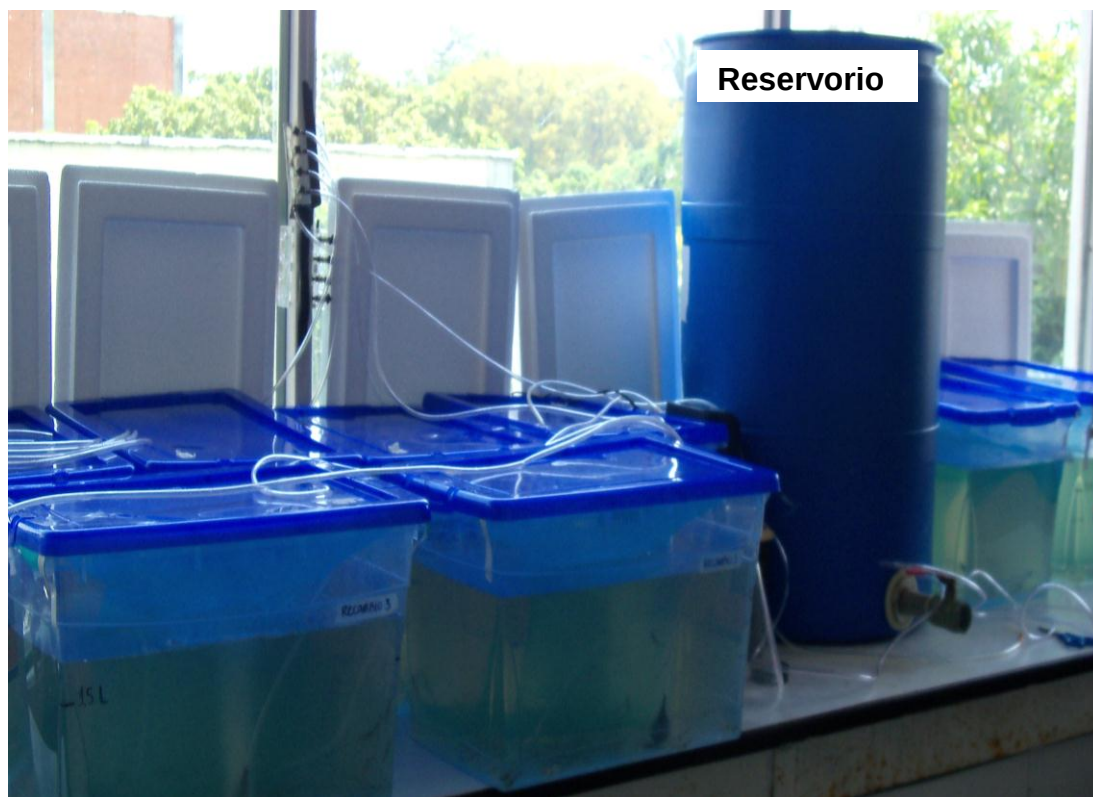


Figura 5. Acuarios del ensayo de cultivo y reservorio con “agua nueva”.

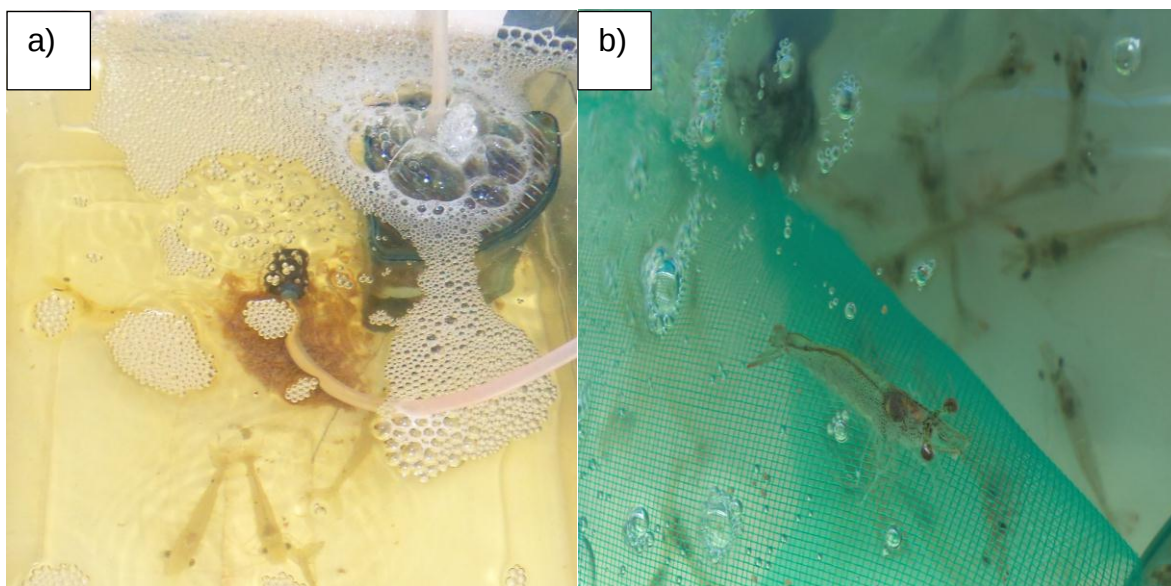


Figura 6. Individuos de *L.vannamei* y los elementos del acuario: a) caja esquinera de filtración y piedra difusora, b) malla de anqueo.

2.2.2 Ensayo de crecimiento y supervivencia. Después de los 15 días de aclimatación los individuos con las tallas más uniformes, fueron distribuidos a una densidad de 23 ind/acuario (264 ind/m² fondo). Su peso promedio inicial fue 1.37 (± 0.41) g. Estos se dispusieron en 3 acuarios, para cada uno de los 3 tratamientos (Tabla 3) para un total de 9 acuarios.

Antes de comenzar el ensayo, se realizaron recambios con “agua nueva”, para garantizar una calidad de agua homogénea al inicio de la prueba, esta agua provenía de un reservorio que contenía 70 % de agua marina preparada con agua marina artificial de marca Instan Ocean, la cual se disolvió en agua des-ionizada para bajar las concentraciones de los compuestos nitrogenados y un 30% de agua natural del Pacífico Oriental Tropical, para suplir micronutrientes y poblaciones microbianas naturales. Esta “agua nueva” permaneció aireada y con filtro biológico para cuando los acuarios con tratamiento de recambio lo requirieran. Las condiciones de calidad de agua manejadas en la experiencia son mostradas en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de calidad de agua manejados en el ensayo de cultivo y sus valores óptimos.

Parámetro	Valor manejado	Valor optimo	Unidades
Temperatura	27-30	28-30*	°C
pH	7-8	7-8*	-
Salinidad	16-18	15-25*	UPS
N-NH ₃ /NH ₄ ⁺ (amonio total)	< 1.5	< 2 ** < 1 *	mg/l

*Chavez & Higuera, 2003

** Boyd, 1998

En el primer día del ensayo y semanalmente durante toda la prueba, se pesaron 5 individuos escogidos aleatoriamente en cada acuario, para determinar la cantidad de alimento a suministrar y para conocer el peso promedio ganado por acuario. Posteriormente con estos datos de alimento y peso, se obtuvo el factor de conversión alimenticia (FCA). También se registró semanalmente el número de individuos vivos y las condiciones químicas del agua (NH₄⁺, temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto). Como el NO₂⁻ y NO₃⁻ no son problema en el arranque de la estabilización de los medios acuáticos, fueron monitoreados únicamente en las dos últimas semanas de cultivo.

El peso promedio de los camarones fue calculado semanalmente con una muestra poblacional de 5 individuos por acuario; con éste valor y el número de individuos vivos en cada semana, se halló la biomasa (# ind vivos por el peso promedio) y se calculó el alimento a suministrar semanalmente, éste era proporcionado teniendo en cuenta el 6% de biomasa por acuario, este valor se basó en la recomendación del fabricante del alimento de marca Nicovita, quien indicaba que este porcentaje era el ideal para camarones entre 1 y 2 gramos. El alimento era distribuido en tres

raciones diarias; a las 10 am, 1 pm y 6 pm. Semanalmente se recalculaba el alimento según la biomasa y se suministraba un tercio de la cantidad calculada, en cada ración para cada acuario.

El FCA se calcula según la ecuación (6), este valor indica cuanto del peso del alimento, fue asimilado por los organismos para el aumento de su peso. El alimento agregado fue la sumatoria de las raciones agregadas en todas las semanas de cultivo. La ganancia de peso fue la diferencia entre los pesos finales e iniciales promedio para cada tratamiento.

$$FCA = \frac{\text{alimento entregado}}{\text{ganancia de peso}} \quad (6)$$

Los tres tratamientos tenían tres maneras distintas de eliminar el NH_4^+ formado en los acuarios y sus características son mostradas en la Tabla 3. Ellos variaban en el contenido de las cajas esquineras de filtración y el tratamiento periódico del agua. Los tratamientos fueron denominados de la siguiente manera: el de filtración biológica que tenía un sustrato poroso para las bacterias nitrificantes, el de recambio que se le ingresaba “agua nueva” y el de fotocátalisis que se le trataba el agua periódicamente.

El tratamiento con filtración biológica, eliminaba este compuesto tóxico gracias a la presencia de microorganismos nitrificantes que habían colonizado previamente un sustrato poroso de biocerámica y carbonato de calcio para lograr la colonización se dejó madurar anticipadamente los filtros biológicos por 30 días en un acuario marino personal. El sustrato biocerámico tenía forma cilíndrica hueca para aumentar la superficie y el carbonato de calcio tenía formas redondeadas con diámetro inferior a 2 cm, este era producto de la fragmentación de corales muertos. El sustrato poroso se soportó en una caja de filtración física que contenía algodón artificial para filtración física (Figura 7).

Tabla 3. Características de los tratamientos para la eliminación de NH_4^+ .

Características	Tipo de eliminación del NH_4^+		
	Filtración biológica	Recambio de agua	Fotocatálisis
Contenido de la caja de filtración (Figura 7).	Sustrato poroso y filtro físico	Vidrio liso y filtro físico	Vidrio liso y filtro físico
Agua a tratar/recambiar (%)	0	Dependiendo del $[\text{NH}_4^+]$	25
Periodicidad del recambio o tratamiento fotocatalítico	Nunca	Cuando $[\text{NH}_4^{4+}] \geq 1.5$	Semanal
ρ_{nicial} , % de alimento, aireación	Igual para todos los tratamientos		

El tratamiento con recambio de agua, es un sistema semi-abierto donde se disminuía el NH_4^+ por ingreso de “agua nueva” con concentraciones mínimas de NH_4^+ (0.05 mg NH_4^+/l) que diluían su concentración al mezclarse en el acuario de cultivo. El tratamiento con fotocátalisis, era un sistema cerrado donde se fotocatalizaba semanalmente el 25% del agua de cultivo y posteriormente se regresaba al acuario. Teniendo en cuenta los antecedentes de toxicidad del TiO_2 , se determinó que el agua marina fotocatalizada debía filtrarse antes de reintegrarse al sistema de cultivo para evitar al mínimo la exposición con el TiO_2 . En estos dos últimos tratamientos había en la caja de filtración únicamente material de vidrio liso (Figura 7), ya que las bacterias no colonizan fácilmente este sustrato y un algodón artificial (guata) que disminuía las partículas suspendidas del agua.

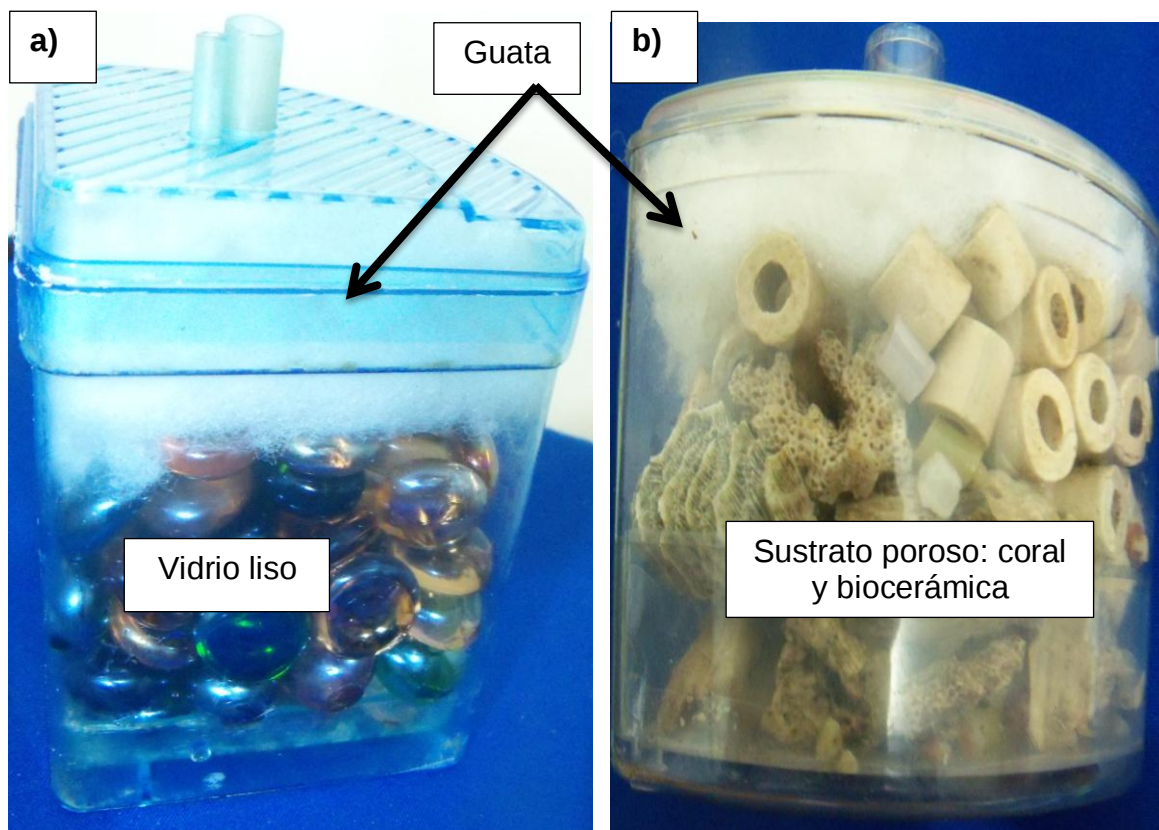


Figura 7. Cajas de filtración y su contenido según el tratamiento: a) vidrio liso para los tratamientos de fotocátalisis y de recambio, b) sustrato poroso del tratamiento con filtración biológica.

En todas las cajas de filtración había una línea de aire que permitía que circulara el agua. Esta circulación se da gracias a las burbujas generadas, que causan un flujo de agua a través del algodón artificial. Los diagramas de flujo para los tratamientos de recambio y de fotocátalisis son mostrados en la Figura 8. Finalmente se estableció un protocolo cíclico semanal para las distintas actividades de todos los tratamientos de (Tabla 4)

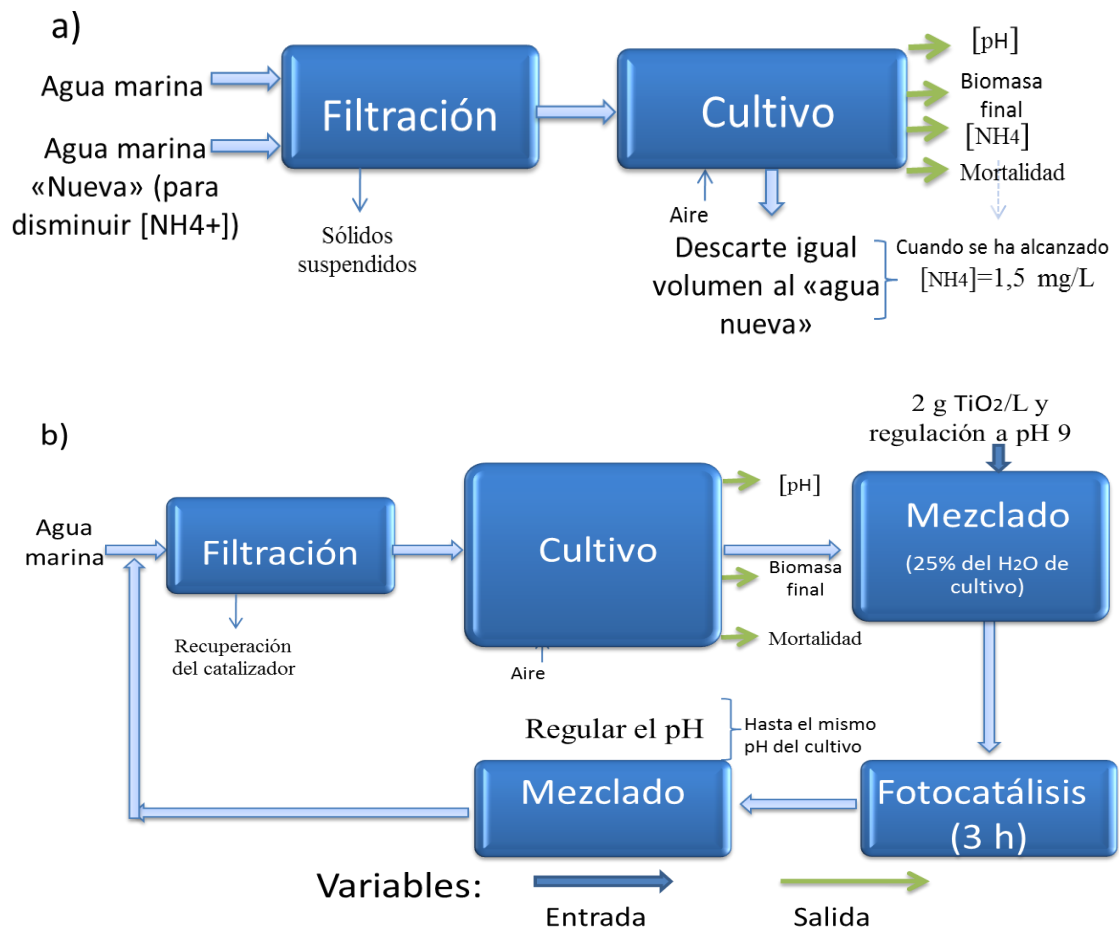


Figura 8. Diagrama de flujo y variables manejadas en el sistema: a) de recambio de agua y b) de fotocátalisis.

Tabla 4. Protocolo semanal de actividades para el ensayo de cultivo.

Día	1	2	3	4	5	6	7
Actividad	Retirar alimento no consumido	Limpieza del filtro físico y Pesaje de los individuos	Retirar alimento no consumido	Mantenimiento al sistema de aireación y otros	Retirar alimento no consumido	Tratamiento fotocatalítico	Medición vespertina de parámetros fisicoquímicos
		Alimentar tres veces		al día	(10 am, 1 pm y 6 pm)		

El tratamiento fotocatalítico se realizó en la escuela de Ingeniería Química, por lo cual se utilizaron 3 recipientes individuales para transportar el agua a tratar en el tratamiento fotocatalítico. Se trataron 12 l. semanales, mediante 6 fotoreactores de 1 l, estos eran agitados por un *shaker* de 6 puestos a una velocidad de 150 rpm.

Para la determinación de la capacidad de esterilización del tratamiento fotocatalítico, se realizó una prueba microbiológica comparando las unidades formadoras de colonias (UFC) que crecieron en un medio de cultivo selectivo, esta evaluación se realizó al agua marina antes y después de realizarle la fotocatálisis. El medio de cultivo seleccionado fue el Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS). En este, solo crecen bacterias del genero *Vibrio* sp., las cuales causan a los camarones la enfermedad denominada vibriosis, y a los humanos enfermedades como el cólera.

Se prepararon 6 cajas Petri con el medio de cultivo específico para *Vibrio* sp. En tres de estas cajas, se sembraron las diluciones del agua de uno de los acuarios con tratamiento fotocatalítico, esta agua fue tomada del 25% que se iba a fotocatalizar. Las tres cajas de Petri restantes fueron sembradas con la misma muestra del 25% del agua, pero que ya se había fotocatalizado.

También se sembró una muestra de tejido con melanosis, para determinar si había una fuente de enfermedad bacteriana, posteriormente se realizó la prueba de Gram, para precisar el grupo bacteriano al cual pertenecían las colonias de este tejido.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran gráficamente a través del software Surfer 8, Statistica 8.0. y Microsoft Excel 2011. A estos se les comprobó que la distribución fuera normal y posteriormente se realizó el análisis de varianza con Statistica 8.0. Las superficies de respuesta para la conversión de los distintos compuestos se obtuvieron por interpolaciones con el método Kriging.

3.1 TRATAMIENTO FOTOCATALÍTICO

3.1.1 Efecto de la salinidad y el tiempo de oxidación en las pruebas preliminares. El tratamiento fotocatalítico del agua marina natural provocó la degradación de la materia orgánica nitrogenada (MO-N), esto se evidencia por un aumento neto de la concentración de NH_4^+ , ya que el producto de la degradación de la MO-N es el NH_4^+ .

Dicho proceso se puede dar mediante varios mecanismos, ya que la MO-N se encuentra constituida por compuestos con cadenas nitrogenadas numerosas, como es el caso de la urea o las proteínas. De esta manera para éste último subgrupo, se han reportado 412 proteínas distintas presentes como MO-N, solo en la zona Pacífica (Yamada & Tanoue, 2006).

En general la degradación de la MO-N, es un proceso de mineralización que sucede por hidrólisis. Esta se da debido a un rompimiento de moléculas orgánicas nitrogenadas grandes. Por factores tales como, una mayor concentración de iones H^+ generados y el suministro de O_2 a la solución. Debido a esto es posible, que también durante el proceso existiera un rompimiento de las terminaciones amina ($-\text{NH}_2$) que tienen las proteínas.

Con la salinidad más alta, se observó una mayor formación de NH_4^+ , pero al llegar las dos horas, tanto la salinidad alta como la baja, llegaron a un punto de equilibrio similar y superior al inicial. En la Figura 9, se muestra dicho comportamiento, lo cual refleja que la fotocatálisis es efectiva para la degradación de MO-N, pero que bajo condiciones de salinidad más alta se produce mayor cantidad de NH_4^+ , lo que aumentaría la toxicidad del agua. La menor salinidad produce una menor degradación de MO-N y así mismo un menor aumento de NH_4^+ y por lo tanto una menor acumulación de NO_2^- y NO_3^- .

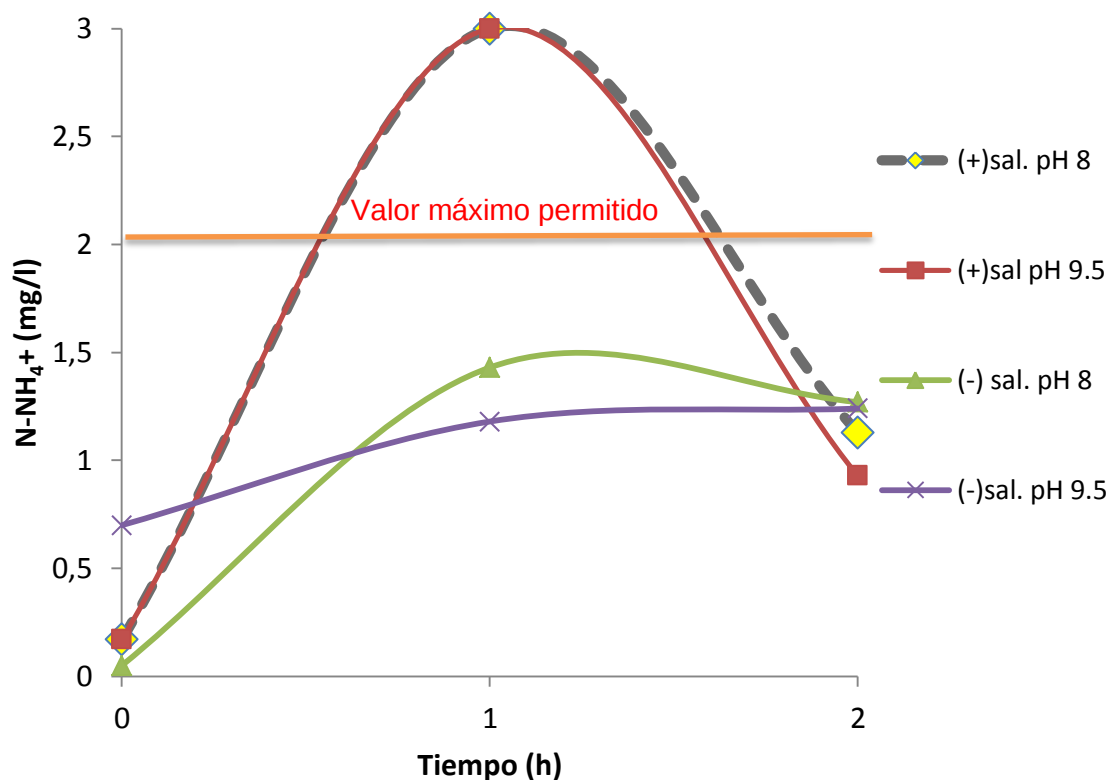


Figura 9. Formación de NH_4^+ por degradación de la materia orgánica nitrogenada (primera hora). $[\text{TiO}_2] = 1 \text{ g/l}$.

El objetivo de esta prueba preliminar era desfavorecer la generación de materia inorgánica tóxica (NH_4^+ , NO_2^- y/o NO_3^-), que se producía por degradación de la MO-N. La degradación de la MO-N a materia inorgánica, se evidencia por el aumento de la concentración de NH_4^+ , que es un producto intermedio en este

proceso, Dicho comportamiento se observó en la primera hora de reacción para la salinidad alta (Figura 9). Por lo tanto se decidió trabajar con la salinidad más baja, donde había una menor formación de NH_4^+ , con un intervalo de confianza para el método de medición del NH_4^+ de ± 0.06 .

En la Figura 10, se muestran todos los ensayos con larga duración, en los cuales se observó la formación de NH_4^+ , la cual siempre sucede en mayor proporción en la primera hora. El proceso no puede durar menos de una hora, porque en vez de disminuir la concentración de NH_4^+ estaría aumentándose a valores máximos a causa de la degradación de la MO-N. Para la segunda hora se observó una reducción gradual del NH_4^+ , pero no disminuyó a valores cercanos de su concentración inicial, por lo cual la concentración de 1g/l de catalizador mostró resultados desfavorables.

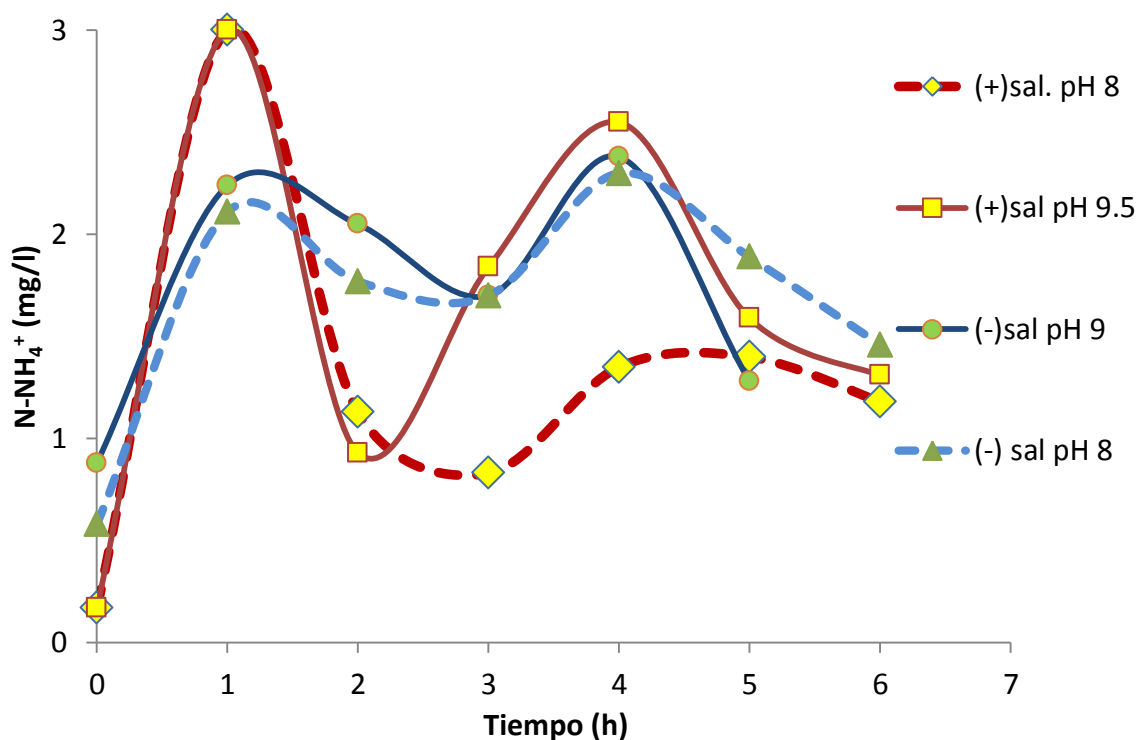


Figura 10. Variación de la concentración de NH_4^+ durante las 6 horas de fotooxidación. $[\text{TiO}_2] = 1 \text{ g/l}$.

La Figura 10 muestra los 4 ensayos preliminares efectuados por seis horas. El primero de ellos presentó la concentración mínima de NH_4^+ a las 2 horas, el segundo a las 3 horas, el tercero a las 5 horas y el último a las 6 horas.

Es importante señalar que tres de los cuatro ensayos presentaban mínimos locales en la tercera hora. Mostrando así que además de la primera hora, en la cuarta hora también presentaba un nuevo aumento de la concentración de NH_4^+ . Entonces hay dos periodos en que las concentraciones son mínimas, uno entre 2-3 h y otro entre 5-6 h. Pero las que presentan un mínimo general entre 5-6 h, también presentan un mínimo local en la tercera hora, por lo cual se decidió que el tiempo de la fotooxidación debía ser 3 h. Este tiempo corto es idóneo, porque no permite que se genere un exceso de nitrógeno inorgánico, lo que provocaría una mayor toxicidad del agua, por la generación de mayores concentraciones de NO_2^- y NO_3^- .

Elegir un tiempo de solo 3 horas, representa la mitad del gasto de energía por las lámparas, si se compara con el otro mínimo encontrado a las 6 horas. Como el volumen de los fotoreactores es limitado, entonces la capacidad de tratamiento en 3 h también sería mayor, porque en 6 horas se podrían haber realizado dos tratamientos fotocatalítico de 3 horas, en vez de uno solo de 6 horas.

Los cambios en el sentido de las pendientes de la Figura 10, son debidos a que el nitrógeno sufre transformaciones de manera secuencial; primero toda la MO-N, se convierte en NH_4^+ por el proceso conocido como Amonificación, luego el nitrógeno amoniacal se oxida y se convierte en NO_2^- y finalmente se oxida hasta NO_3^- . Si se usara una salinidad alta, se estaría generando un aumento en la concentración de NO_2^- (también tóxico para larvas) por degradación de todo el NH_4^+ adicional formado en la primera hora.

La Figura 11, muestra la fotooxidación a un pH fijo con dos salinidades distintas, allí se observa que la degradación de la MO-N en la menor salinidad es menor,

porque los valores máximos de NH_4^+ son menores que los de salinidad alta, entonces si hay menor formación de NH_4^+ , es consecuencia de un menor consumo de MO-N.

Adicionalmente se resalta la importancia de realizar la cuantificación de los compuestos nitrogenados inmediatamente después de la fotooxidación, ya que al día siguiente de haberse reposado las soluciones que habían sido fotocatalizadas, se obtuvieron valores para el NH_4^+ distintos a los encontrados a las 6 horas cuando recién se había terminado la fotooxidación, tal como se muestra en la Figura 11, esto es debido posiblemente a la inestabilidad natural del nitrógeno que podría convertirse en cualquiera de sus otras formas, además de que el NH_3 tiene mayor afinidad por la fase gaseosa y podría estar cambiando a este estado.

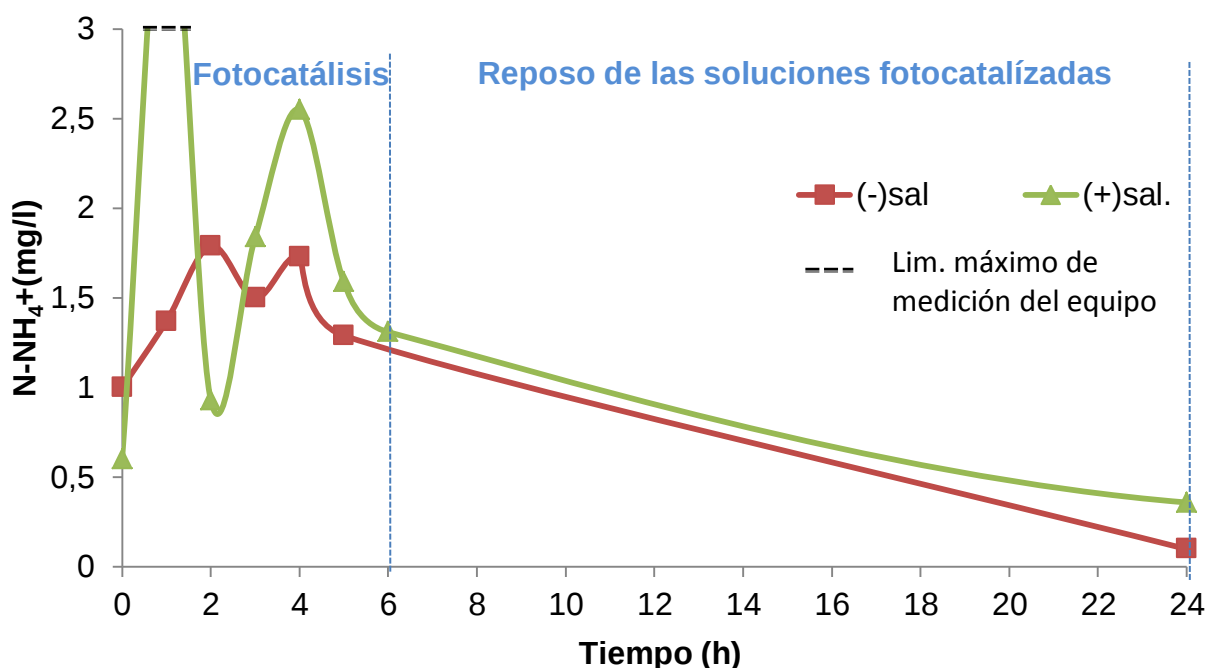


Figura 11. Concentración de NH_4^+ durante la fotooxidación y reposo (en 1 hora a (+) sal. La $[\text{NH}_4^+]$ se detectó por encima del intervalo de medición $> 3 \text{ mg/l}$). $\text{pH}=8$ $[\text{TiO}_2]=1 \text{ g/l}$.

Finalmente, en las pruebas preliminares, se compararon las concentraciones iniciales y finales del NO_2^- y NO_3^- (Figura 12 y 13), en las cuales se encontró que para el NO_2^- , no se exceden los valores recomendados tras las 6 horas de fotooxidación, pero para el NO_3^- se excede el valor recomendado, por lo tanto se reafirmó la decisión de dejar el tiempo de fotooxidación de 3 horas, ya que si se deja un tiempo mayor a este, se va acumulando aún más el NO_3^- y cada hora que pasa se acumula más.

Aunque posiblemente a las 3 horas ya sea algo tóxico el NO_3^- , no se puede seleccionar un tiempo menor, porque en la primera y segunda hora todavía hay concentraciones altas de NH_4^+ ; esto teniendo en cuenta la fotooxidación a menor salinidad de la Figura 10. Además el NO_3^- es menos tóxico que el NH_4^+ , por lo tanto es preferible disminuir la concentración del más tóxico (NH_4^+), a pesar que se aumente un poco la toxicidad del menos tóxico (NO_3^-).

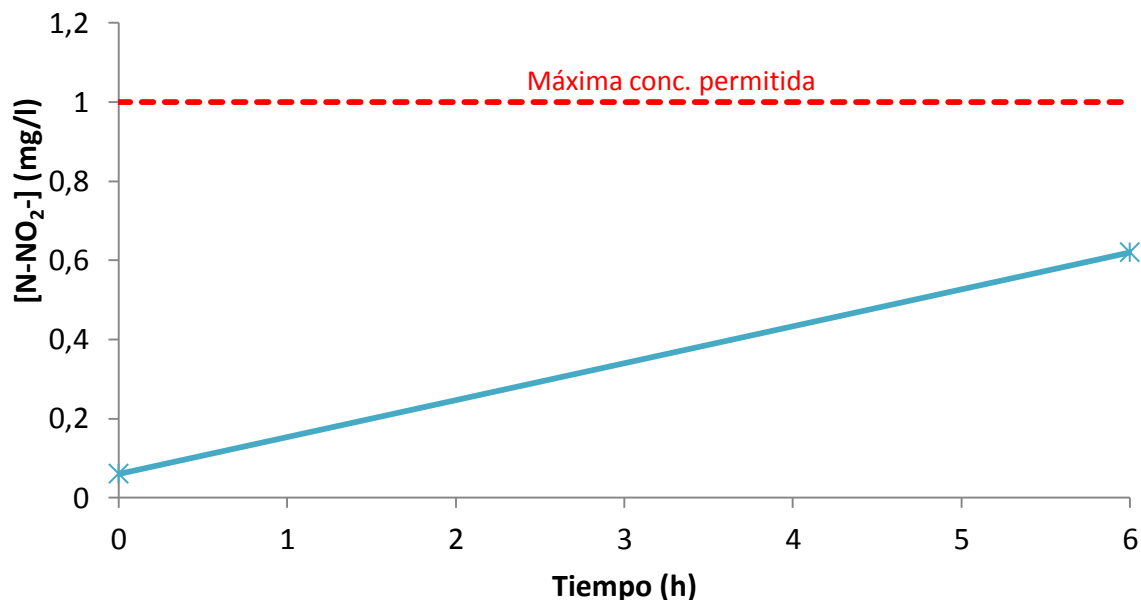


Figura 12. Cambios de concentración del NO_2^- durante la fotocatalisis a pH 9 y 1 g TiO_2/l .

Los valores importantes para evaluar el aumento de NO_2^- y NO_3^- fueron los iniciales y los finales. Los valores intermedios de estos dos compuestos no fueron relevantes para la presente investigación, ya que por estudios previos con el mismo catalizador, se reportan aumentos casi lineales tal como se muestra en la Figura 13.

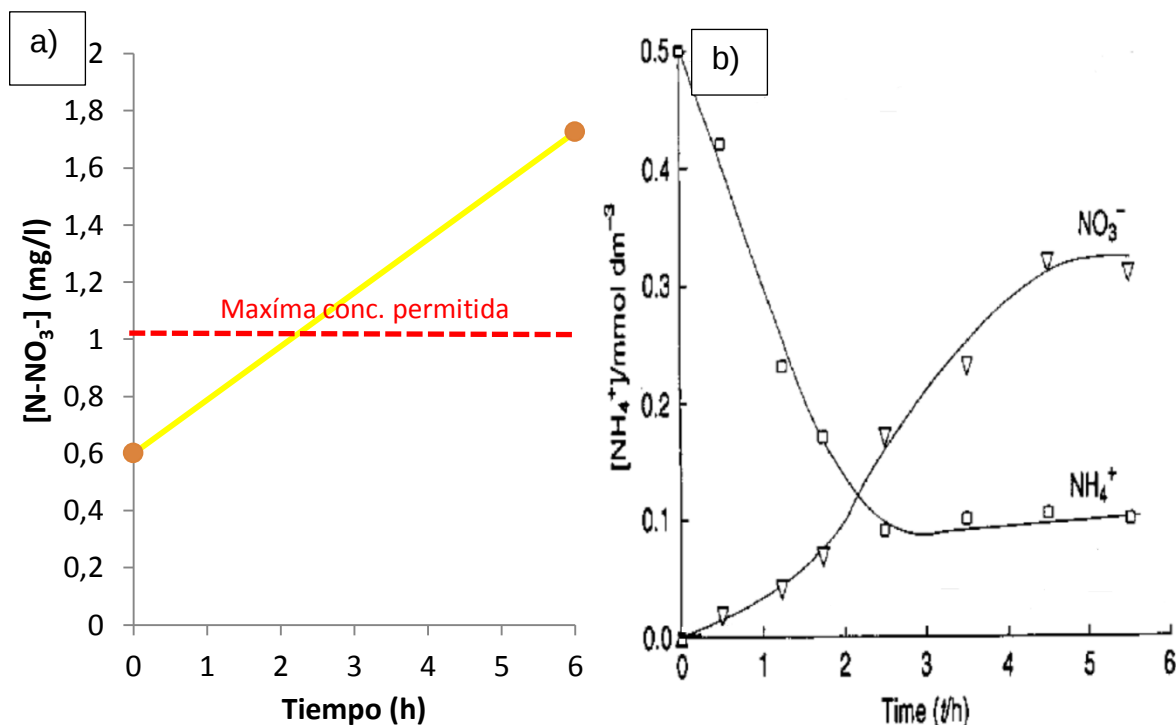


Figura 13. Cambios de concentración del NO_3^- durante la fotocatalisis: a) en el presente estudio a pH 9 y 1 g TiO_2/l . b) del NO_3^- reportado en la literatura a pH 10 y 2g TiO_2/l . (tomado de Bravo et al., 1993).

3.1.2 Efecto del pH y la concentración de catalizador en la fotooxidación de NH_4^+ y MO-N. La Figura 14 muestra los resultados del porcentaje de conversión del NH_4^+ y sus interpolaciones. En esta se encontró que hay conversiones negativas a concentraciones de catalizador bajas (<1 g TiO_2/l) y pH de 8 y 10, en estas condiciones, se estaría formando el NH_4^+ . La conversión fue positiva para concentraciones altas de catalizador y pH 9 ó 10.6. La mejor conversión de NH_4^+ fue de 84 %, cuando el agua marina tenía un pH inicial de 9 y una concentración

de catalizador de 2 g TiO_2/l , la menor conversión de NH_4^+ se obtuvo cuando el pH era 10 y había 0.05 de TiO_2/l .

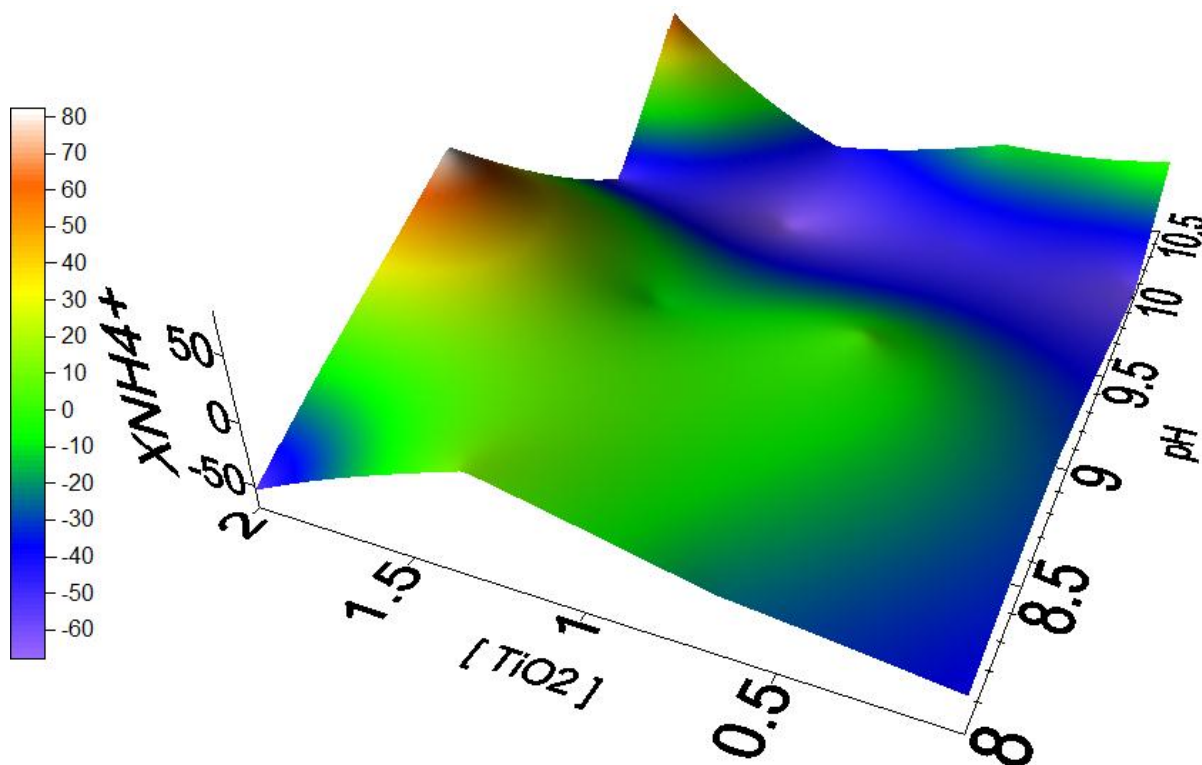


Figura 14. Porcentaje de conversión del NH_4^+ (colores) para las distintas concentraciones de catalizador y pH. Los colores rojo y blanco representan eliminación de NH_4^+ y el azul su formación.

Al realizar un “ANOVA factorial 4^2 con replicas en el punto central”, se encontró que tanto el efecto del pH con un $f_0=41.5$, como el de la concentración de catalizador con un $f_0=15.6$, eran significativos en cuanto al cambio de concentración del NH_4^+ , esto debido a que tenían un $f_0 > f_c$, puesto que el f_c era igual a 9.28.

Al correlacionar la conversión promedio de NH_4^+ con la concentración de catalizador, se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.85, por lo tanto hay una relación directa fuerte; a mayor concentración de catalizador hay una mayor

disminución de la concentración de NH_4^+ . En cambio al correlacionar el pH con la conversión promedio, se obtuvo un coeficiente de correlación <0.1 , por consiguiente, se encontró que no hay relación directa o inversa entre estos. En definitiva sobre el cambio de concentración del NH_4^+ hay un efecto directo y significativo de la concentración de catalizador, también se evidencia un efecto significativo del pH, pero no una correlación.

El amonio puede degradarse por vía NH_4^+ (según Bravo et al., 1993) o por vía NH_3 (según Murgia et al., 2005), pero con una mayor efectividad para la vía NH_4^+ , debido a la atracción electrostática, ésta se da entre el catalizador y el NH_4^+ ya que poseen cargas distintas. Todos los valores de pH estuvieron por encima del punto cero de carga del TiO_2 , entonces la carga de la superficie de catalizador fue negativa (Bravo et al., 1993). Entre mayor es el pH, mayor es la carga negativa de la superficie, lo que favorece la atracción electrostática del NH_4^+ , lo cual explica el aumento de degradación entre los valores de pH 8-9.

Hay que tener en cuenta que el Pka (pH en que la fracción no ionizada y ionizada corresponde al 50% de cada una) del amonio es 9.25. A valores de pH por debajo 9.25, el amonio predomina en la forma ionizada (NH_4^+). En un pH superior a este valor, la disociación del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ se desplaza hacia el NH_3 , la fracción del NH_4^+ es mucho menor y se pierde la atracción electrostática que se generaba en la superficie por este compuesto.

Por debajo de pH 9, no hay una fuerza electrostática suficiente que lo ayude a reaccionar. En el pH 9 hay mayor fuerza electrostática que le permite aprovechar mejor la ruta de degradación por NH_4^+ (Bravo et al., 1993), además en este pH, el amonio también aprovecha la ruta NH_3 . En el pH 9, se alcanzan los mejores resultados, con una gran efectividad de degradación.

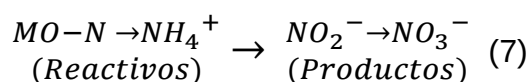
Para los valores entre pH 9 y 10, se observó una disminución de la degradación de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, porque solo se estaba usando la ruta de fotooxidación del NH_3 , la cual se caracteriza por ser más lenta, porque se recorre una distancia hasta la superficie, sin aceleración electrostática. En el pH 10, no se utilizan las dos rutas de degradación, sino solo una nuevamente.

Entre los pH 10 y 10.6, hay un nuevo aumento de degradación, esto es debido a que el NO_2^- y el NO_3^- que son los productos, tienen carga negativa al igual que el catalizador, entonces son repelidas más fácilmente de la superficie y la superficie queda desocupada para seguir oxidando otras moléculas de NH_3 que no han reaccionado. En estas condiciones no se alcanzan valores tan altos como los encontrados a pH 9, además a valores tan altos de pH, aumenta la diferencia entre los valores óptimos de pH cultivo (7-8), así como los del agua de tratamiento, volviendo más compleja la implementación en los cultivos acuícolas marinos.

En el presente estudio con agua marina, se obtuvo una degradación del NH_4^+ de 84%, esta es superior al 70% obtenido en 6 horas, con pH 10 y 0.05 g TiO_2/l por Bonsen et al., (1997), al 53% obtenido con pH 10 y 5.9×10^{-4} M NH_4/NH_3 de concentración inicial por Hsin-Hung et al., (2008) y al 45.46% de degradación con pH 12 que obtuvieron Gómez et al., (2007).

Estos tres autores realizaron la fotooxidación con el mismo catalizador, también en valores de pH altos, pero en agua dulce, con soluciones preparadas y por largo tiempo. Por el contrario esta investigación se llevó a cabo en agua marina, en la mitad de tiempo (3h) y se encontraron mejores resultados en el porcentaje de degradación, por lo tanto se evidencia una mayor velocidad y eficiencia en la fotocátalisis para el agua marina. Esto puede ser explicado por la mayor presencia de electrolitos en el agua marina, donde hay una mayor presencia de iones por las sales disueltas (Kropp et al., 2009).

Para evaluar la conversión global de MO-N y NH_4^+ juntos, fue necesario emplear una conversión normalizada entre 0 y 100, esto debido a que no se conocía el valor inicial de la MO-N. La evaluación de esta conversión global se determinó gracias a la relación uno a uno entre las formas oxidadas de los compuestos nitrogenado (Véase ecuaciones 2, 3 y 4). Además se reunieron las especies, en dos subgrupos (Véase ecuación 7), el subgrupo de los “reactivos” (MO-N y NH_4^+) y el subgrupo de los “productos” (NO_2^- y NO_3^-), entonces se cuantifico el número de moles formadas por los “productos”(ecuación 8) y se asumió que esta generación de moles era debida a la reacción de igual cantidad de moles en los “reactivos”, entonces se pudo conocer el número de moles de NH_4^+ y MO-N que reaccionaron juntas.



Los productos son la suma de NO_2^- y NO_3^- y los reactivos la suma de MO-N y NH_4^+ .

Finalmente se supuso, que la oxidación fue completa en las condiciones de operación donde hubo una concentración final mayor de NO_2^- y NO_3^- , dado como “Productos que reaccionaron” (ecuación 9), es decir, que la reacción global alcanzo su valor máximo según los datos obtenidos: a pH 9 y 2g TiO_2/l . En esta condición se alcanzó la mejor conversión global, por lo tanto con este “valor máximo de Productos finales”, se conoció el valor hipotético de 100% de conversión, correspondiente al número máximo de moles que reaccionaron (η máxima hipotética).

$$\text{Productos Finales} - \text{Productos iniciales} = \text{Productos que reaccionaron} \quad (8)$$

Los “Productos finales” se obtienen al sumar el NO_2^- inicial y el NO_3^- inicial, los “Productos finales” se obtienen sumando el NO_2^- final con el NO_3^- final. El valor molar de los “Productos que reaccionaron” en las mejores condiciones, se tuvo en

cuenta para el cálculo el $n_{\text{máxima hipotética}}$ (ecuación 9), este valor revela las moles máximas en los reactivos, bajo la suposición que reacción todo.

$$n_{\text{maxima hipotetica}} = \text{Productos que reaccionaron}_{\text{pH } 9,2 \text{ g } \frac{\text{TiO}_2}{\text{l}}} \quad (9)$$

$$= \text{MO} - N_{\text{inicial}} + \text{NH}_4^+_{\text{inicial}}$$

Finalmente, para calcular la conversión global en todas las condiciones se utilizó el $n_{\text{máxima hipotética}}$ y se evaluó la degradación de la MO-N y el NH_4^+ a través de la X_{global} :

$$X_{\text{global}} = \frac{\text{Productos que reaccionaron}_{\text{para cada condicion}}}{n_{\text{máxima hipotética}}} \times 100 \quad (10)$$

Al analizar la conversión global en la Figura 15, se encontró que con la concentración más baja de catalizador no hay una conversión significativa, pero con concentraciones superiores a 0.05 g TiO_2/l , se logran degradaciones superiores al 40%. La mejor conversión se encontró al igual que la conversión de NH_4^+ a pH 9 y 2 g TiO_2/l .

Al comparar la conversión global (Figura 14), con la de conversión individual de NH_4^+ (Figura 15), se observó que los mejores resultados se obtienen bajo las mismas condiciones. En la conversión global hay resultados más uniformes entre valores intermedios de pH, la superficie de respuesta se comporta como una meseta (Figura 15), en cambio en la conversión de NH_4^+ , se crean valles entre picos pronunciados a pH 10 (Figura 14). Esto muestra que a pH 10 hay una limitación para la degradación completa a NO_2^- y NO_3^- , produciéndose un “estancamiento” de la reacción en NH_4^+ .

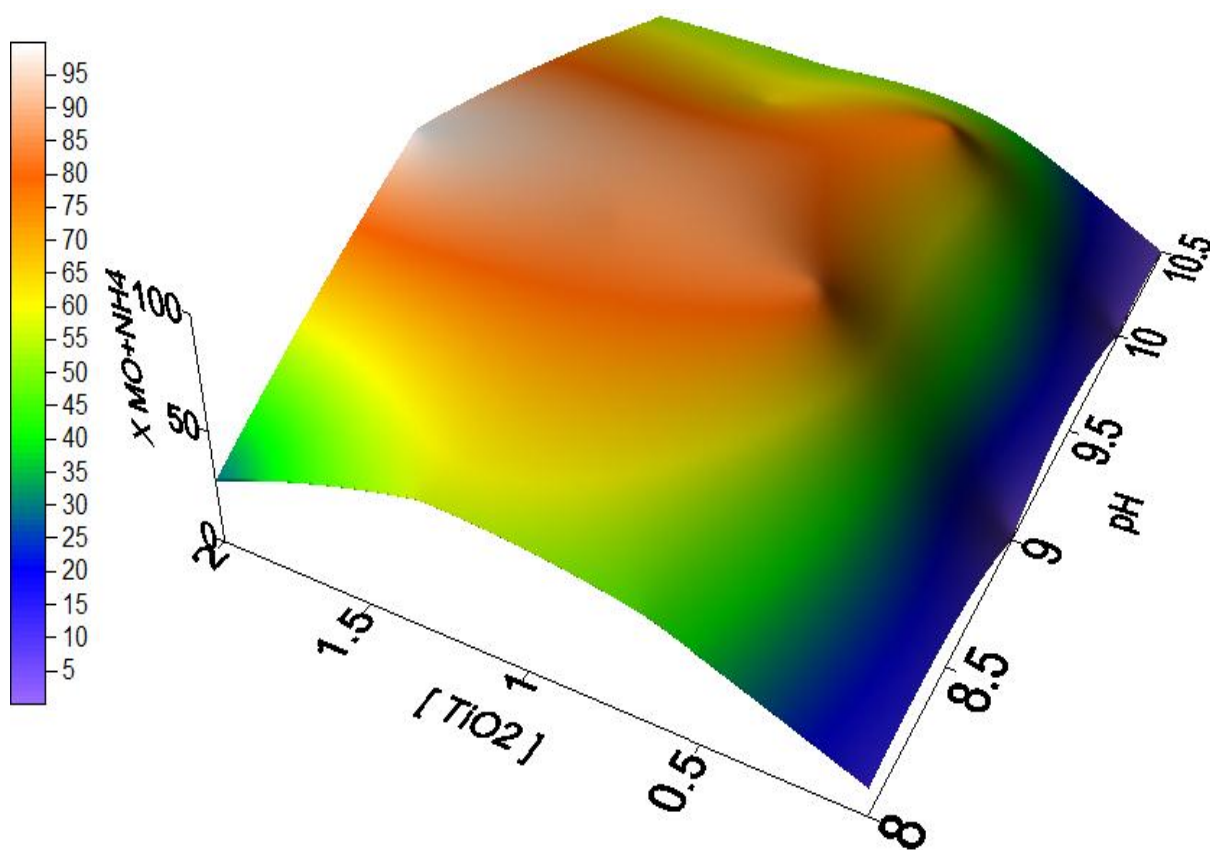


Figura 15. Porcentaje de conversión global de MO-N y NH_4^+ (colores), para las distintas concentraciones de catalizador y pH. El color blanco indica la máxima eliminación de MO-N y NH_4^+ , el morado la mínima eliminación.

Al correlacionar las variables con la conversión global de la MO-N y NH_4^+ ; se obtuvo una relación directa entre la conversión global y la concentración de catalizador con un coeficiente de correlación de 0.6, es decir que a mayor concentración de catalizador, mayor es la conversión global. Por otro lado, hay una relación inversa débil entre la conversión global y el pH con un coeficiente de correlación de -0.25, es decir que a mayor pH, se disminuye un poco la conversión global.

3.1.3 Velocidad de formación del amonio y conversión de nitratos.

Conociendo que entre la primera y segunda hora se produce la mayor cantidad de NH_4^+ (gracias a las pruebas preliminares), se realizó una determinación de las

moles de NH_4^+ formadas para los 90 min y se calcularon las moles formadas de NH_4^+ /hora (Figura 16). El patrón encontrado mostró una relación directa entre la velocidad con los valores de pH y de concentración de catalizador, es decir que a mayor pH y concentración de catalizador; hay una mayor velocidad de formación del NH_4^+ .

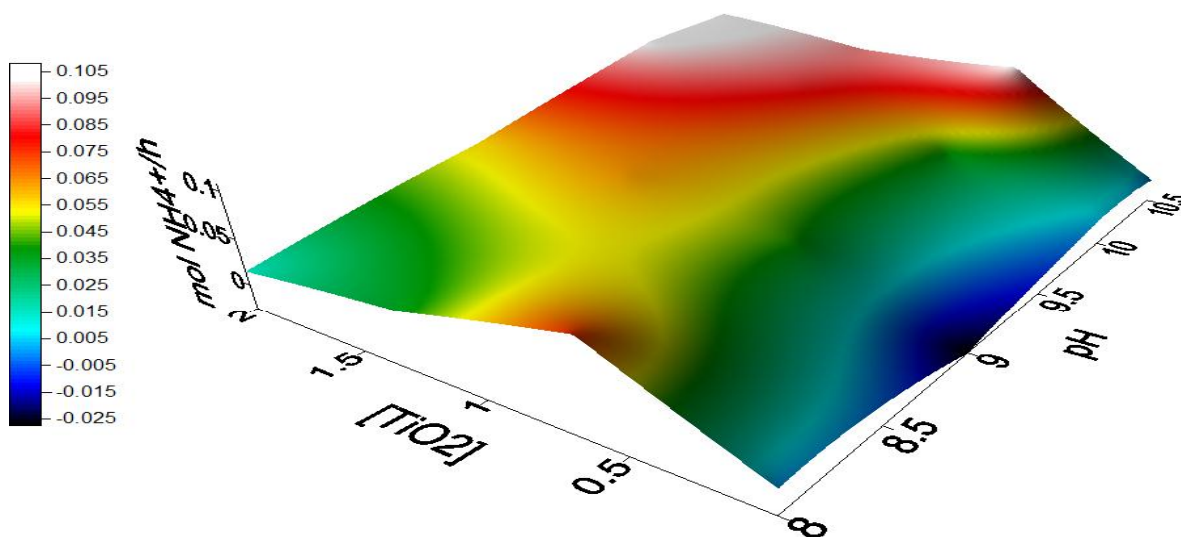


Figura 16. Velocidad de formación de NH_4^+ en moles/h (colores), para las distintas concentraciones de catalizador y pH.

Para complementar el análisis de la fotooxidación del NH_4^+ con el tratamiento fotocatalítico, se estudiaron las variaciones de la concentración de NO_2^- y NO_3^- , encontrándose que hay únicamente un aumento en el NO_2^- y un aumento o descenso con el NO_3^- (Figura 17). Al contrario de la degradación del NH_4^+ , que mostro mejor fotooxidación a concentraciones altas de catalizador (2 g TiO_2/l), se encontraron los mejores resultados para la degradación del NO_3^- con las concentraciones bajas de catalizador (0.05 g TiO_2/l),

La conversión positiva del NO_3^- es máxima para un pH de 10 y una concentración de 0.05 g TiO_2/l , donde se logró una conversión de 42.1%. Lee et al., (2002) encontraron que es posible degradar el NH_3 hasta N_2 (con NO_3^- como intermediario en la reacción), aunque ellos lograron esta degradación completa

solo con el TiO_2 dopado con platino y no con el TiO_2 . En cambio según el presente estudio es posible lograr una degradación del NO_3^- , lo que indica que este no es el producto final, si no que el producto final podría ser el N_2 o N_2O , pero no se pudo determinar directamente ya que no era el objetivo directo de este estudio, sino que es un resultado adicional. La reducción en la concentración de NO_3^- es importante porque no se han reportado rutas de degradación del NH_4^+ hasta N_2 con TiO_2 , si no que las rutas reportadas hasta ahora tenían como producto final el NO_2^- o NO_3^- (Lee et al., 2002).

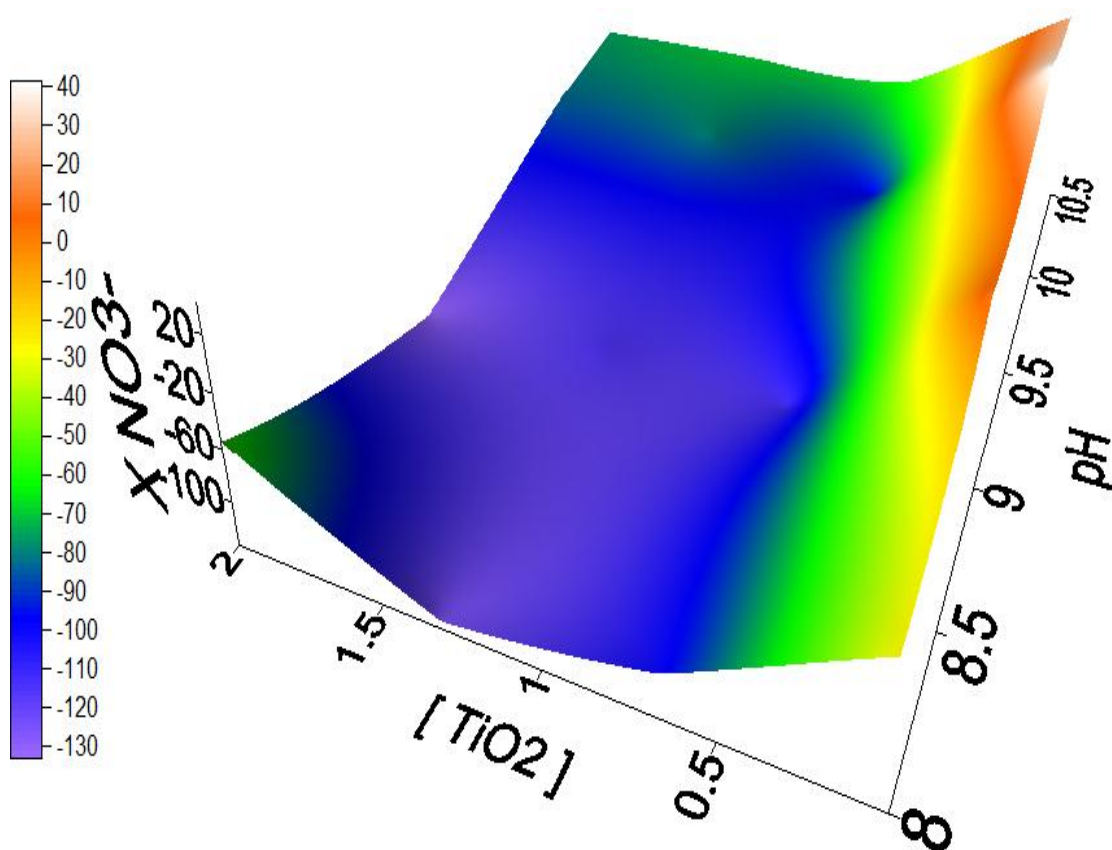


Figura 17. Conversión de NO_3^- (colores) para las distintas concentraciones de catalizador y pH. El color rojo indica degradación de NO_3^- y el azul su formación.

Este resultado adicional es favorable en cuanto a que se podría implementar la reducción de NH_4^+ y de NO_3^- en etapas sucesivas, donde primero se degrade la MO-N y el NH_4^+ con concentraciones altas de catalizador y en una segunda etapa

se bajen las concentraciones de catalizador para que se elimine el NO_3^- formado en la primera etapa y así se alcanzaría una eliminación completa los compuestos nitrogenados.

Finalmente se analizó la interacción de todas las variables respuesta en la Figura 18, para las mejores condiciones, en esta se muestra el cambio de concentración de los compuestos nitrogenados inorgánicos con el tiempo. Los cambios concentraciones, se explican en el orden en que se degradan los compuestos; en primer lugar se obtuvo una degradación de la MO-N, esta se evidencio por el aumento final de los compuestos nitrogenados inorgánicos totales ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) y también por el aumento de NH_4^+ en los primeros 90 minutos. En segundo lugar se obtuvo una disminución de la concentración de NH_4^+ , que se evidencio entre los 90 hasta los 180 minutos, esta se dio por la formación de NO_2^- como producto de la oxidación del NH_4^+ , pero el NO_2^- aumentó muy poco su concentración, lo que indica que este no se acumula demasiado y que es poco estable. En tercer lugar se dio la oxidación del NH_4^+ hasta NO_3^- , en este último compuesto si se observa un mayor acumulamiento, pero este no es desfavorable porque es el menos tóxico de los compuestos nitrogenados.

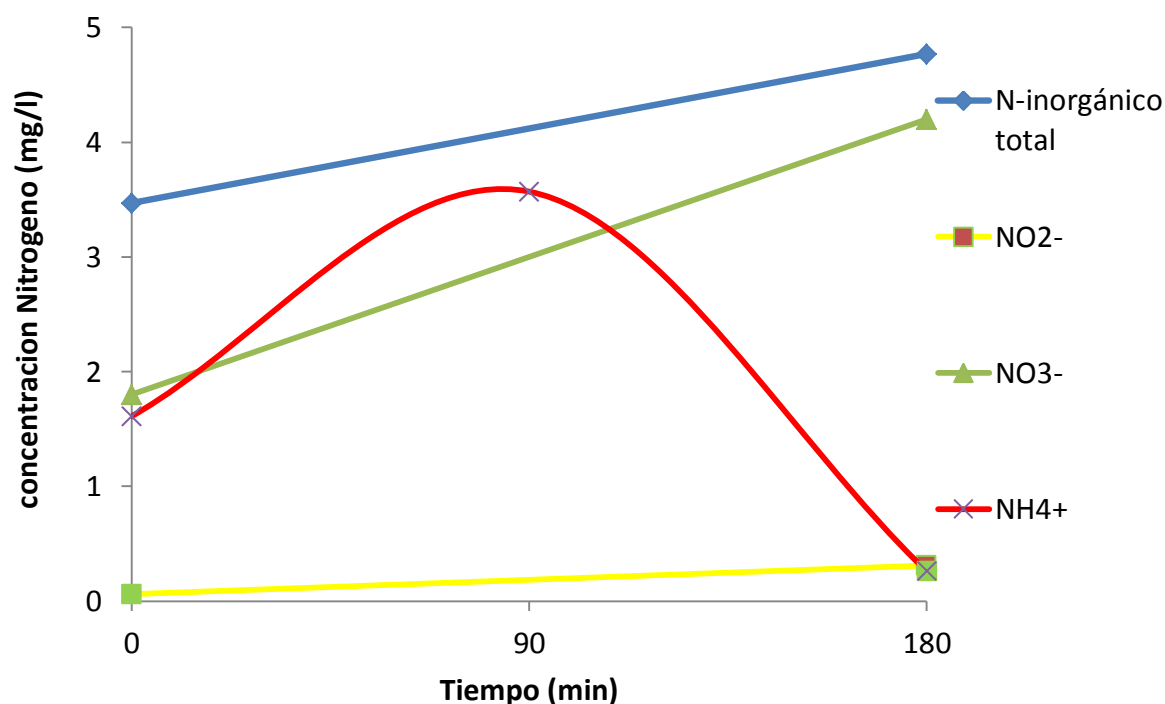


Figura 18. Concentración de los compuestos nitrogenados inorgánicos durante la fotocátalisis, pH=9, [TiO₂]= 2 g/l.

3.1.4 Variación del pH y la salinidad durante la fotocátalisis del agua marina

Los cambios promedio en la salinidad y el pH finales, son mostrados en la Figura 19. En general no cambió considerablemente en la salinidad final, todas las soluciones partieron de una salinidad inicial de 16 UPS y terminaron sus promedios entre 15.9 y 16.5 UPS. Para las condiciones de pH 9 solo aumentó 0.3 UPS, por lo tanto no hay necesidad de aumentar o disminuir la salinidad, antes de regresar el agua fotooxidada al cultivo. En cuanto al comportamiento del pH, todas las soluciones empezaron a pH distintos y se observó una convergencia entre 8.2 y 8.9. En general el pH de las soluciones disminuyó, según Bravo et al., (1993) esto es debido a que las soluciones están por encima del punto de carga cero, lo que provoca que la superficie de catalizador tenga carga negativa. La solución a pH 9 también disminuyó de pH, lo que favorece el proceso, porque se acerca más a los valores de pH manejados en cultivo (8-7). Entonces como se decidió trabajar

a pH 9 para fotocatalizar el agua de cultivo, el pH tuvo que disminuirse nuevamente hasta el pH de cultivo.

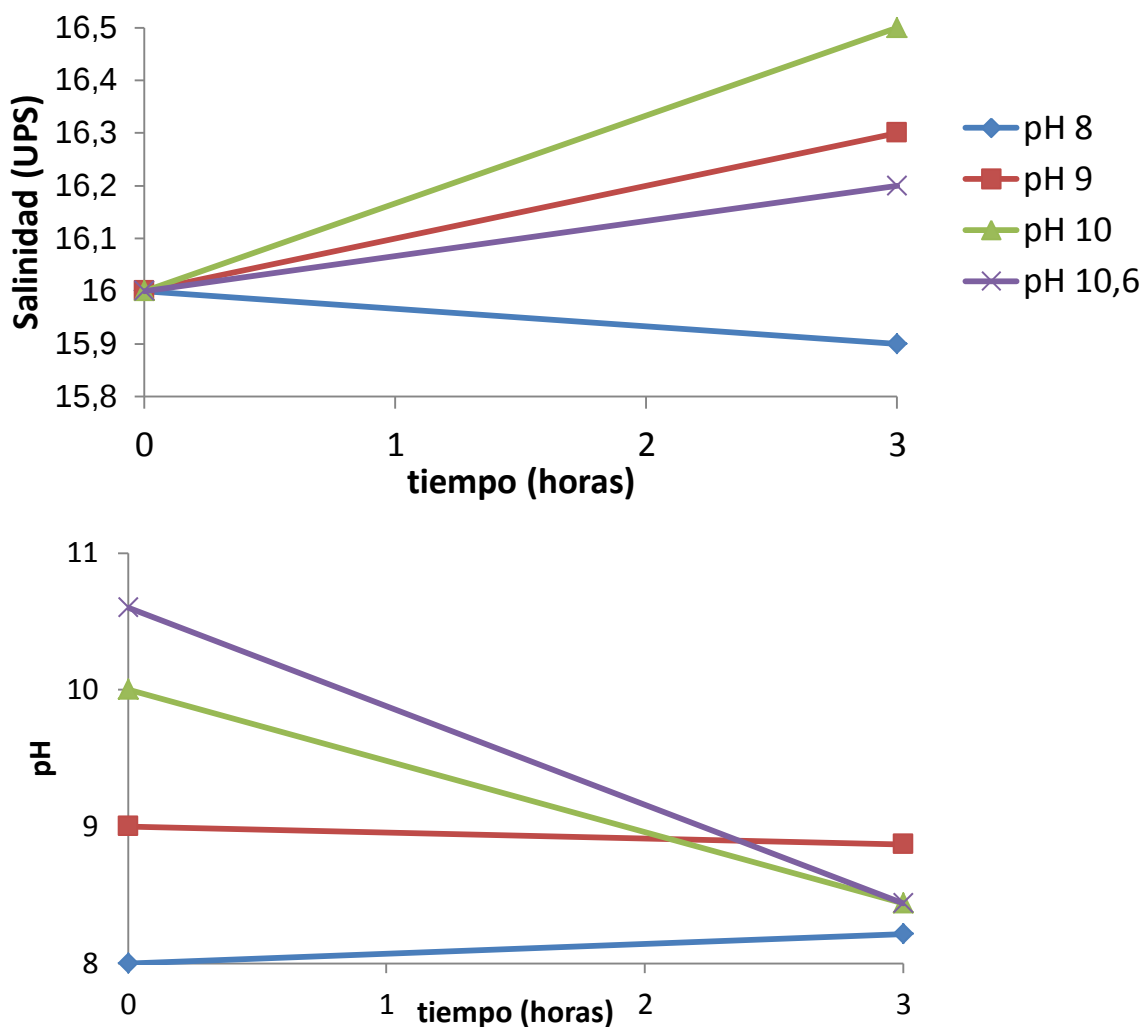


Figura 19. Cambios promedio de salinidad (superior) y pH (inferior), durante la fotocatalisis para los distintos pH iniciales con el pH final promediado tomando como replicas cada concentración de catalizador.

3.2 ENSAYO DE CULTIVO

3.2.1 Aclimatación El periodo de aclimatación se caracterizó por la proliferación de algas en varios de los acuarios, lo cual fue corregido con el oscurecimiento

parcial del sitio de cultivo. Las tallas iniciales no eran muy uniformes, por lo cual fue necesario separar los camarones que no habían crecido, tanto como los demás.

3.2.2 Efecto de los tratamientos en la supervivencia Los datos de supervivencia de las tres réplicas de cada tratamiento fueron promediados y graficados en la Figura 20, allí se evidenció un descenso constante en la población para la primera semana, pero después de aplicar el tratamiento fotocatalítico al final de la primera semana, cambio el patrón de descenso en la supervivencia para el tratamiento con fotocátalisis. Encontrándose que a partir de allí se estabilizó la supervivencia, la cual se mantuvo durante todo el ensayo, obteniendo al final de la prueba, la mayor supervivencia con un valor de 31.7% en el tratamiento fotocatalítico. Por otro lado, en los otros dos tratamientos hubo un descenso permanente de la población hasta la semana 3, y al final del ensayo la supervivencia era del 11.6 y 8.7 % para los tratamientos con filtro biológico y de recambio respectivamente.

El análisis estadístico de los datos de supervivencia, se realizó con una “ANOVA simple factorial con muestras repetidas”, en este se encontró un valor de p de 0.026, como este valor es menor a 0.05 (significancia), entonces si hay una diferencia significativa entre los tratamientos. Con la prueba anterior se conoció que había diferencias entre los tratamientos, pero no especificaba entre cuáles de ellos hay diferencia. Al realizar una prueba postANOVA de Fisher, para verificar entre cuales de los tratamientos había diferencias, se encontró que hay una diferencia significativa entre el sistema de recambio y el de fotocátalisis, para todas las semanas, con un p de 0,009 ($p < 0.05$).

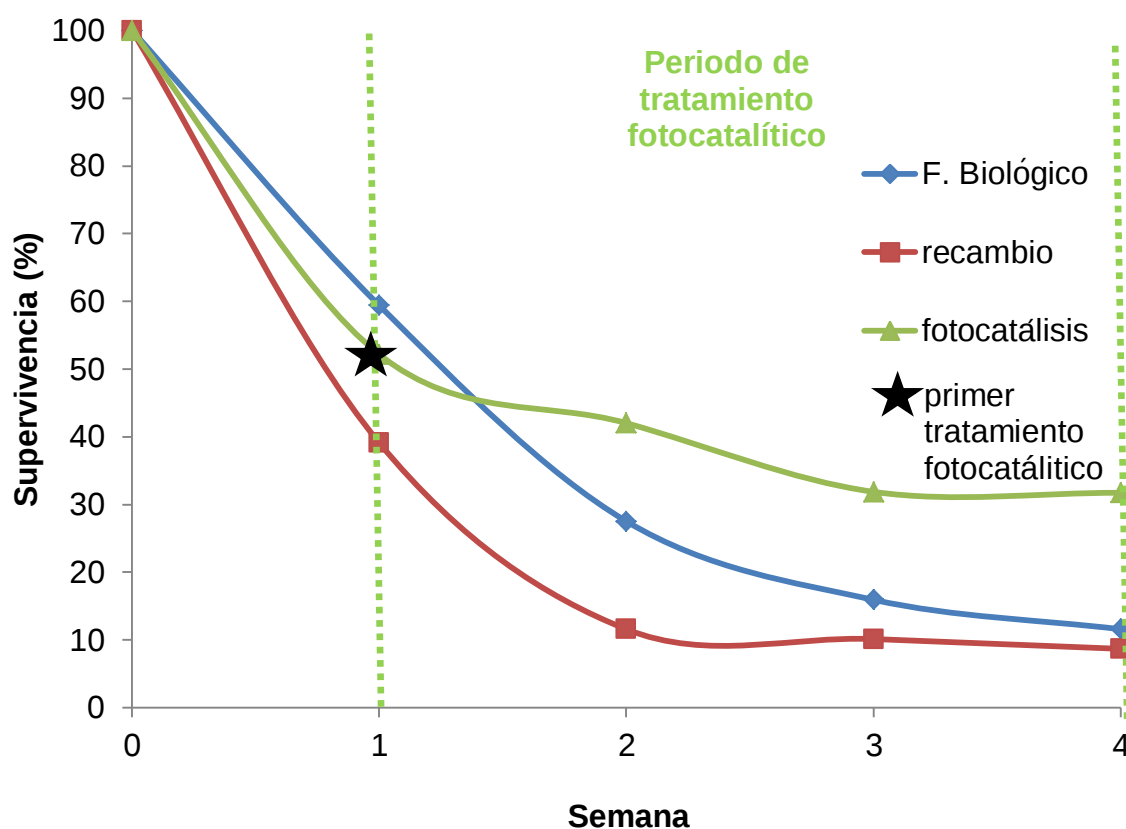


Figura 20. Supervivencia promedio para cada tratamiento durante el ensayo de cultivo.

Se evaluó con la prueba de Fisher el efecto del tiempo, comparando la interacción entre cada tratamiento y las semanas, en dicho análisis se encontró que para la semana 4, hay diferencia entre el tratamiento fotocatalítico y el de filtración biológica ($p = 0.018 < 0.05$). Esto indica que el tratamiento fotocatalítico es mejor que el tratamiento biológico, solo en el largo plazo. Por lo tanto el tratamiento fotocatalítico tiene un efecto positivo en la supervivencia desde un corto plazo si se compara con el sistema de recambio, y a largo plazo si se compara con el de filtración biológica.

Liu & Chen, (2004) estudiaron la mortalidad en camarones, causada por una bacteria del genero *Vibrio*, cuando hay NH_3 en el agua, ellos encontraron que si se

agrega esta bacteria al agua, y en esta agua hay concentraciones de 0.01 y 1.1 mg N-NH₃/l, se obtiene una mortalidad de 46.7 y 60.0% respectivamente. Las bacterias del genero *Vibrio* son patógenos que causan cólera y vibriosis. En el presente estudio hubo presencia de *Vibrio* sp, y de NH₃, entonces hay una alta posibilidad de que los individuos estaban bajo esta susceptibilidad y por esto se presentaron supervivencias solo del 50% para la primer semana.

La pérdida de supervivencia a causa de las bacterias del genero *Vibrio* sp. Influye en mayor medida en los tratamientos de recambio y filtro biológico, donde no había un efecto esterilizador, por lo tanto debía haber una población mayor de colonias de *Vibrio* sp. Este hecho puede explicar la mayor pérdida de supervivencia en los tratamientos no fotocatalíticos. Para el momento en que se aplicó el primer proceso de fotocátalisis, ya había descendido considerablemente la población hasta la mitad en todos los tratamientos, después de la fotocátalisis se evidencia el efecto de la fotocátalisis, porque cambia la pendiente y deja de descender la supervivencia. Esta pérdida de supervivencia para la primera semana en el tratamiento fotocatalítico, es explicada por la ausencia del tratamiento fotocatalítico en la semana 0. El tratamiento fotocatalítico no se aplicó desde la semana 0, por que la concentración de NH₄⁺ en este momento, era muy baja y el sistema necesitaba que se acumulara NH₄⁺ para poder degradarlo. El efecto en la supervivencia de los tratamientos se relaciona en los siguientes ítems con otros parámetros muy importantes para el cultivo.

3.2.3 Efecto de los tratamientos en el crecimiento, FCA y la biomasa Los crecimientos, reflejados en el peso promedio de cada tratamientos son mostrados en la Figura 21. El tratamiento con fotocátalisis obtuvo el crecimiento más uniforme (la constante de ajuste era de 0.99 para la linealización), en cambio para el tratamiento con filtro biológico, no hubo una uniformidad en el crecimiento, al principio creció poco y después de la semana 3 aumento el crecimiento. Al final del ensayo, el sistema de recambio tuvo el peso promedio más alto, con 2.67 g, seguido por el de F. biológico con 2.54 g y el más bajo fue el de fotocátalisis con

2.47 g. Todos los pesos promedio estuvieron relativamente cercanos, solo hubo 0.2 g de diferencia entre el valor final mayor y menor.

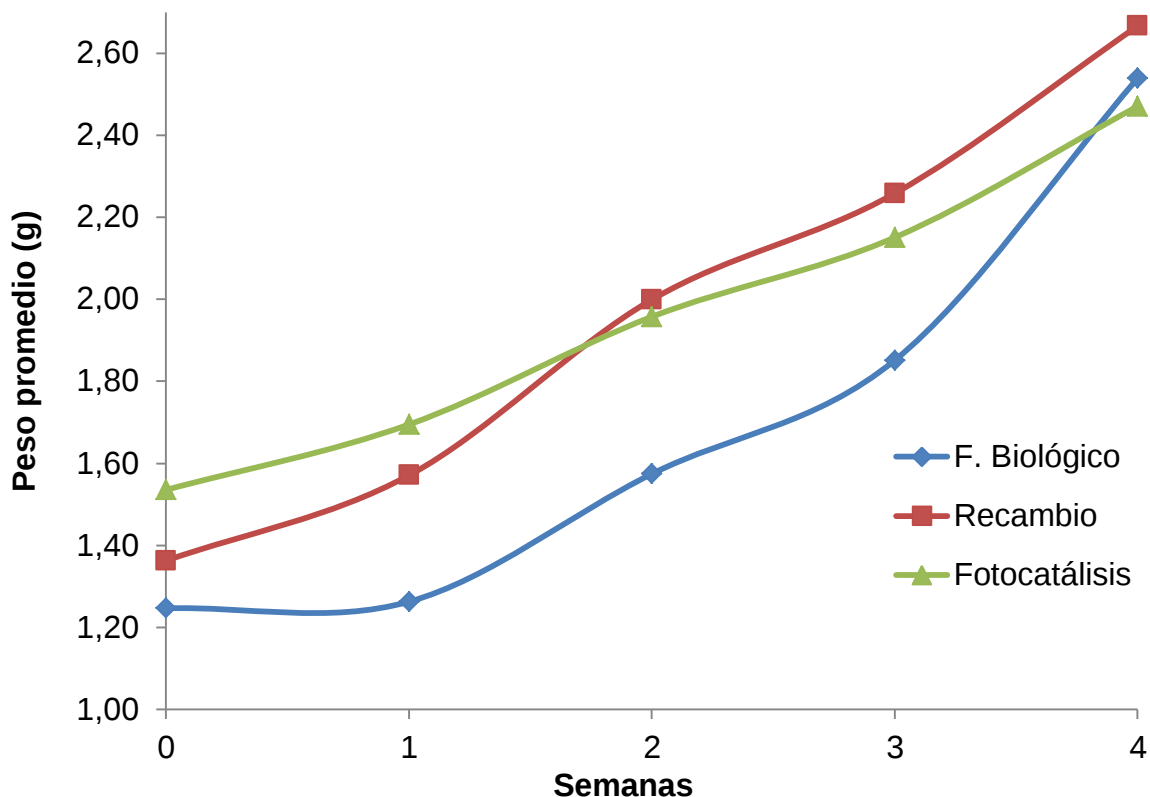


Figura 21. Peso promedio de los camarones para cada tratamiento durante el ensayo de cultivo.

El crecimiento es un reflejo de la cantidad de alimento ingerido, del apetito y de las condiciones de estrés. El porcentaje de alimento suministrado era el mismo para los camarones en los distintos tratamientos, pero el apetito y el estrés hacia que variara el crecimiento en los tratamientos de filtración biológica y de recambio. En este último se observa que después de la semana 1, cuando se agregó el “agua nueva” aumento el crecimiento debido al aumento de apetito por la disminución de la concentración del NH_4^+ (Rodrigues et al., 2007). En la filtración biológica había inicialmente más individuos, esto causa un mayor estrés y por consiguiente, hay un menor crecimiento en las primeras semanas. La mayor uniformidad en el

crecimiento fotocatalítico fue causado por unas condiciones de calidad de agua más estables, por usar un procedimiento preestablecido fijo y a una baja concentración del NH_4^+ que no varió el apetito. En cuanto a los valores finales de peso, es posible que hubiera habido una disponibilidad de alimento mayor en los tratamientos con la supervivencia más baja, esto debido a que hay menos competencia y menor estrés por ser la población menos numerosa.

El FCA para las cuatro semanas, tuvo un valor de 1.7, 2.0 y 2.8 para el tratamiento con F. biológica, recambio y fotocátalisis respectivamente. Lo que muestra que los individuos con F. biológica y con recambio necesitan menos alimento para aumentar el peso. Los valores desfavorables en cuanto al FCA y el crecimiento para el tratamiento con fotocátalisis son un reflejo del mayor estrés en que se encontraban los individuos, ya que al haber una mayor supervivencia, hay una mayor densidad de individuos, que provoca un aparente menor rendimiento de cultivo. Este menor rendimiento solo es aparente, porque la biomasa y la supervivencia es mayor, entonces lo que hay que considerar, es realizar tratamientos fotocatalíticos pero con densidades más bajas de individuos

La biomasa promedio en el tiempo es mostrada en la Figura 22. Esta variable presentó un valor mayor en el tratamiento con fotocátalisis. La biomasa se estabilizó tras realizar la fotocátalisis en la primera semana, luego se mantuvo alta hasta el final del ensayo. Esto indicó que con el tratamiento fotocatalítico se obtiene el mayor peso total de biomasa, por lo cual si es eficiente el tratamiento, ya que lo que se comercializa es el peso total.

La comparación estadística de la biomasa, entre los tres tratamientos, evidenció una diferencia significativa entre ellos ($p=0.0016$). Al analizar con una prueba de Fisher se encontró que el tratamiento fotocatalítico se diferencia con el de filtro biológico ($p=0.019$) y con el de recirculación ($p=0.007$). La interacción con las semanas, mostró que en la semana 0, no había diferencia significativa entre los tratamientos, por lo cual se puede afirmar que la biomasa inicial era uniforme y

que se partía de una biomasa que no era significativamente distinta. Además la interacción semana-tratamiento se diferenció a partir de la semana 2. Por lo tanto al aplicar el tratamiento fotocatalítico, se obtiene una mayor biomasa con diferencias significativas respecto a los otros dos tratamientos desde un corto plazo.

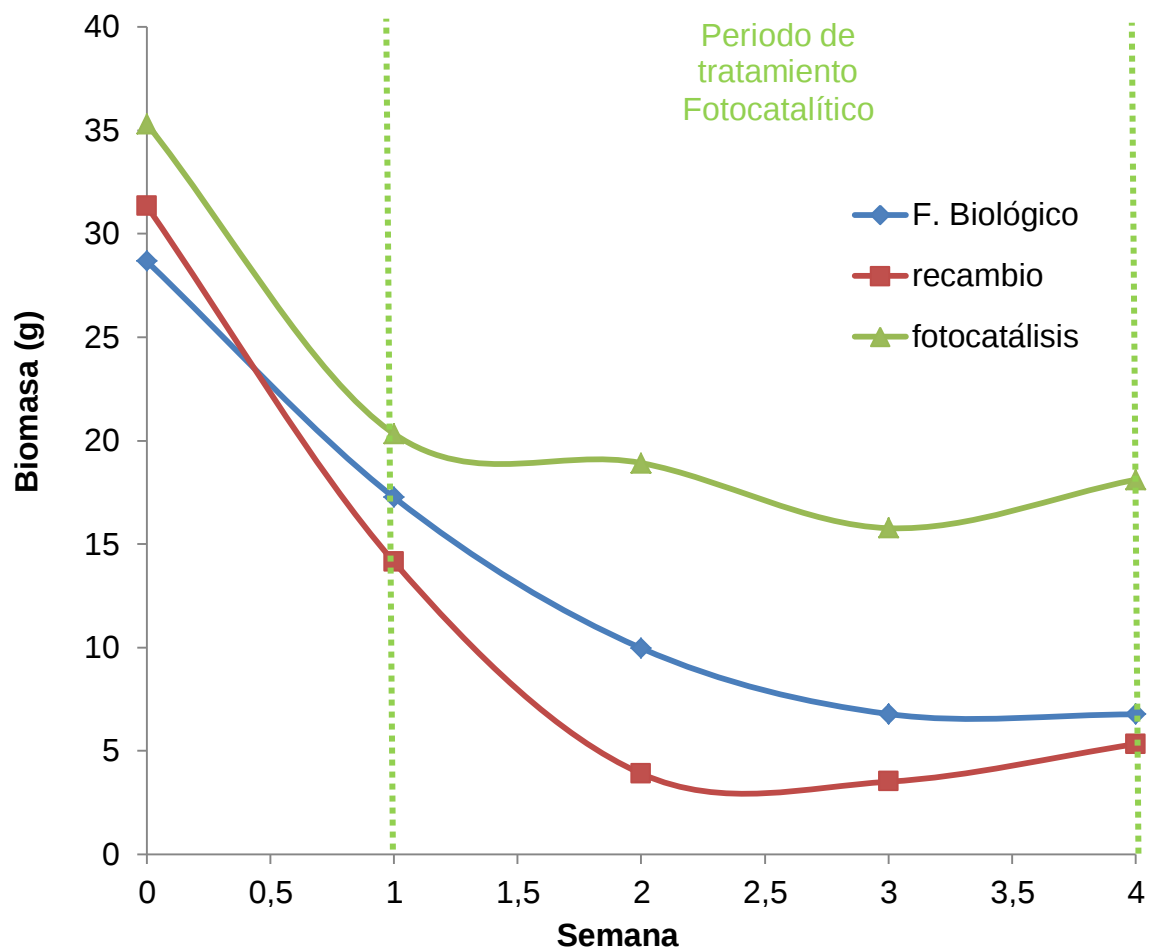


Figura 22. Biomasa promedio obtenida para los tratamientos durante el ensayo.

3.2.4 Ahorro de agua en el ensayo de cultivo La variable que se tuvo en cuenta para cuantificar la cantidad de agua ahorrada fue el NH_4^+ , esto debido a su importancia como parámetro. Los tratamientos que se tuvieron en cuenta fueron el de recambio y el de fotocátalisis, pero adicionalmente también se comparaba los valores de NH_4^+ con el de filtro biológico, comprobándose que el filtro biológico si es efectivo ya que el NH_4^+ promedio máximo, fue de solo 0.38 mg N- NH_4^+ /l ($\pm 0,23$) y nunca aumentó como en los otros dos tratamientos (Figura 23).

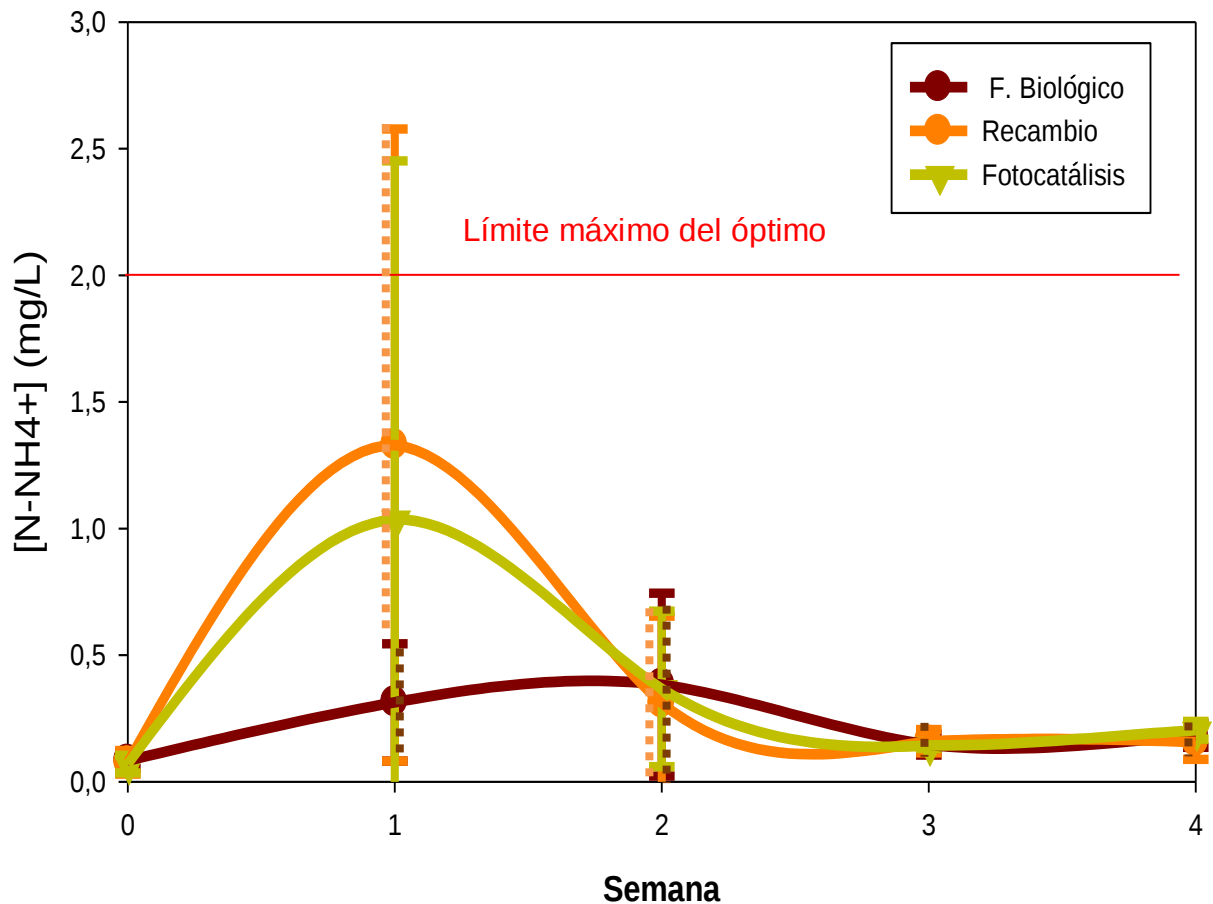


Figura 23. Variación del NH_4^+ para cada tratamiento durante el ensayo de cultivo, con 23 individuos por acuario.

En el seguimiento al NH_4^+ , se obtuvieron unas concentraciones iniciales promedio bajas, con baja varianza para todos los tratamientos, esto fue producto del recambio inicial con “agua nueva”. Pero para la primera semana en el tratamiento de recambio, había aumentado su valor promedio de NH_4^+ hasta 1.5 mg/l (± 1.21) y el de fotocátalisis era 1.04 mg/l (± 1.41), por lo cual se aplicó recambio en esta semana. El tratamiento de recambio tuvo valores bajos, después de la semana 1, no fue necesario más recambio, ya que la concentración de NH_4^+ no supero o igualo 1.5 mg N- NH_4^+ /l en las semanas 2, 3 y 4.

Para realizar el recambio de la primera semana, se realizó un balance de materia para el NH_4^+ promedio por tratamiento en esta semana, con este se cuantificó el agua necesaria, para diluir la concentración mayor en el tratamiento de recambio, hasta alcanzar la concentración menor del tratamiento con fotocátalisis. Las condiciones y restricciones para el balance, con el cual se calcula el agua de recambio, se muestra a continuación:

- NH_4^+ en el tratamiento con fotocátalisis (a esta concentración hay que llevar el agua del tratamiento de recambio) :

$$1.04 \text{ mg NH}_4^+/\text{l} * 15 \text{ l} = 15.6 \text{ mg NH}_4^+ \quad (5)$$

- NH_4^+ en el tratamiento con recambio (el que hay que diluir):

$$1.5 \text{ mg/l} * 15 \text{ l} = 22.5 \text{ mg NH}_4^+ \quad (6)$$

- Restricciones: el volumen de agua en el tratamiento de recambio más el “agua nueva” para diluir debe ser igual al volumen de agua en el cultivo (15 l).
- Para el tratamiento de recambio :

$$[\text{NH}_4^+]_{\text{final}} = 1.04 \text{ mg/l} \quad (7)$$

$$[\text{NH}_4^+]_{\text{H}_2\text{O} \text{ «nueva»}} = 0.05 \text{ mg/l} \quad (8)$$

- Incógnita: Volumen de agua nueva a suministrar para diluir.

Solucionando el balance, se obtuvo que se necesitaban 4.76 litros de «agua nueva», los cuales fueron introducidos en los acuarios, descartando previamente la misma cantidad de agua. Esta cantidad de agua es el ahorro parcial en agua

marina que equivale al 31.72 % de 15 l. Pero para obtener un dato más preciso; se evaluó también la pérdida de agua, por el tratamiento fotocatalítico que equivale a 0.5 (± 0.15) l y se le resta a los 4.76 l para obtener un ahorro neto del 30.4 %.

El ahorro de agua pudo haber sido mayor, si se hubiera presentado un aumento de NH_4^+ para las otras semanas, pero el sistema al ser pequeño, se estabilizó muy rápido en cuanto a las concentraciones de NH_4^+ y no se obtuvo aumentos posteriores como se esperaba. Esto pudo haber sido debido al bajo volumen de agua, donde las mismas bacterias nitrificantes no necesitaron como tal un sustrato poroso, si no que pudieron subsistir en la columna de agua y alcanzar a bajar las concentraciones de NH_4^+ . Por otro lado, también es muy posible que para las últimas semanas la cantidad de NH_4^+ producida en el tratamiento de recambio fue muy baja, debido al descenso en la población de individuos en este tratamiento. Entonces el tratamiento fotocatalítico no ayuda en el ahorro constante de agua, sino solo en las ocasiones en que la concentración de NH_4^+ es alta. Por lo tanto podría ser útil en el arranque de los sistemas cerrados

Para comparar el volumen de agua ahorrada, es necesario relacionar los valores obtenidos para llevarlos a unidad de volumen de agua marina sobre unidad de peso de biomasa. Después de este proceso, se obtuvo que hay valores bajos de $0.82 \text{ m}^3 / \text{kg}$ para el tratamiento fotocatalítico y de $3.9 \text{ m}^3 / \text{kg}$ para el de recambio de agua. Según Jiménez & Balcázar (2003) en los actuales sistemas de recirculación (ASR) se utilizan $2 \text{ m}^3/\text{kg}$, por lo tanto el sistema de fotocatálisis tiene un mayor ahorro de agua marina si se compara con los ASR. En general estos valores son bajos ya que los ensayos de cultivo se dieron en sistemas intensivos y al compararlos con los sistemas tradicionales (que son los que se usan en Colombia), se observa una gran diferencia ya que en estos últimos gastan de 40 a $80 \text{ m}^3/\text{kg}$ (Jiménez & Balcázar 2003). Esto denota la importancia del desarrollo de los sistemas de recirculación.

3.2.5 Disminución de nitritos y nitratos en cada tratamiento. Las concentraciones de NO_2^- y NO_3^- para las últimas semanas del ensayo de cultivo son mostradas en la Tabla 5. Las concentraciones más bajas de NO_3^- para la última semana fueron más bajas en el tratamiento de fotocátalisis. Las concentraciones más bajas de NO_2^- para la última semana, se encontraron en el tratamiento de recambio.

Al comparar estadísticamente las concentraciones de estos compuestos nitrogenados, no se encontró una diferencia significativa en cuantos a los tratamientos. Pero si se obtuvieron concentraciones altas que son alrededor de 10 veces mayores a lo recomendado. Esto puede estar explicando la mortalidad general a nivel de todos los tratamientos. Para las concentraciones de NO_2^- , se encontró que en la primera etapa no había una reducción significativa en su concentración, por lo cual sería prudente investigar acerca de las condiciones para la fotooxidación específica del NO_2^- a concentraciones altas.

Tabla 5. Concentraciones promedio para los nitritos y nitratos durante las semanas de cultivo.

Nitritos (N-mg/l)						
semana	Filtro Biológico		Recambio		Fotocatálisis	
	promedio	desviación	promedio	desviación	Promedio	desviación
4	17.75	5.42563	15.93	5.86522	13.50	6.30971
5	14.67	6.42910	8.83	1.87639	13.83	7.91491

Nitratos(N-mg/l)						
semana	Filtro Biológico		Recambio		Fotocatálisis	
	promedio	desviación	promedio	desviación	promedio	desviación
4	18.7667	3.87341	20.5667	11.81285	16.2333	8.08476
5	12.56	2.64363	10.74	7.89732	5.72	5.02776

3.2.6 Efecto esterilizador de la fotocatálisis y detección de la infección. La siembra de las tres diluciones de agua, proveniente de una réplica del tratamiento de fotocatálisis, presentaron una apreciable disminución en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) después del tratamiento fotocatalítico. En el agua que todavía no se trataba fotocatalíticamente, se encontraron 3×10^3 UFC. Posteriormente al tratamiento fotocatalítico de esta misma agua, se encontraron 93 UFC, por lo tanto las poblaciones bacterianas se redujeron alrededor de 30 veces. El mayor número de colonias de *Vibrio sp.* en el agua sin tratar fotocatalíticamente es mostrado en la Figura 24, donde esta especie tomo un color amarillo diferenciándose del medio de cultivo que era de color verde.

Este efecto germicida no es a causa de las lámparas UV usadas como fuente de fotones, ya que estas tienen una longitud de onda únicamente en el intervalo

UV-A, donde el poder esterilizador es mínimo, contrario a lo que podría pasar si se usaran lámparas tipo UV-C. Por consiguiente se atribuye el poder esterilizador a los radicales hidroxilos generados por la fotocatálisis.

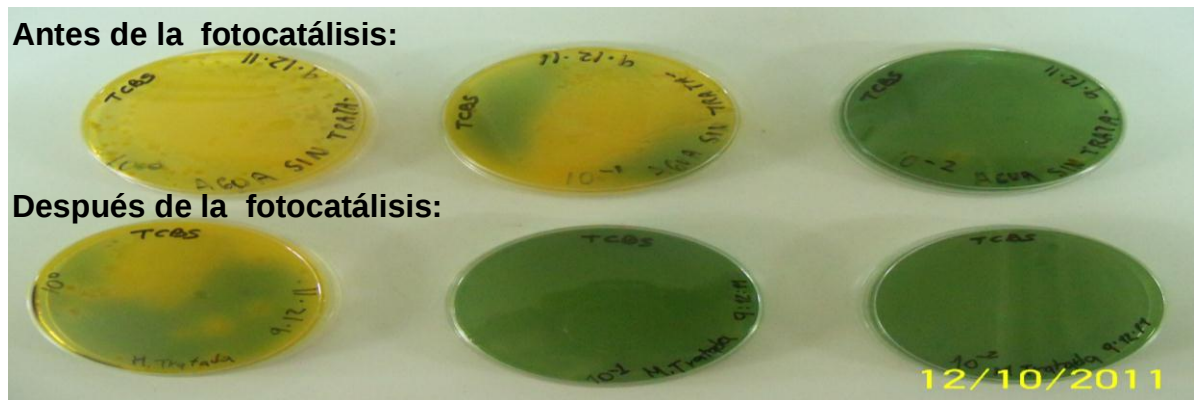


Figura 24. Presencia de colonias amarillas de *Vibrio* sp. en las muestra antes (superior) y después (inferior) del tratamiento fotocatalítico. [fotocatálisis con $2\text{gTiO}_2/\text{l}$ y pH 9]

Para buscar la causa de la melanosis (aparición de verrugas negras en la epidermis de los camarones), se utilizó un medio de cultivo de agar nutritivo para sembrar directamente una de las lesiones y su tejido inmediatamente interno. En este, no se encontró crecimiento para la verruga, pero en el de tejido interno si crecieron dos tipos de colonias: una Gram negativa, con colonias pequeñas y la otra Gram positiva, con colonias emparejadas más grandes en forma de bacilos cortos. Esto indicó que los individuos estaban afectados por dos tipos de bacteria, es posible que la Gram negativa pueda ser la causante directa de la lesión y que la Gram positiva, sea una bacteria oportunista que aprovechó la lesión previa para colonizar. Por la presencia de estos dos tipos de colonias se diagnostica que los individuos tenían una infección, es decir los camarones no estaban en óptimas condiciones de salud.

4. CONCLUSIONES

La concentración de TiO_2 como catalizador es significativa, esta es directamente proporcional a la degradación global de la MO-N y el $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$. A mayor concentración de catalizador, hay una mayor disminución de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$. El pH también tiene un efecto significativo en la fotooxidación del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, obteniéndose la mejor degradación a pH 9.

Hay un efecto directo de la salinidad en la degradación de MO-N, a salinidad baja hay poca generación de NH_4^+ y a salinidad alta hay una mayor generación. En general si se compara las degradaciones por fotocatálisis del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ en agua marina encontradas en este estudio, con los valores reportados para agua dulce, se encuentra mayor degradación en agua marina que en el agua dulce (que tiene salinidad cercana a cero). La velocidad y eficiencia de la degradación de la MO-N es mayor en la salinidad más alta.

La fotocatálisis mostró un efecto múltiple, en un principio sólo se buscaba degradar el $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, pero se encontró que también es útil para degradar la MO-N y el NO_3^- . Además hay un efecto benéfico adicional en la disminución en el número de colonias bacterianas de *Vibrio* sp.

Los resultados fueron favorables, la fotocatálisis mostró para los parámetros químicos, un efecto positivo en la disminución de las concentraciones del $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ en la primera semana. Los parámetros biológicos de biomasa y supervivencia en *L. vannamei* mostraron los valores más estables, hasta el final del ensayo. En un principio se temía que los camarones tuvieran menor supervivencia en el tratamiento con fotocatálisis a causa de la posible toxicidad del TiO_2 o de los productos fotocatalíticos intermediarios. Pero por el contrario, al encontrarse un tiempo de reacción adecuado, se obtuvo que con este tratamiento

fotocatalítico, hay mayor supervivencia y biomasa, por lo tanto los datos reportados muestran un buen panorama para el desarrollo de la tecnología.

Es posible ahorrar agua en los sistemas de recirculación, si se realiza el tratamiento de agua con fotocátalisis, pero solamente en los momentos cuando las concentraciones de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ son altas, además se deben usar parámetros adicionales al $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ para poder estimar un mayor ahorro de agua marina, esto debido a que el NO_3^- , la carga microbiana y la MO-N pueden estar en valores desfavorables para el cultivo y se podrían mejorar con la fotocátalisis.

5. RECOMENDACIONES

Evaluar la fotooxidación específicamente de NO_2^- y NO_3^- en concentraciones altas. También se debe evaluar la fotocátalisis de compuestos nitrogenados en dos etapas, la primera a alta concentración de catalizador para degradar MO-N y NH_4^+ , y la segunda con baja concentración de TiO_2 para degradar NO_3^- .

Se debe tecnificar más el proceso de fotocátalisis para que no haya pérdidas de agua y se pueda estimar un ahorro neto adicional de agua. Además se debe escalar el proceso para poder tratar un mayor volumen de agua con una periodicidad de tratamiento continua, ya que si se obtuvieron resultados favorables sólo tratando semanalmente un 25% del agua, se podrían tener resultados aún mejores con tratamientos más seguidos.

En el presente estudio se presentaron inconvenientes en el tratamiento del agua, porque se perdía en el proceso de filtración y al ser transportada. Para evitar estos inconvenientes sugiero que se evalúe un tratamiento continuo, en este, se debe evaluar la degradación de los compuestos nitrogenados en sistemas con el catalizador soportado, donde no sea necesario retirarlo posteriormente (sin filtración) y se pueda pasar constantemente el agua marina.

También es conveniente tener en cuenta las poblaciones microbianas al evaluar la calidad de agua marina, porque el poder germicida que tiene la fotocátalisis es un beneficio adicional importante que puede estar explicando la mayor supervivencia y biomasa en el tratamiento fotocatalítico.

Para los cultivos acuícolas se recomienda evaluar el crecimiento y supervivencia a valores de pH entre 8.5 y 9, para poder tratar el agua de cultivo sin mayor cambio en el pH (para llevarlo a 9). Si se van a realizar tratamientos fotocatalíticos programados, se recomienda también que se haga en

horas de la tarde porque el pH es mayor en este período y se necesitaría un menor cambio en el pH, así se aprovecharía el cambio natural de los valores de pH en los sistemas acuáticos.

BIBLIOGRAFÍA

Bonsen. E; Schroeter. S; Jacobs. H. & Broekaert J. 1997. Photocatalytic. degradation Of ammonia With TiO_2 as photocatalyst In the laboratory and under the use of solar radiation. Chemosphere, Vol. 35, No. 7, Pp. 1431-1445.

Bravo. A; Gracia J; Domenech X. & Peral J. 1993. Some aspects of the photocatalytic oxidation of ammonium ion by titanium Dioxide. Journal of chemical research. Pp. 376-377.

Boyd. C. 1998. Water Quality for Pond Aquaculture. Research and Development Series Vol. 43 Pp. 1-37..

Chávez, M. & Higuera, I. 2003. Manual de buenas prácticas de producción acuícola de camarón para la inocuidad alimentaria. Centro de investigación en alimentación y desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán en acuicultura y manejo ambiental. Primera edición. 95 p.

Chin Lin, Y. & Chu Chen, J. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 259. Pp. 109–119.

Chin Lin, Y. & Chu Chen, J. 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 16. Pp. 321–334.

FAO. 2011. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [<http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_CO/3/es>](http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_CO/3/es) consulta: 25 de abril de 2011).

García, A., Espinosa, R., Delgado, L., Casals, E., González, E., Puentes, V., Barata, C., Font, X., & Sánchez, A. 2011. Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and

iron oxide nanoparticles using standardized tests. Desalination Vol. 269 Pp. 136–141.

Gómez. C; Herrera. J; Araña. Francisco; González. Ó; Doña. J; 2007. NH₄-N degradation with O₃-AC-TiO₂-UV. Book of abstracts [of the] 4th European Meeting on Solar Chemistry and Photocatalysis : environmental applications (SPEA4), Pp. 254-255.

Hsin-Hung O; Ching-Hui. L; Ya-Hsuan L; Jian-Hao H; & Shang-Lienlo J. 2008. Photocatalytic oxidation of aqueous ammonia over microwave-induced titanate nanotubes. Environmental Science Technoogy. (42). Pp 4507–4512.

Jiménez. M. & Balcázar J. 2003. Uso de filtros biológicos en larvicultura del *Litopenaeus vannamei*: Principios generales. AquaTIC (18) Pp. 11-14.

Kropp, R., Tompkins, D., Barry, T., Zeltner, W., Pepping, G., Anderson, M. & Barry, T. 2009. A device that converts aqueous ammonia into nitrogen gas. Aquacultural Engineering. Vol. 41. Pp. 28-34

Lee, J., Park, H. & Choi, W. 2002. Selective Photocatalytic Oxidation of NH₃ to N₂ on Platinized TiO₂ in Water. Environmental Science & Technology. Vol. 36, No 24. Pp. 5462-5468

Liu C. & Chen J. 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *vibrio alginolyticus*. Fish & shellfish immunology 16 Pp. 321–334.

Murgia. S; Poletti. A. & Sevaggi; R. 2005. Photocatalitic degradation of high ammonia concentration solutions by TiO₂. Annali di chimica, 95. By società chimica italiana. Pp. 335-353.

Pollema, C., Milosavljevic, E., Hendrix, J., Solujic, L., & Nelson, J. 1992. Photocatalytic Oxidation of Aqueous Ammonia (Ammonium ion) to Nitrite r Nitrate at TiO_2 Particles. *Monatshefte fur Chemie*. 123. Pp. 333-339.

Rodrigues, R., Schwarz, M., Delbos, B. & Sampaio, L. 2007. Acute toxicity and sublethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*. 271. Pp. 553–557.

Sanz, A., Paya, A., Gonzales, M., & Mártire, D. 2009. “Procesos químicos y fotoquímicos ambientalmente benignos para la degradación de efluentes acuosos industriales” Cuadernos de investigación en la ingeniería 1. Pp.135-145.

Xiaoshan Z; Yung. Chang & Yongsheng Chen. 2010. Toxicity and bioaccumulation of TiO_2 nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere* (78) Pp. 209–215.

Yamada N & Tanoue E. The inventory and chemical characterization of dissolved proteins in oceanic waters. *Progress in Oceanography* 69 (2006). Pp. 1–18

ANEXO A

Correlación para la concentración de catalizador

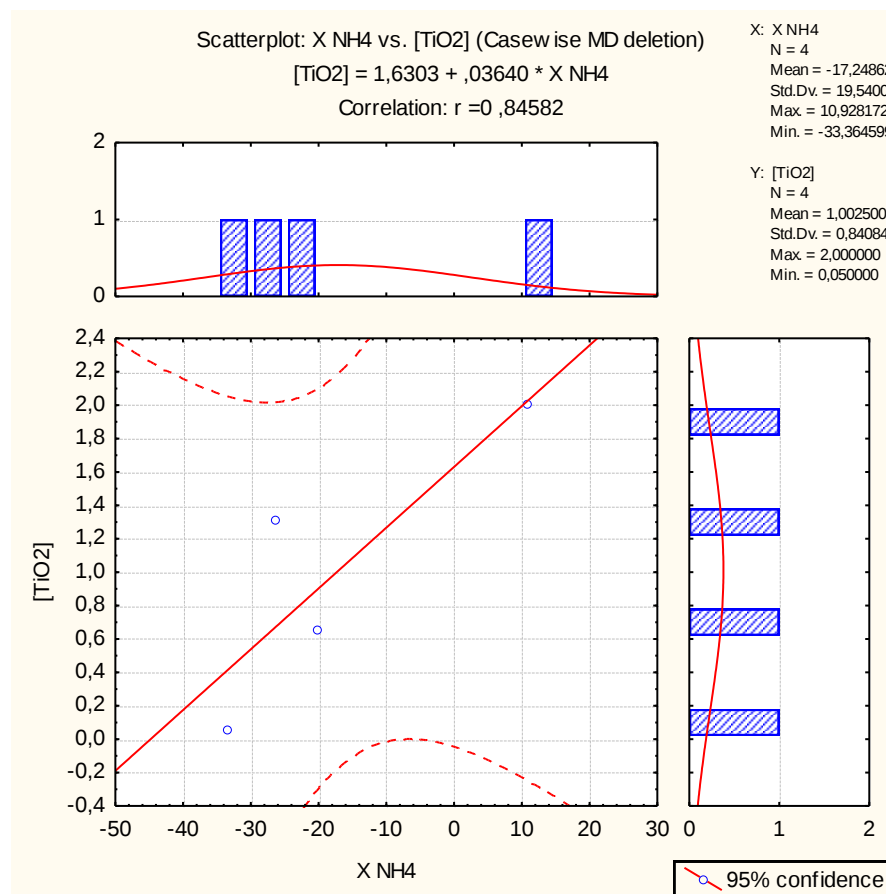


Figura Anexa 1. Correlación entre la conversión de NH_4^+ y la concentración de catalizador.

ANEXO B

Salud de los camarones

Los individuos no se encontraban en condiciones óptimas de salud. Los camarones tenían lesiones, llamadas melanosis. En estas heridas, se encontraron dos tipos de bacterias. Además había *Vibrio* sp en el agua de cultivo.

Teniendo en cuenta esto y que el oxígeno también era algo bajo en la primera semana, se puede afirmar que la mortalidad y la disminución de la biomasa en las dos primeras semanas es causada por estos factores y no precisamente a que el tratamiento fotocatalítico no sea efectivo en condiciones súper-intensivas (cuando en un inicio habían muchos individuos). A pesar de estos factores en contra y a un estrés adicional por el cambio de nivel prolongado mientras se trataba fotocatalíticamente el agua, se puede decir que la fotocátalisis mejoro la calidad del agua de cultivo, permitiendo una mayor supervivencia y biomasa al final del ensayo.



Figura Anexa 2. Melanosis presentada en los camarones: a) apariencia a simple vista y b) apariencia en el estéreo.

ANEXO C

OD, consumo de oxígeno y pH

Después de comprobar que los datos eran normales, se verificó que no había una diferencia significativa para el oxígeno disuelto en los distintos tratamientos, esto muestra que todos los acuarios tuvieron aireación significativamente similar. Al comparar el OD entre las semanas se encontró que si había diferencia significativa, lo que puede estar explicando el consumo mayor de oxígeno en el inicio cuando la población era alta, a comparación del final cuando las poblaciones eran más bajas y habían la mayor cantidad de oxígeno disponible. La comparación entre la supervivencia y el oxígeno se muestra en a continuación:

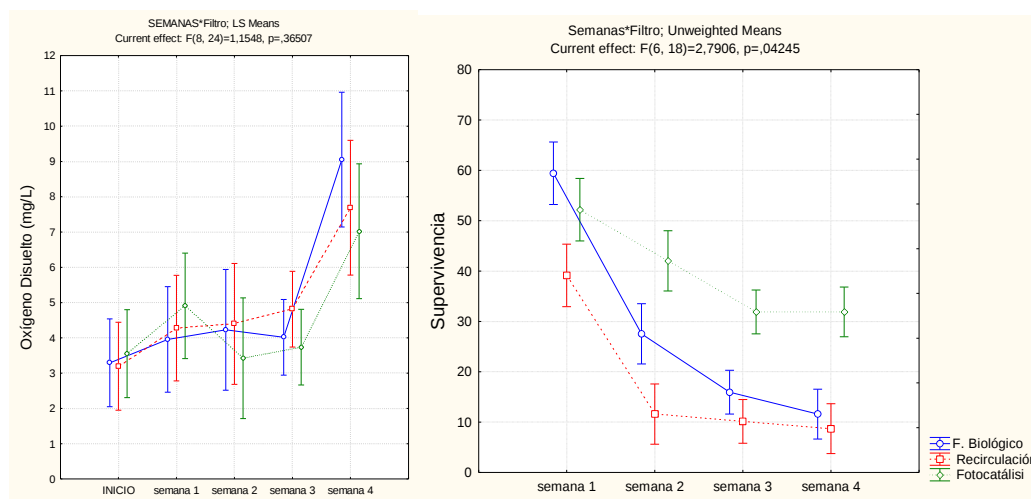


Figura Anexa 3: oxígeno disuelto (izquierda) y supervivencia (derecha) promedio durante las semanas del ensayo.

Al realizar un balance del cambio de OD cuando estaban presentes todos los individuos y al final cuando estaban los supervivientes y relacionándolos con el cambio de la población, se obtiene consumo de oxígeno por individuo (CO), para lo cual se propone la siguiente ecuación:

$$CO(mg\ O_2/ind) = \frac{OD_{final} * V_{final} - OD_{inicial} * V_{inicial}}{Ind_{final} - Ind_{inicio}} \quad (A1)$$

Dónde: V= volumen de agua Ind= Número de individuos OD= Oxígeno disuelto

Usando la ecuación propuesta y el volumen del acuario, se obtiene un consumo promedio por individuo de 0.14 (± 0.04) mg O₂/l para individuos entre 1.38 y 2.54 g(peso promedio inicial y final respectivamente). Por lo tanto los 23 individuos que había al inicio de la experiencia consumían 3.22 mg O₂/l, lo que indica que el oxígeno inicial suministrado debe ser superior a 7.22 mg para que al restarle el consumo, quede todavía 4 mgO₂/l que es el valor mínimo óptimo para el cultivo de *L. vannamei*.

El valor del OD para la primera semana estaba por debajo de los límites óptimos debido a la gran densidad de individuos que había inicialmente. Este bajo nivel de oxígeno para la primera semana explica la mortalidad presentada en este periodo. Después de la tercera semana, ya el oxígeno no era un limitante y empezaron a ser limitantes otros factores de calidad de agua.

El pH promedio tuvo valores entre 7 y 8 durante todas las semanas, pero se observó un incremento progresivo en el pH a medida que avanzaban las semanas de cultivo, este aumento fue casi constante, excepto para el tratamiento de recirculación, donde hubo un ligero descenso después de que se agregó el agua nueva en la semana 1. Dentro de cada tratamiento se observó una variación considerable que iba disminuyendo hacia el final de la prueba.

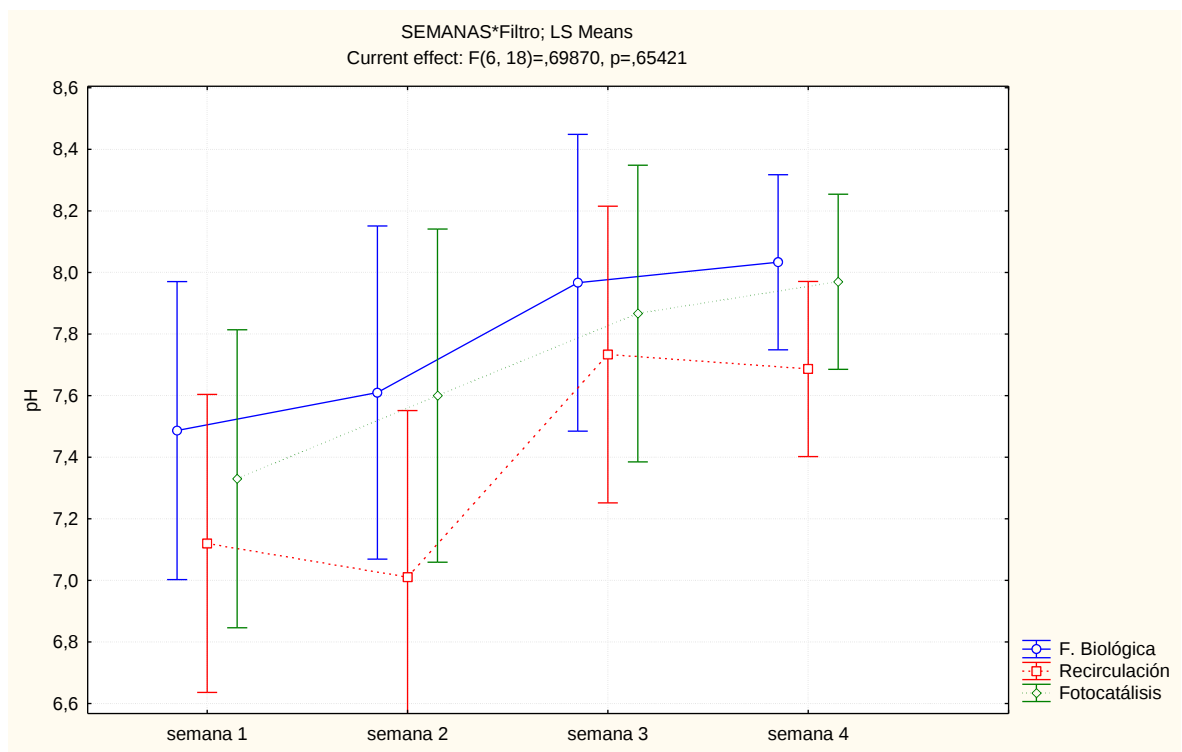


Figura Anexa 4.Valores de pH durante las semanas de cultivo.