

*Research Article*

## **Efecto de cuatro pretratamientos en la digestión anaeróbica y la remoción de nutrientes de efluentes, de un sistema de recirculación acuícola**

**Juan P. González-Hermoso<sup>1</sup> & Manuel Segovia<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Acuicultura, Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada, Ensenada, B.C., México  
Corresponding author: Manuel Segovia (msegovia@cicese.mx)

**RESUMEN.** Los sistemas de recirculación acuícola producen efluentes (fracción disuelta y fracción particulada) con altas concentraciones de nitrógeno y fósforo que son una fuente potencial de contaminación si no se tratan en forma adecuada. El tratamiento de los lodos y remoción de nutrientes por medio de la digestión anaeróbica se ha vuelto una alternativa viable para la reducción y la estabilización de los lodos provenientes de los sistemas de recirculación acuícola. El presente estudio determinó el efecto de cuatro diferentes pretratamientos (alcalino, mecánico, térmico y biológico) en la reducción de los lodos, la desnitrificación, la producción de biogás y la dinámica del nitrógeno y el fósforo proveniente de los efluentes de un cultivo de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) en condiciones hiper-intensivas con experimentos mensuales durante un año, con duración de 15 días cada uno. Tras la aplicación de pretratamientos en los lodos de origen acuícola, se obtuvo un aumento en la liberación de nitrógeno amoniacal total con respecto al control, de igual forma se obtuvo una remoción de nitritos en todos los pretratamientos (>90%), se incrementó la remoción de sólidos suspendidos totales, siendo mayor en los pretratamientos (>20,3%) en comparación con el control (14,6%), así como también se incrementó la producción de biogás, siendo el pretratamiento biológico donde se obtuvo la mayor concentración (45,18 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>). Esto indica que la aplicación de pretratamientos en los efluentes acuícolas mejora los procesos de desnitrificación y digestión anaeróbica, pudiendo reducir los tiempos de retención hidráulica.

**Palabras clave:** desnitrificación, digestión anaeróbica, pretratamientos, efluentes, sistema de recirculación.

### **Effect of four different pretreatments in anaerobic digestion and nutrient removal of effluents from a recirculating aquaculture system**

**ABSTRACT.** Intensive aquaculture recirculating systems produce effluents (dissolved and particulate solids) with concentrations of nitrogen and phosphorus, a potential source of pollution if they are not properly treated. The sludge and nutrient removal by anaerobic digestion has become an alternative for aquaculture sludge digestion and stabilization. In this study we determine the effect of four different pretreatments (alkaline, mechanical, thermal and biological) in sludge reduction and denitrification efficiency, biogas production and nitrogen and phosphorus dynamics from a hyper-intensive Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) culture in 15 days experiments, one per month for one year. After application of pretreatments in aquaculture sludge, an increase in the release of total ammonia nitrogen was obtained with respect to the control, in the same way nitrate removal was obtained in all pretreatments (>90%), The increase in total suspended solids removal was higher in pretreatment (>20.3%) compared to control (14.6%), As well as the biogas production increase, being the biological pre-treatment where the highest concentration was obtained (45.18 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>) The results indicate that the application of pre-treatments in the aquaculture effluents improves the denitrification processes and anaerobic digestion and can reduce the hydraulic retention time.

**Keywords:** denitrification, anaerobic digestion, pretreatments, effluents, recirculating aquaculture systems.

## INTRODUCCIÓN

El rápido crecimiento anual (6,2%) de la actividad acuícola durante los últimos años (FAO, 2014) ha traído como consecuencia un aumento de los impactos al medio ambiente por el aumento de la descarga de efluentes de esta actividad (Mirzoyan *et al.*, 2010). Los efluentes acuícolas al igual que la mayoría de las aguas residuales provocan la disminución del oxígeno disuelto en el medio circundante, estos efluentes causan eutrofización, aumentan la reducción anaeróbica de sulfatos, y en forma simultánea pueden inhibir la nitrificación aeróbica y los procesos de desnitrificación (Holmer & Kristensen, 1992; Chávez & Obreque, 2010).

Los sistemas de recirculación acuícola (SRA) se han desarrollado como una alternativa de producción debido al menor consumo de agua, capacidad para cultivar organismos en altas densidades y porque se puede producir en forma constante a lo largo del año. En la operación de un SRA, la remoción de sólidos de la unidad de producción y después del sistema, es una operación fundamental que debe efectuarse diariamente para evitar el deterioro de la calidad de agua. En los SRA, una característica fundamental es que el volumen de recambio debe ser <10% del volumen total, debido a que estos sistemas se operan a densidades muy altas se produce una gran cantidad de sólidos que deben ser desechados.

Los sólidos se componen principalmente de productos de excreción de los peces y un porcentaje pequeño de alimento no ingerido, donde su fracción volátil (orgánica) se encuentra en un rango de 50-92% (Cripps & Bergheim, 2000; Piedrahita, 2003; Gebauer & Eikebrokk, 2006) y se caracterizan por una baja concentración de sólidos totales (1,5-3%) comparada con otros tipos de producción animal o efluentes industriales (Timmons & Ebeling, 2007; Mirzoyan *et al.*, 2008). Una rápida separación de los sólidos del agua en los efluentes es necesaria para la captura de los sólidos suspendidos totales (SST) y la demanda bioquímica de oxígeno carbonácea, así como para reducir la lixiviación de nitrógeno proveniente del nitrógeno amoniacal total (NAT) y del fósforo (Sharrer *et al.*, 2010). Los sólidos se pueden concentrar por sedimentación, en humedales artificiales y/o bolsas geotextiles (Corneau *et al.*, 2001; Sindilariu *et al.*, 2009; Sharrer *et al.*, 2009), para almacenar, tratar o usar a fin de darle un reuso a los nutrientes y disminuir significativamente su manejo y disposición final (Summerfelt & Vinci, 2008). La digestión anaeróbica es el método más comúnmente usado para la estabilización de efluentes municipales, industriales o agrícolas (Mirzoyan *et al.*, 2010). La DA de los lodos de origen acuícola es un concepto relativamente nuevo

ya que en los métodos tradicionales de acuicultura en estanques, en sistemas de flujo continuo y sin recambio de agua, los lodos no se recolectan (Wik *et al.*, 2009; Chávez & Obreque, 2010; Mirzoyan *et al.*, 2010; Van Rijn, 1996). La información sobre el manejo de los lodos de los efluentes de un SRA es en general escaso.

En la DA, la hidrólisis es el paso limitante de la velocidad del proceso global en el caso de la degradación de los lodos (Gavala *et al.*, 2003). En este paso, se realiza la solubilización del material particulado y la descomposición biológica de los compuestos orgánicos (Graef & Andrews, 1974; Elefsiniotis & Oldham, 1994; Carrère *et al.*, 2010). A fin de acelerar el proceso de DA se ha propuesto el uso de pretratamientos cuyo objetivo general es remover materia orgánica y agua, reduciendo el volumen y masa de material degradable y en forma paralela remover olores y patógenos (Appels *et al.*, 2008). El uso de pretratamientos al inicio de la DA de los lodos de los efluentes del SRA resulta atractivo, pues se disminuyen las emisiones de CO<sub>2</sub> así como los costos al disminuir el uso de energía eléctrica.

El proceso convencional de DA mesofílica se efectúa en un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 20 días con una conversión de 25-60% de la materia orgánica a gas (Parkin & Owen, 1986). Al acelerar el proceso de hidrólisis y degradación de los lodos se hace más accesible una mayor cantidad de materia orgánica a los microorganismos anaerobios, resultando en un menor TRH y aumento en la producción de metano (Muller, 2000; Kim *et al.*, 2003; Vavilin *et al.*, 2008). En los lodos, se pueden aplicar diferentes tipos de pretratamientos para acelerar la hidrólisis tales como: 1) pretratamiento biológico, 2) pretratamiento térmico, 3) pretratamiento mecánico y, 4) pretratamiento químico.

Hasta el momento solamente existe registro de una investigación donde se utilizó un pretratamiento en los lodos de origen acuícola previo a la DA, en la cual se mejoró la reducción de la DQO en un 10% y la producción de biogás y de NAT se aumentó (Mc Dermott *et al.*, 2001). Por tal razón, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de cuatro diferentes pretratamientos (químico, mecánico, térmico y biológico), en la reducción de la concentración de materia orgánica, la producción de biogás así como la remoción de nutrientes (NAT, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) de efluentes provenientes de un SRA, utilizando digestores anaeróbicos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Origen de los efluentes

Todos los experimentos se efectuaron con efluentes de un cultivo hiper-intensivo de producción de tilapia en

SRA en el Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (Baja California, México). Los efluentes se colectaron en tres reservorios de agua de 700-L de capacidad que se encontraban interconectados para distribuir los lodos de manera homogénea. Los colectores se usaron como sedimentadores para realizar la separación de las fracciones particulada y disuelta de los efluentes.

### Digestores, diseño y uso

Para el experimento se utilizaron 45 digestores anaeróbicos circulares de 4 L provistos de un depósito cilíndrico de 1 L utilizado para el almacenamiento del biogás conectado al biodigestor por un tubo flexible de silicón de 0,63 mm de diámetro. Los experimentos de DA se efectuaron por periodos de 15 días cada mes durante un año (octubre 2012-septiembre 2013) a temperatura ambiente sin control de pH. Previo a cada experimento, los digestores se llenaron con una mezcla de lodo: efluente (fracción particulada: fracción disuelta) en una proporción 1:4 (Rustrian *et al.*, 1997; Sumico *et al.*, 2006). En cada uno de los digestores anaeróbicos se añadió 180 mL de lodos activados. En todos los digestores se presentaron condiciones anaeróbicas en todos los experimentos a lo largo del año que duraron los experimentos.

### Pretratamientos del efluente

Los lodos colectados del efluente del SRA fueron separados de la fracción acuosa en los sedimentadores. En cada uno de los pretratamientos se utilizó un volumen total de 7500 mL, que fueron colocados en cubetas de 12-L donde se aplicaron cuatro diferentes pretratamientos: T1, pretratamiento biológico: se usó una proporción 50:50 lodos activados: lodos primarios del efluente del SRA; T2, pretratamiento mecánico, los efluentes se mezclaron con un homogeneizador industrial a 5000 rpm durante 30 min; T3, pretratamiento alcalino, a los lodos del efluente se les agregó una solución de hidróxido de sodio (NaOH) hasta alcanzar una concentración final de 80 mMol; T4, pretratamiento térmico, los efluentes se expusieron a una temperatura de 100°C por 30 min; T5, control sin tratamiento (Fig. 1).

### Métodos analíticos

La temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg ODL<sup>-1</sup>) y pH se midieron con una sonda multiparamétrica YSI 565. El nitrógeno amoniacal total (NAT) se midió por el método de reacción con fenato (Solorzano & Sharp, 1969). Los nitritos (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) se determinaron a través de la formación de los grupos azo (N=N) en presencia de naftil-etilen, diamina y sulfanilamida (Boltz, 1958; Hoather & Rackham 1959). Los nitratos (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) se

determinaron en el espectro UV, para ello las muestras se expusieron a dos diferentes longitudes de onda, 220 y 275 nm, y la diferencia en la absorbancia dio como resultado la absorbancia de los N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Nydahl, 1976). Los fosfatos (P- PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) se cuantificaron por el método de ácido ascórbico (APHA, 1998). La alcalinidad se midió por el método de titulación 2320 B, utilizando como indicador fenolftaleína y/o verde de bromocresol y rojo de metilo (APHA, 1998). Los sólidos suspendidos totales (SST), producción de biogás y demanda bioquímica de oxígeno DBO<sub>5</sub> se determinaron cada cinco días durante el periodo que comprendió cada experimento (15 días). La concentración inicial y final de SST se determinó por el método de peso en seco. Cada 5 días se midió la producción de biogás por el método de desplazamiento de agua y el DBO<sub>5</sub> se determinó en botellas de color ámbar de 1 L. Todos los análisis se efectuaron por triplicado todos los días de la duración de cada experimento (15 días).

### Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental totalmente aleatorizado. Una vez que los lodos fueron separados del efluente y se aplicaron los cuatro diferentes pretratamientos a las muestras, se colocaron en los digestores, teniendo nueve réplicas para cada uno de los pretratamientos y el control (Fig. 1). Todos los días se colectaron 100 mL de muestra de cada biodigestor y se determinaron las concentraciones de NAT, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> y alcalinidad. La cuantificación de biogás y las muestras para la determinación de los SST y la DBO se tomaron los días 0, 5, 10 y 15.

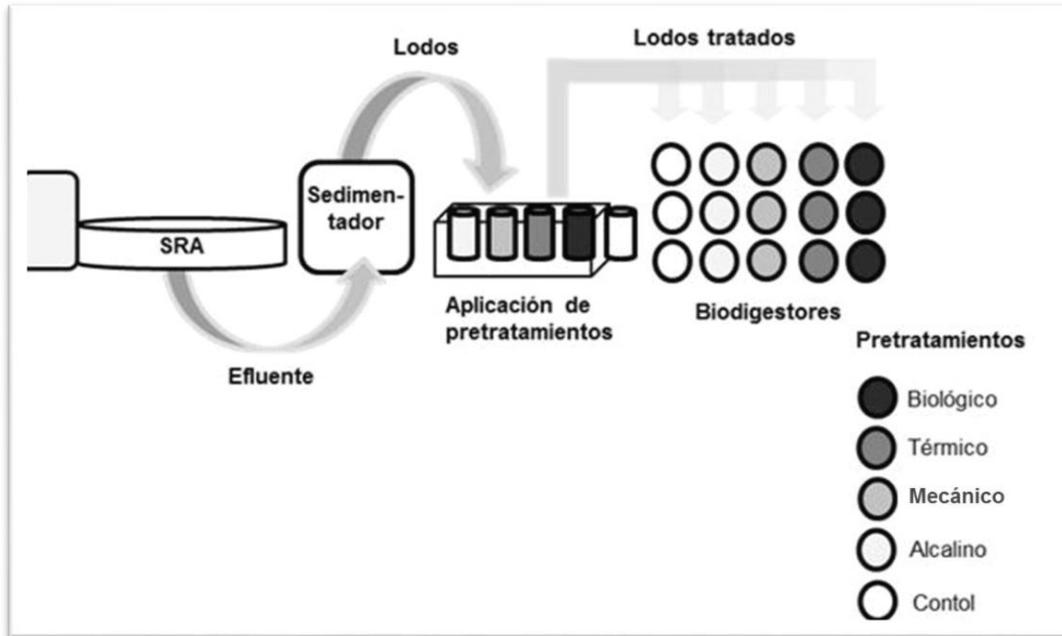
### Análisis estadístico

Después que los datos cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se realizó un análisis de varianza con repeticiones para determinar el efecto de los pretratamientos en la degradación de nutrientes (NAT, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), los SST, producción de biogás y dinámica del DBO<sub>5</sub> con respecto a los meses. Cuando se encontraron diferencias significativas se efectuó un análisis de medias *a posteriori* tipo Tukey con un nivel de significancia de 0,05. De igual forma se aplicó un análisis de regresión múltiple de las variables independientes sobre la concentración de nutrientes, así como de remoción de los SST, la DBO y la producción de biogás. Todos los análisis estadísticos se efectuaron con el programa estadístico Statistica 8.0 para Windows (Stat. Soft. Inc., 2007).

## RESULTADOS

### Factores físicos y químicos

La concentración de oxígeno disuelto en los digestores de todos los pretratamientos, presentó al inicio de cada



**Figura 1.** Diagrama de flujo del diseño experimental.

experimento valores  $<1,0 \text{ mg OD L}^{-1}$  y para el final de cada ciclo, la concentración fue  $<0,1 \text{ mg OD L}^{-1}$ . La temperatura en los digestores no fue controlada y varió de acuerdo a las condiciones ambientales, registrándose las temperaturas más bajas en enero ( $15,7 \pm 1,9^\circ\text{C}$ ) y las más altas en agosto ( $22,7 \pm 1,7^\circ\text{C}$ ) (Tabla 1). Se determinaron diferencias significativas en el pH ( $P < 0,001$ ) entre los pretratamientos y entre los meses ( $P < 0,001$ ). En todos los pretratamientos se observó una disminución del pH hacia el final de cada experimento (15 días de TRH) y una relación entre temperatura y pH (a bajas temperaturas menor pH y viceversa) (Tabla 1). La alcalinidad inicial presentó diferencias significativas ( $P < 0,001$ ), entre los diferentes pretratamientos y entre los meses ( $P < 0,001$ ) detectándose un incremento en la concentración en todos los pretratamientos al final de los 15 días del TRH, excepto en el pretratamiento alcalino de enero a junio y agosto. La mayor alcalinidad se presentó en el pretratamiento alcalino de diciembre ( $1,545 \pm 93,6 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) y la menor en el control en agosto ( $312 \pm 45,5 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) (Tabla 1).

### Nitrógeno amoniacal total

Se detectaron diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) en la concentración inicial de NAT entre los meses, la mayor concentración se presentó en mayo y la menor en julio (Tabla 2). En general se observó en todos los pretratamientos una producción constante de NAT en los 15 días de TRH, con excepción del pretratamiento alcalino.

La concentración de NAT en los efluentes se incrementó al final de cada experimento en todos los pretratamientos en la mayoría de los meses (Figs. 2a, 2e). Se observaron diferencias significativas en la producción de NAT entre los meses ( $P < 0,01$ ) y entre los pretratamientos ( $P < 0,01$ ). El pretratamiento con menor producción promedio a lo largo de los meses fue el alcalino (Fig. 2a). La mayor remoción de NAT se presentó en el control en febrero ( $-2,45 \pm 0,08 \text{ mg NAT L}^{-1}$ ) (Fig. 2b) y la mayor producción en el pretratamiento térmico en agosto ( $56,16 \pm 2,69 \text{ mg NAT L}^{-1}$ ), siendo significativamente mayor ( $P < 0,01$ ) al resto de los pretratamientos (Fig. 2d).

### Nitritos

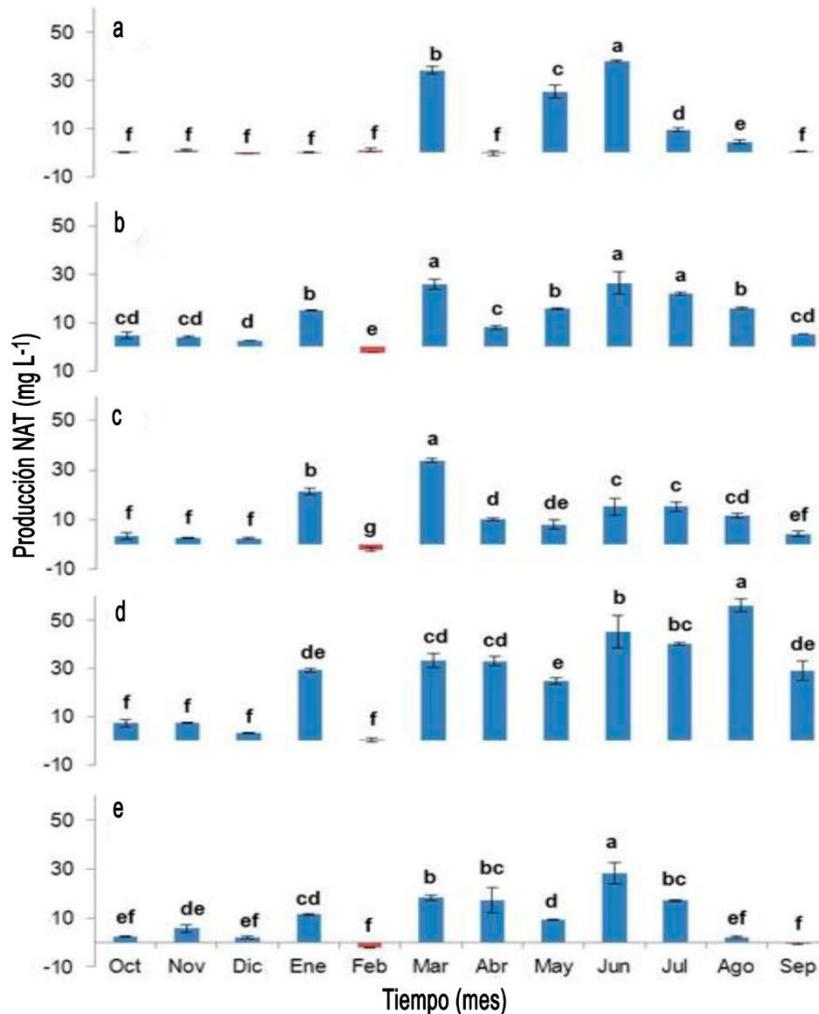
La concentración de  $\text{N-NO}_2^-$  al inicio de cada experimento fue  $<1 \text{ mg L}^{-1}$  en todos los pretratamientos, encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) en la concentración inicial de  $\text{N-NO}_2^-$  entre los meses. La mayor concentración inicial se determinó en febrero y la menor en octubre (Tabla 2). Se detectaron diferencias significativas en la producción de  $\text{N-NO}_2^-$  entre los meses ( $P < 0,01$ ) y entre los pretratamientos ( $P < 0,01$ ) (Fig. 3). La mayor producción se presentó en el pretratamiento alcalino en julio ( $13,38 \pm 2,28 \text{ mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) y la mayor remoción en el pretratamiento mecánico en abril ( $-1,93 \pm 0,02 \text{ mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ) (Figs. 3a, 3c). En general, el tratamiento alcalino presentó la concentración final más alta y fue significativamente mayor que el resto de los pretratamientos ( $P < 0,001$ ),

**Tabla 1.** Concentraciones iniciales y finales de las variables físicas y químicas de los efluentes después de la aplicación de los pretratamientos. Los suscritos a>b>c>d>e>f>g indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada pretratamiento.

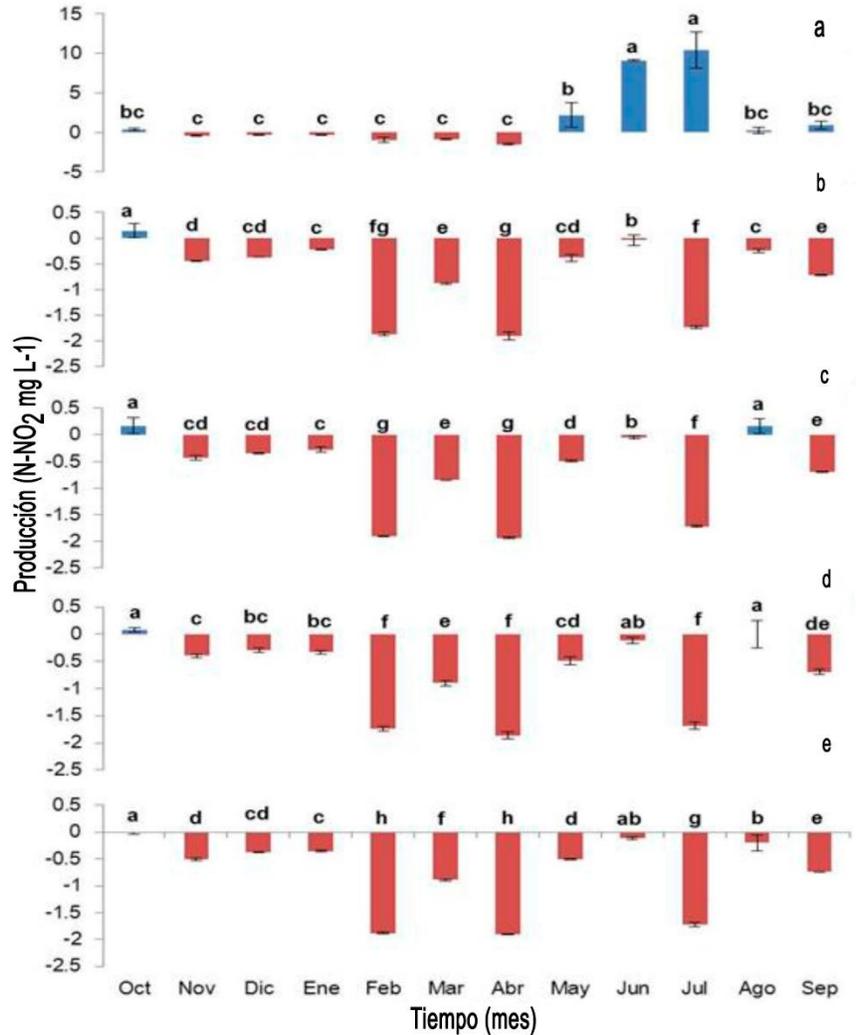
Mes	Pretratamiento	Temp. (°C)	pH inicial	pH final	Alcalinidad) inicial (mgCaCO <sub>3</sub> mL <sup>-1</sup> )	Alcalinidad final (mg CaCO <sub>3</sub> mL <sup>-1</sup> )
Oct	Control	19,5 ± 1,7 <sup>bc</sup>	8,1 <sup>a</sup>	6,9 <sup>d</sup>	340 <sup>f</sup>	640 <sup>cd</sup>
	Alcalino	1,5 ± 1,7 <sup>bc</sup>	11,5 <sup>a</sup>	11,0 <sup>a</sup>	1030 <sup>a</sup>	940 <sup>b</sup>
	Mecánico	19,5 ± 1,7 <sup>bc</sup>	7,9 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	380 <sup>e</sup>	660 <sup>cd</sup>
	Térmico	19,5 ± 1,7 <sup>bc</sup>	8,3 <sup>a</sup>	6,9 <sup>d</sup>	370 <sup>ef</sup>	670 <sup>c</sup>
	Biológico	19,5 ± 1,7 <sup>bc</sup>	8,0 <sup>a</sup>	7,1 <sup>d</sup>	380 <sup>e</sup>	490 <sup>d</sup>
Nov	Control	17,9 ± 2,3 <sup>cd</sup>	7,9 <sup>a</sup>	6,3 <sup>e</sup>	405 <sup>ef</sup>	580 <sup>d</sup>
	Alcalino	17,9 ± 2,3 <sup>cd</sup>	11,1 <sup>a</sup>	10,9 <sup>a</sup>	1430 <sup>a</sup>	1380 <sup>a</sup>
	Mecánico	17,9 ± 2,3 <sup>cd</sup>	8,0 <sup>a</sup>	6,3 <sup>e</sup>	410 <sup>e</sup>	555 <sup>d</sup>
	Térmico	17,9 ± 2,3 <sup>cd</sup>	7,8 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	365 <sup>g</sup>	545 <sup>d</sup>
	Biológico	17,9 ± 2,3 <sup>cd</sup>	7,9 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	410 <sup>e</sup>	485 <sup>e</sup>
Dic	Control	15,8 ± 1,9 <sup>e</sup>	8,0 <sup>a</sup>	6,3 <sup>e</sup>	430 <sup>f</sup>	580 <sup>d</sup>
	Alcalino	15,8 ± 1,9 <sup>e</sup>	11,5 <sup>a</sup>	11,4 <sup>a</sup>	1610 <sup>a</sup>	1425 <sup>a</sup>
	Mecánico	15,8 ± 1,9 <sup>e</sup>	7,9 <sup>a</sup>	6,5 <sup>e</sup>	460 <sup>e</sup>	615 <sup>cd</sup>
	Térmico	15,8 ± 1,9 <sup>e</sup>	8,1 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	360 <sup>g</sup>	615 <sup>cd</sup>
	Biológico	15,8 ± 1,9 <sup>e</sup>	7,6 <sup>a</sup>	6,5 <sup>e</sup>	460 <sup>e</sup>	610 <sup>cd</sup>
Ene	Control	15,7 ± 1,9 <sup>e</sup>	7,6 <sup>a</sup>	6,3 <sup>e</sup>	440 <sup>g</sup>	610 <sup>cd</sup>
	Alcalino	15,7 ± 1,9 <sup>e</sup>	12,6 <sup>a</sup>	11,2 <sup>a</sup>	1390 <sup>b</sup>	1460 <sup>a</sup>
	Mecánico	15,7 ± 1,9 <sup>e</sup>	7,2 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	430 <sup>g</sup>	720 <sup>c</sup>
	Térmico	15,7 ± 1,9 <sup>e</sup>	7,1 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	420 <sup>g</sup>	690 <sup>cd</sup>
	Biológico	15,7 ± 1,9 <sup>e</sup>	7,1 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	430 <sup>g</sup>	670 <sup>cd</sup>
Feb	Control	16,1 ± 2,9 <sup>de</sup>	7,2 <sup>a</sup>	6,5 <sup>e</sup>	250 <sup>d</sup>	440 <sup>f</sup>
	Alcalino	16,1 ± 2,9 <sup>de</sup>	11,5 <sup>a</sup>	7,8 <sup>c</sup>	545 <sup>b</sup>	780 <sup>c</sup>
	Mecánico	16,1 ± 2,9 <sup>de</sup>	7,1 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	250 <sup>d</sup>	430 <sup>f</sup>
	Térmico	16,1 ± 2,9 <sup>de</sup>	6,8 <sup>a</sup>	6,7 <sup>de</sup>	260 <sup>d</sup>	520 <sup>d</sup>
	Biológico	16,1 ± 2,9 <sup>de</sup>	6,9 <sup>a</sup>	6,6 <sup>de</sup>	250 <sup>d</sup>	390 <sup>f</sup>
Mar	Control	15,9 ± 1,2 <sup>de</sup>	7,3 <sup>a</sup>	6,5 <sup>e</sup>	320 <sup>ef</sup>	550 <sup>d</sup>
	Alcalino	15,9 ± 1,2 <sup>de</sup>	10,9 <sup>a</sup>	8,0 <sup>c</sup>	450 <sup>d</sup>	910 <sup>a</sup>
	Mecánico	15,9 ± 1,2 <sup>de</sup>	7,3 <sup>a</sup>	6,4 <sup>e</sup>	310 <sup>f</sup>	600 <sup>cd</sup>
	Térmico	15,9 ± 1,2 <sup>de</sup>	7,1 <sup>a</sup>	6,5 <sup>e</sup>	340 <sup>d</sup>	580 <sup>d</sup>
	Biológico	15,9 ± 1,2 <sup>de</sup>	6,3 <sup>b</sup>	6,6 <sup>e</sup>	310 <sup>f</sup>	530 <sup>df</sup>
Abr	Control	17,6 ± 1,1 <sup>cde</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	230 <sup>b</sup>	420 <sup>f</sup>
	Alcalino	17,6 ± 1,1 <sup>cde</sup>	11,9 <sup>a</sup>	11,7 <sup>a</sup>	790 <sup>b</sup>	860 <sup>bc</sup>
	Mecánico	17,6 ± 1,1 <sup>cde</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	260 <sup>g</sup>	510 <sup>df</sup>
	Térmico	17,6 ± 1,1 <sup>cde</sup>	7,6 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	330 <sup>f</sup>	580 <sup>d</sup>
	Biológico	17,6 ± 1,1 <sup>cde</sup>	7,0 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	260 <sup>g</sup>	510 <sup>d</sup>
May	Control	19,3 ± 1,2 <sup>bc</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	230 <sup>g</sup>	500 <sup>df</sup>
	Alcalino	19,3 ± 1,2 <sup>bc</sup>	12,1 <sup>a</sup>	10,1 <sup>b</sup>	650 <sup>b</sup>	930 <sup>b</sup>
	Mecánico	19,3 ± 1,2 <sup>bc</sup>	7,6 <sup>a</sup>	7,1 <sup>d</sup>	260 <sup>fg</sup>	460 <sup>df</sup>
	Térmico	19,3 ± 1,2 <sup>bc</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	270 <sup>fg</sup>	510 <sup>df</sup>
	Biológico	19,3 ± 1,2 <sup>bc</sup>	7,1 <sup>a</sup>	7,1 <sup>d</sup>	260 <sup>fg</sup>	450 <sup>f</sup>
Jun	Control	20,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,6 <sup>cd</sup>	280 <sup>c</sup>	460 <sup>f</sup>
	Alcalino	20,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	12,5 <sup>a</sup>	10,1 <sup>b</sup>	800 <sup>b</sup>	970 <sup>b</sup>
	Mecánico	20,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	7,6 <sup>a</sup>	7,4 <sup>d</sup>	290 <sup>c</sup>	480 <sup>f</sup>
	Térmico	20,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	7,7 <sup>a</sup>	7,3 <sup>d</sup>	340 <sup>d</sup>	500 <sup>df</sup>
	Biológico	20,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	7,3 <sup>b</sup>	7,5 <sup>d</sup>	290 <sup>c</sup>	450 <sup>f</sup>
Jul	Control	20,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	7,6 <sup>a</sup>	7,7 <sup>cd</sup>	200 <sup>g</sup>	470 <sup>f</sup>
	Alcalino	20,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	12,2 <sup>a</sup>	11,6 <sup>b</sup>	740 <sup>a</sup>	640 <sup>cd</sup>
	Mecánico	20,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	7,6 <sup>b</sup>	7,9 <sup>c</sup>	190 <sup>g</sup>	420 <sup>f</sup>
	Térmico	20,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	7,8 <sup>a</sup>	7,9 <sup>c</sup>	240 <sup>f</sup>	520 <sup>df</sup>
	Biológico	20,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,6 <sup>cd</sup>	190 <sup>g</sup>	510 <sup>df</sup>
Ago	Control	22,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,3 <sup>d</sup>	200 <sup>f</sup>	370 <sup>e</sup>
	Alcalino	22,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	12,2 <sup>a</sup>	9,8 <sup>b</sup>	670 <sup>b</sup>	850 <sup>bc</sup>
	Mecánico	22,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>	6,8 <sup>d</sup>	200 <sup>f</sup>	430 <sup>f</sup>
	Térmico	22,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	7,7 <sup>a</sup>	6,7 <sup>de</sup>	260 <sup>e</sup>	410 <sup>fe</sup>
	Biológico	22,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	7,2 <sup>a</sup>	6,8 <sup>d</sup>	200 <sup>f</sup>	350 <sup>e</sup>
Sep	Control	19,2 ± 1,5 <sup>bc</sup>	7,3 <sup>a</sup>	7,3 <sup>d</sup>	220 <sup>g</sup>	460 <sup>f</sup>
	Alcalino	19,2 ± 1,5 <sup>bc</sup>	12,8 <sup>a</sup>	11,9 <sup>a</sup>	890 <sup>a</sup>	820 <sup>bc</sup>
	Mecánico	19,2 ± 1,5 <sup>bc</sup>	7,4 <sup>a</sup>	7,1 <sup>d</sup>	230 <sup>g</sup>	530 <sup>df</sup>
	Térmico	19,2 ± 1,5 <sup>bc</sup>	7,1 <sup>a</sup>	7,0 <sup>a</sup>	270 <sup>f</sup>	650 <sup>cd</sup>
	Biológico	19,2 ± 1,5 <sup>bc</sup>	7,1 <sup>b</sup>	7,3 <sup>d</sup>	230 <sup>g</sup>	450 <sup>f</sup>

**Tabla 2.** Características de los efluentes utilizados durante cada uno de los meses de experimento a lo largo de un año. Los suscritos a>b>c>d>e indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada parámetro. NAT: nitrógeno amoniacal total, SST: Sólidos suspendidos totales, DBO: demanda biológica de oxígeno, NR: no reportado.

Mes	NAT (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>2</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> -P (mg L <sup>-1</sup> )	SST (mg L <sup>-1</sup> )	DBO (mg L <sup>-1</sup> )
Oct	1,76 ± 0,23 <sup>ef</sup>	0,40 ± 0,01 <sup>e</sup>	9,97 ± 0,89 <sup>f</sup>	3,95 ± 0,28 <sup>a</sup>	3,51 ± 0,06 <sup>d</sup>	NR
Nov	1,72 ± 0,54 <sup>ef</sup>	0,59 ± 0,02 <sup>cd</sup>	10,70 ± 1,20 <sup>f</sup>	3,24 ± 0,18 <sup>b</sup>	4,04 ± 0,15 <sup>cd</sup>	NR
Dic	0,94 ± 0,39 <sup>f</sup>	0,42 ± 0,03 <sup>d</sup>	21,87 ± 3,21 <sup>e</sup>	2,35 ± 0,17 <sup>de</sup>	NR	NR
Ene	2,23 ± 0,76 <sup>de</sup>	0,43 ± 0,03 <sup>d</sup>	27,01 ± 2,13 <sup>de</sup>	1,63 ± 0,17 <sup>fg</sup>	2,67 ± 0,04 <sup>e</sup>	571 ± 74 <sup>c</sup>
Feb	3,79 ± 0,93 <sup>bcd</sup>	1,95 ± 0,013 <sup>a</sup>	43,67 ± 2,59 <sup>c</sup>	1,74 ± 0,19 <sup>f</sup>	2,67 ± 0,34 <sup>e</sup>	472 ± 52 <sup>c</sup>
Mar	2,54 ± 0,73 <sup>de</sup>	0,98 ± 0,08 <sup>b</sup>	62,07 ± 2,21 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,11 <sup>g</sup>	3,53 ± 0,01 <sup>d</sup>	1283 ± 446 <sup>ab</sup>
Abr	5,29 ± 1,39 <sup>ab</sup>	1,99 ± 0,16 <sup>a</sup>	54,32 ± 1,16 <sup>b</sup>	2,37 ± 0,21 <sup>de</sup>	4,47 ± 0,14 <sup>bc</sup>	645 ± 105 <sup>bc</sup>
May	6,43 ± 1,02 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,02 <sup>d</sup>	53,15 ± 1,23 <sup>b</sup>	2,83 ± 0,23 <sup>c</sup>	5,41 ± 0,31 <sup>a</sup>	716 ± 182 <sup>bc</sup>
Jun	3,64 ± 0,89 <sup>bcd</sup>	0,77 ± 0,21 <sup>bcd</sup>	42,71 ± 1,76 <sup>c</sup>	2,05 ± 0,22 <sup>ef</sup>	4,49 ± 0,32 <sup>bc</sup>	605 ± 105 <sup>bc</sup>
Jul	0,53 ± 0,17 <sup>f</sup>	1,78 ± 0,12 <sup>a</sup>	32,52 ± 2,59 <sup>d</sup>	2,52 ± 0,22 <sup>d</sup>	5,09 ± 0,19 <sup>ab</sup>	1716 ± 148 <sup>a</sup>
Ago	3,52 ± 1,02 <sup>abc</sup>	0,50 ± 0,04 <sup>cd</sup>	29,62 ± 2,38 <sup>d</sup>	3,84 ± 0,31 <sup>a</sup>	4,33 ± 0,32 <sup>c</sup>	1486 ± 90 <sup>a</sup>
Sep	1,10 ± 0,29 <sup>ef</sup>	0,75 ± 0,04 <sup>bc</sup>	59,67 ± 2,29 <sup>a</sup>	2,15 ± 0,09 <sup>e</sup>	3,53 ± 0,11 <sup>d</sup>	1876 ± 505 <sup>a</sup>



**Figura 2.** Concentraciones de nitrógeno amoniacal total (NAT) en digestores con lodos expuestos a cinco diferentes pretratamientos una vez al mes durante un año: a) alcalino, b) control, c) mecánico, d) térmico y e) biológico. Los suscritos a>b>c>d>e>f>g indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada pretratamiento.



**Figura 3.** Concentración de  $\text{N-NO}_2^-$  en digestores con lodos expuestos a los cinco diferentes pretratamientos una vez al mes durante un año: a) alcalino, b) control, c) mecánico, d) térmico y e) biológico. Los suscritos  $a>b>c>d>e>f>g>h$  indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada pretratamiento.

mientras que la concentración más baja se presentó en el pretratamiento biológico.

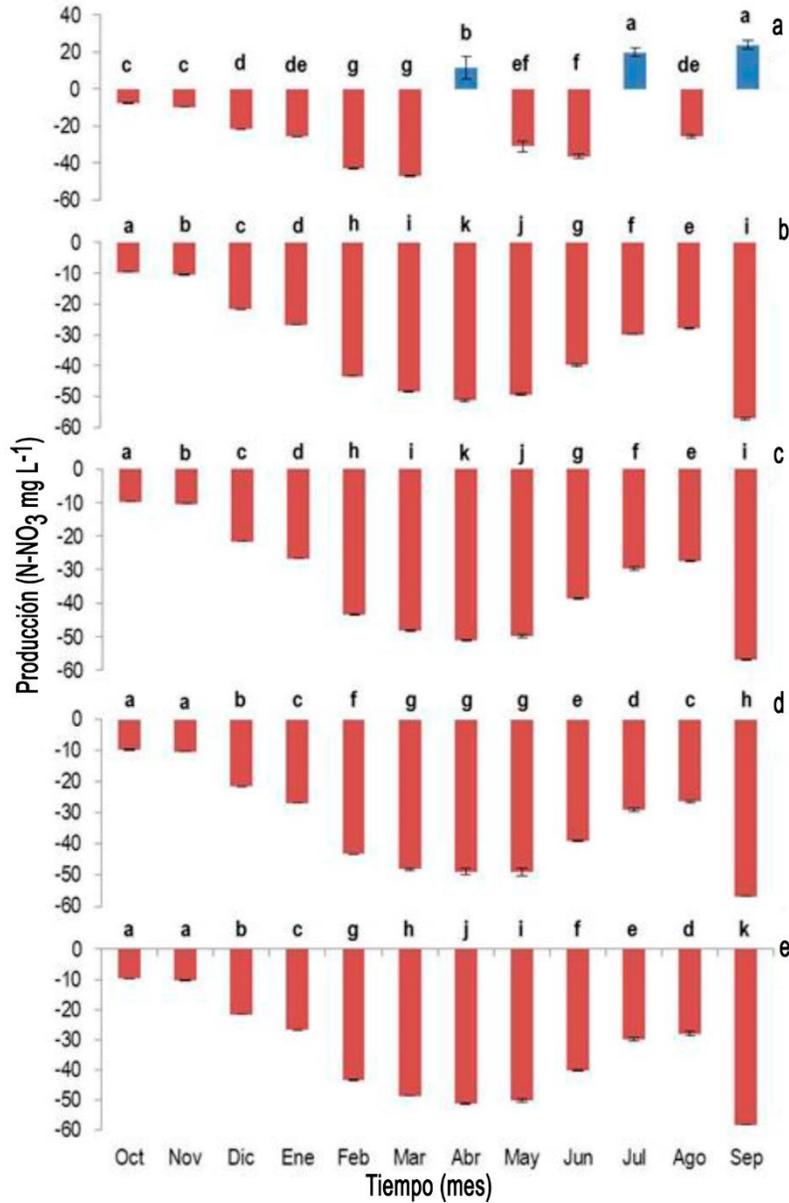
### Nitratos

Se detectaron diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) en la concentración inicial de  $\text{N-NO}_3^-$  entre los meses. La mayor concentración inicial se encontró en marzo y la menor en octubre (Tabla 2). Se detectó que la desnitrificación ocurrió en todos los pretratamientos con una eficiente remoción de los  $\text{N-NO}_3^-$  y se detectaron diferencias significativas ( $P = 0,01$ ) en la concentración final de  $\text{N-NO}_3^-$  entre los meses y entre los pretratamientos ( $P = 0,01$ ) (Fig. 4). La mayor producción se presentó en pretratamiento alcalino en septiembre ( $23,88 \pm 2,19 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ) y la mayor remoción en el pretratamiento biológico en septiembre

( $-58,24 \pm 0,10 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ) (Fig. 4). La concentración final promedio más baja de  $\text{N-NO}_3^-$  se obtuvo en el pretratamiento biológico, mientras que la concentración se obtuvo en el pretratamiento alcalino, siendo significativamente mayor ( $P < 0,001$ ) a la del resto de los pretratamientos.

### Fosfatos

La concentración inicial de fosfato presentó diferencias significativas ( $P = 0,001$ ) entre los meses. La mayor concentración inicial se determinó en octubre y la menor en febrero (Tabla 2). La producción o remoción de  $\text{P-PO}_4^{3-}$  presentó diferencias significativas entre meses ( $P < 0,001$ ) y entre pretratamientos ( $P < 0,001$ ) (Figs. 5a-5e). La mayor producción se observó en pretratamiento térmico en marzo ( $2,71 \pm 0,80 \text{ mg P-}$

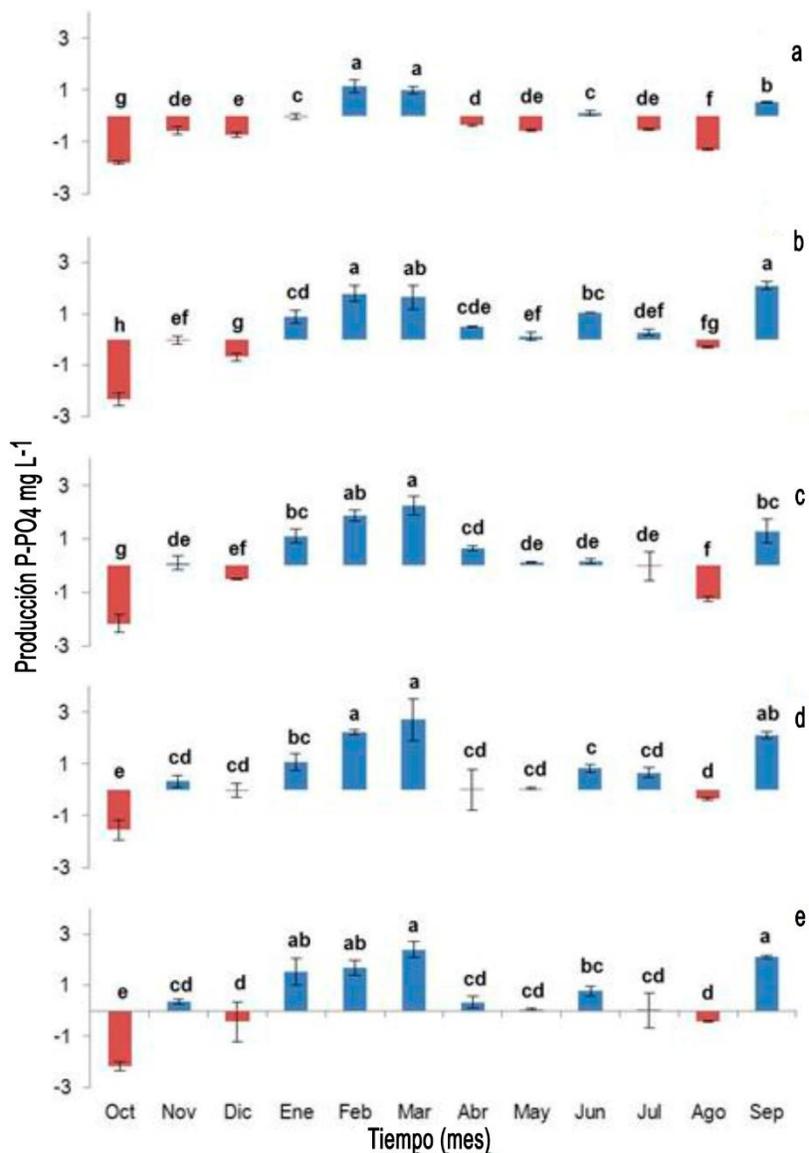


**Figura 4.** Concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  en digestores con lodos expuestos a los cinco diferentes pretratamientos una vez al mes durante un año: a) alcalino, b) control, c) mecánico, d) térmico y e) biológico. Los suscritos a>b>c>d>e>f>g>h>i>j>k indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada pretratamiento.

$\text{PO}_4^{3-} \text{L}^{-1}$ ) mientras que la mayor remoción se observó en el control en octubre ( $2,34 \pm 0,26 \text{ mg P-PO}_4^{3-} \text{L}^{-1}$ ) (Figs. 5d, 5b). Todos los pretratamientos mostraron la mayor remoción en octubre, mientras que en el pretratamiento alcalino se encontró la mayor constancia en la remoción de  $\text{P-PO}_4^{3-}$ . La concentración final promedio de  $\text{P-PO}_4^{3-}$  fue significativamente menor ( $P < 0,001$ ) en el pretratamiento alcalino, mientras que no se observaron diferencias significativas en el resto de los pretratamientos.

#### Sólidos suspendidos totales

La concentración inicial presentó diferencias significativas entre los meses ( $P < 0,001$ ) donde la mayor concentración se encontró en mayo y la menor en enero y febrero (Tabla 2). La remoción de los SST presentó diferencias significativas entre los meses ( $P < 0,001$ ), no así entre pretratamientos ( $P > 0,05$ ). La mayor remoción se presentó en el pretratamiento térmico en noviembre ( $65,5 \pm 2,15\%$ ) y la menor en el control en febrero ( $5,51 \pm 2,59\%$ ) (Fig. 6).



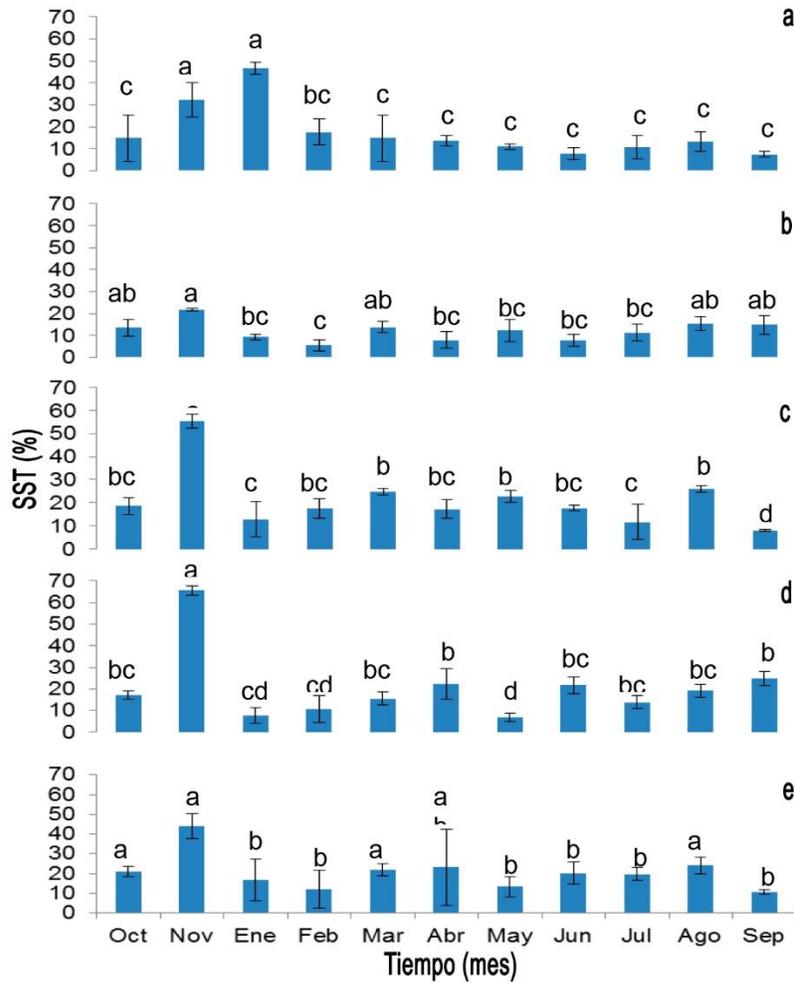
**Figura 5.** Concentración de  $P-PO_4^{3-}$  en digestores con lodos expuestos a los cinco diferentes pretratamientos una vez al mes durante un año: a) alcalino, b) control, c) mecánico, d) térmico y e) biológico. Los suscritos a>b>c>d>e>f>g indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada pretratamiento.

### Producción de biogás

Se encontraron diferencias significativas entre los pretratamientos ( $P < 0,001$ ). El resultado de la producción de biogás fue notablemente mayor en los pretratamientos biológico, térmico y mecánico en comparación con el control. El pretratamiento alcalino no presentó producción de biogás durante ninguno de los doce meses que duró el experimento. La mayor producción de biogás se obtuvo en el pretratamiento biológico en abril, mientras que la menor ocurrió en el control en enero (Tabla 3).

### Disponibilidad de DBO

La DBO inicial fue significativamente diferente entre los meses ( $P < 0,001$ ), el mayor valor ( $1,876 \pm 505 \text{ mg L}^{-1}$ ) se observó en septiembre y el menor ( $472 \pm 52 \text{ mg L}^{-1}$ ) en febrero (Tabla 2). La DBO en todos los pretratamientos y los meses presentó en su mayoría, un aumento en relación con la DBO inicial, observándose diferencias significativas entre los meses ( $P < 0,001$ ) y entre pretratamientos ( $P < 0,001$ ). La DBO final mayor se detectó en marzo en el control y la DBO menor en mayo en el pretratamiento térmico (Tabla 3).



**Figura 6.** Porcentaje de remoción de los sólidos suspendidos totales SST en digestores con lodos expuestos a los cinco diferentes pretratamientos ca da mes durante un año: a) alcalino, b) control, c) mecánico, d) térmico y e) biológico. Los suscritos a>b>c>d indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada pretratamiento.

## DISCUSIÓN

### Factores físicos y químicos

En base a las temperaturas registradas en cada una de las doce corridas experimentales realizadas por el periodo de un año, se determinó que la digestión anaeróbica fue realizada por bacterias psicrófilas (Marchaim, 1992). La temperatura tiene un efecto en las propiedades de los componentes encontrados (NAT,  $N-NO_2^-$ ,  $N-NO_3^-$ ,  $P-PO_4^{-3}$ ) en los lodos, además de influenciar la tasa de crecimiento y el metabolismo de los microorganismos (Appels *et al.*, 2008). El pretratamiento de aguas residuales a temperaturas moderadamente bajas, no es un factor limitante, siempre y cuando exista un proceso de adaptación para los microorganismos que realizan los procesos anaeróbicos (Hulshoff, 1995; Van Lier, 1996; Lettinga *et al.*, 2001).

El pH registrado en los 12 meses en todos los pretratamientos a excepción del alcalino, en promedio varió entre 6 y 7,5, que es adecuado para que en los digestores efectuaran proceso de digestión anaeróbica, ya que cuando el pH es  $>6$  ó  $<9$  se inhibe el proceso de acetogénesis (Patrick & Wyatt, 1964; Campos & Flotats, 2003; Huiliñir *et al.*, 2008), metanogénesis (Boe, 2006; Turovskiy & Mathai, 2006) y la desnitrificación (Estuardo *et al.*, 2008). La disminución del pH se encuentra inherentemente asociada a la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) durante la digestión anaeróbica (STORA, 1985). De igual forma, la producción de  $CO_2$  puede acidificar el medio acuoso, debido a que al hidratarse forma ácido carbónico ( $H_2CO_3$ ) con alto grado de ionización lo que disminuye concomitantemente el potencial hidrógeno (pH) (Graef & Andrews, 1974).

**Tabla 3.** DBO promedio mensual final y producción de biogás en lodos expuestos a diferentes pretratamientos. Los suscritos a>b>c>d indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los meses para cada pretratamiento. DBO: demanda biológica de oxígeno.

Mes	Pretratamientos								
	Alcalino	Control		Mecánico		Térmico		Biológico	
	DBO	DBO	Biogás	DBO	Biogás	DBO	Biogás	DBO	Biogás
Ene	1000 ± 157 <sup>e</sup>	863 ± 139 <sup>d</sup>	12.3 ± 2.51 <sup>b</sup>	907 ± 76 <sup>d</sup>	24.3 ± 4.1 <sup>bc</sup>	488 ± 121 <sup>b</sup>	26.7 ± 5.8 <sup>de</sup>	497 ± 46 <sup>cd</sup>	28.3 ± 2.9 <sup>c</sup>
Feb	1860 ± 30 <sup>bcd</sup>	1593 ± 29 <sup>b</sup>	14.0 ± 1.73 <sup>b</sup>	1863 ± 25 <sup>abc</sup>	21.0 ± 3.6 <sup>c</sup>	627 ± 72 <sup>ab</sup>	23.3 ± 2.9 <sup>e</sup>	797 ± 46 <sup>cd</sup>	26.7 ± 5.8 <sup>c</sup>
Mar	3063 ± 267 <sup>a</sup>	1792 ± 343 <sup>b</sup>	25.0 ± 13.2 <sup>a</sup>	2100 ± 379 <sup>ab</sup>	45.0 ± 5.0 <sup>a</sup>	800 ± 167 <sup>ab</sup>	38.3 ± 2.9 <sup>bcd</sup>	875 ± 185 <sup>cd</sup>	21.7 ± 2.9 <sup>c</sup>
Abr	1444 ± 328 <sup>ade</sup>	1511 ± 24 <sup>bc</sup>	12.5 ± 2.5 <sup>b</sup>	1525 ± 498 <sup>bcd</sup>	28.3 ± 2.8 <sup>bc</sup>	545 ± 145 <sup>b</sup>	48.3 ± 7.6 <sup>ab</sup>	803 ± 77 <sup>c</sup>	66.7 ± 2.9 <sup>a</sup>
May	1044 ± 328 <sup>e</sup>	1106 ± 65 <sup>cd</sup>	20.0 ± 5.0 <sup>ab</sup>	1137 ± 71 <sup>d</sup>	46.7 ± 2.8 <sup>a</sup>	387 ± 66 <sup>b</sup>	45.0 ± 5.0 <sup>abc</sup>	471 ± 29 <sup>d</sup>	55.0 ± 5.0 <sup>ab</sup>
Jun	1663 ± 394 <sup>bcd</sup>	1407 ± 78 <sup>bc</sup>	26.7 ± 2.8 <sup>a</sup>	1145 ± 85 <sup>d</sup>	54.0 ± 3.6 <sup>a</sup>	625 ± 145 <sup>ab</sup>	51.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	500 ± 326 <sup>cd</sup>	55.0 ± 5.0 <sup>ab</sup>
Jul	1233 ± 122.2 <sup>de</sup>	1530 ± 79 <sup>b</sup>	26.7 ± 2.8 <sup>a</sup>	2283 ± 231 <sup>a</sup>	54.0 ± 3.6 <sup>a</sup>	1030 ± 36 <sup>ab</sup>	51.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	1630 ± 20 <sup>ab</sup>	55.0 ± 5.0 <sup>ab</sup>
Ago	1943 ± 80 <sup>bc</sup>	2237 ± 102 <sup>a</sup>	21.7 ± 2.8 <sup>ab</sup>	1470 ± 144 <sup>bcd</sup>	31.7 ± 2.8 <sup>b</sup>	1370 ± 606 <sup>a</sup>	33.3 ± 2.9 <sup>cde</sup>	1422 ± 101 <sup>b</sup>	55.0 ± 5.0 <sup>ab</sup>
Sep	2250 ± 101 <sup>b</sup>	1623 ± 130 <sup>b</sup>	23.3 ± 2.8 <sup>a</sup>	1363 ± 64 <sup>cd</sup>	28.3 ± 2.8 <sup>bc</sup>	1097 ± 448 <sup>b</sup>	38.3 ± 2.9 <sup>bcd</sup>	1943 ± 80 <sup>a</sup>	43.3 ± 2.9 <sup>b</sup>

En todos los pretratamientos en las doce corridas experimentales se observó un aumento en la alcalinidad a lo largo de los 15 días de TRH. Este incremento se explica de dos formas: 1) la presencia de bacterias metanogénicas que produjeron alcalinidad (alcalinidad de carbonatos) en forma de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  y  $\text{HCO}_3^-$  (Turovskiy & Mathai, 2006; Appels *et al.*, 2008), 2) la desnitrificación en condiciones anaeróbicas produce 3,57 g  $\text{HCO}_3^-$  por cada  $\text{g}^{-1}$  N que se remueve (Liher, 1995; Henze, 1997). El incremento en la alcalinidad puede ser utilizado como un indicador de un proceso de desnitrificación eficiente, ya que tiene una correlación inversa con la concentración de nitrógeno (Li & Irvin, 2007).

## Remoción de nutrientes

### Nitrógeno amoniacal total

En la fase experimental se presentó una producción constante de NAT. La concentración inicial de NAT varió de acuerdo al ciclo de producción y la época del año. Sólo en febrero se observó una disminución en la concentración en todos los pretratamientos ( $-2,13 \pm 0,23$  NAT  $\text{mg L}^{-1}$ ) y esto se debió a la baja temperatura con un pH cercano a la neutralidad en casi todos los pretratamientos, así como una baja en la DBO. El estado de óxido-reducción del amonio depende de la temperatura y el pH del medio, mediante la alteración de estas dos variables es posible modificar el equilibrio hacia el gas  $\text{NH}_3$  (Arogo *et al.*, 1999; Lei *et al.*, 2007). En todos los pretratamientos a excepción del alcalino, se presentó una alta producción de NAT durante todos los meses y consistentemente el pretratamiento con la mayor producción fue el térmico y el menor, el mecánico.

La temperatura tuvo un efecto en la concentración de NAT, registrándose en los meses cálidos la mayor

producción de NAT, mientras que la menor se obtuvo en los meses más fríos. Los aumentos en temperatura tuvieron como consecuencia un incremento en la tasa de amonificación de la materia orgánica, la cual fue aún mayor en TRH más largos. Conforme el TRH se incrementa, también lo hace la concentración de NAT (Stewart *et al.*, 2006). Cuando ocurre un incremento de  $10^\circ\text{C}$  en la temperatura, se duplica la tasa de amonificación (Reddy & Patrick, 1979). En digestores anaeróbicos también han sido reportados incrementos en la concentración de NAT de 129 a 218  $\text{mg L}^{-1}$  en efluentes de cultivo de salmón que tienen una temperatura de  $35^\circ\text{C}$  (Gebauer & Eikebrokk, 2006).

### Nitritos y nitratos

Ambos nutrientes se producen tanto en los procesos de nitrificación como de desnitrificación. La nitrificación que todavía ocurre en los primeros 1-2 días de TRH, se efectuó en los efluentes por las bacterias nitrificantes contenidas en el exceso de biopelícula provenientes del producto de retrolavado de los filtros biológicos (Timmons & Ebeling, 2007). La desnitrificación fue realizada por las bacterias heterótrofas que usaron el carbono orgánico (sólidos totales) como donador de electrones (Knowles, 1982). En el caso de los digestores anaeróbicos utilizados en nuestro trabajo, la fuente de carbono provista por los procesos de digestión anaeróbica fueron los mismos sólidos (Klas *et al.*, 2006; Chávez & Obreque, 2010). El pretratamiento alcalino siempre tuvo las mayores concentraciones de  $\text{N-NO}_2^-$  debido a que a pH altos se inhiben los procesos de nitrificación y desnitrificación.

El pH  $> 6$  en todos los experimentos, tuvo un efecto en la remoción de  $\text{N-NO}_2^-$  y  $\text{N-NO}_3^-$  en todos los pretratamientos al favorecer el crecimiento de los microorganismos anaeróbicos y desnitrificadores (Campos

& Flotats, 2003; Estuardo *et al.*, 2008). La temperatura también tuvo un papel importante en la tasa de desnitrificación en los reactores anaeróbicos, el cambio de temperatura de 10 a 35°C, incidió en un aumento de la tasa de desnitrificación, de 1,5 a 3 veces (Dawson & Murphy, 1972; Bailey & Beauchamp, 1973; Stanford *et al.*, 1975). Estos resultados coinciden con los reportado por Fontenot *et al.* (2007) quienes observaron tasas de remoción de 100% del NO<sub>3</sub>-N cuando la temperatura del efluente fue de 22°C.

Las altas concentraciones de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en los efluentes fueron removidas casi en su totalidad en cada corrida experimental y en todos los meses sin que se detectaran diferencias entre los pretratamientos a los 15 días de TRH. La aplicación de cualquiera de los pretratamientos permitió un incremento en la tasa de desnitrificación superior al 90%, así como en la tasa de degradación de materia orgánica, que fue utilizada como una fuente de carbono en los procesos de desnitrificación (Muller, 2000; Dytczak *et al.*, 2007; Carrère *et al.*, 2010). Este mismo comportamiento fue descrito por Fontenot *et al.* (2007), quienes observaron remociones del 100% del N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y mayores al 89% para las otras especies de N presentes en el efluente de un cultivo de camarón. El pretratamiento de efluentes de un cultivo de tilapia en SRA donde los sólidos se concentraron usando bolsas geotextiles y después fueron expuestos a condiciones anaeróbicas, lograron remociones >99% de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Sharrer *et al.*, 2009; Guerdat, *et al.*, 2013).

### Fosfatos

Las condiciones ambientales de los biodigestores en todos los pretratamientos fueron propicias para la reducción/eliminación del P-PO<sub>4</sub>. Sin embargo, la concentración se incrementó conforme fue aumentando el TRH (Ucisik & Henze, 2008). En todos los pretratamientos, fenómenos como la lixiviación de la materia orgánica, causaron un aumento significativo del fósforo reactivo debido a las condiciones anaeróbicas en los digestores. Para que la remoción de los fosfatos se realice, los organismos acumuladores del fosfato (OAP's) requieren condiciones anaeróbicas (Lee *et al.*, 2001). Uno de los procesos con los cuales se logra la precipitación de la molécula de fosfato es a través de procesos químicos (Stratful *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2010). El agente químico debe ser un ácido-base débil, cationes y otras especies químicas que se crean a partir del apareamiento de iones con el P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> en la fase acuosa (Barat *et al.*, 2011). En este experimento no se utilizó ningún proceso físico o químico para remover los fosfatos, por lo que el incremento en las concentraciones fue constante, excepto durante agosto y octubre donde todos los

pretratamientos mostraron una disminución en su concentración. El único pretratamiento que mostró una reducción en la concentración en la mayoría de los meses fue el alcalino, donde se observaron concentraciones finales de 0,03-1,8 mg L<sup>-1</sup> P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> lo que significó una remoción del 54,4 al 99,9%. En el pretratamiento alcalino, el pH presentó valores entre 9-12, el pH al ser mayor a 8, se provoca una reducción en la concentración de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> (Zhu *et al.*, 2001). Esto se debió a que la precipitación del P tiene como requisito un pH más alto, lo cual incrementa la eficiencia de remoción (Doyle & Parson, 2002; Mogensen *et al.*, 2003; Pind *et al.*, 2003).

En los digestores se observó que la concentración de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> aumentó conforme aumentaba la temperatura. La liberación de P se incrementa conforme aumenta la temperatura, observándose que cuando cambia de 15 a 30°C, la liberación de PT se incrementa a más del doble al aumentar la actividad metabólica de las bacterias liberando el P en el agua (Jiang *et al.*, 2008; Zheng *et al.*, 2013).

### Sólidos suspendidos totales

En cada una de las corridas experimentales a lo largo de los 12 meses que duró el experimento, se observó una mayor degradación de los SST cuando fueron expuestos a los diferentes pretratamientos (biológico, mecánico, térmico y alcalino). En la mayoría de los meses, el pretratamiento control presentó la menor tasa de degradación de SST. En el pretratamiento térmico, los altos niveles de degradación fueron causados por el incremento inicial de la temperatura, que promovió una efectiva hidrólisis de sustancias orgánicas (Carrère *et al.*, 2010). En todos los pretratamientos la tasa de degradación varió entre 14,6 y 22,2% (Fig. 6). El objetivo de los diferentes pretratamientos fue de optimizar el proceso de hidrólisis, obteniendo buenos resultados en la estabilización y reducción de los SST. Las células deben romperse por algún tipo de pretratamiento químico, físico o biológico para obtener una mayor solubilidad de la materia orgánica, menor producción de lodos y mayor producción de biogás en comparación con la digestión anaerobia clásica (USEPA, 1993; Van Lier *et al.*, 2001; Carrère *et al.*, 2010; Rani *et al.*, 2012).

Kim *et al.* (2003) usaron un pretratamiento mecánico (ultrasonido), obteniendo en 7 días de TRH una tasa de reducción de SST entre 56 y 89% con un pretratamiento térmico. Bougrier *et al.* (2006), reportaron una disminución del 80% en los lodos después de aplicar pretratamiento térmico a 170°C. En contraste, los pretratamientos térmicos a 40°C, 90°C y con autoclave a 121°C tuvieron menores tasas de degradación, 5%, 6% y 7% respectivamente (Barjenbruch

& Kopplow, 2003). El aumento de la temperatura en los digestores tiene un efecto directo en la reducción de los TRH al aumentar la tasa de degradación de los SST de los efluentes de un SRA (Tchobanoglous *et al.*, 2003).

### Producción de biogás

En la digestión anaeróbica de los lodos además de reducirse el contenido de lodos, hay una producción de biogás que puede ser valorizado energéticamente (Appels *et al.*, 2008). La producción de biogás se ve altamente beneficiada por la aplicación de pretratamientos en los lodos logrando una mayor estabilización, degradabilidad y en consecuencia, un incremento en la producción en comparación con la digestión anaeróbica clásica (Pham *et al.*, 2009). De los pretratamientos, en el único que no produjo biogás fue el pretratamiento alcalino debido a las altas concentraciones de NaOH que inhibieron a las bacterias anaeróbicas (McCarty, 1964). Los otros pretratamientos mostraron un incremento en la producción de biogás, lo cual se asocia al mejoramiento del proceso de hidrólisis de los lodos (Carrère *et al.* 2010), donde se presenta una lisis de la pared celular de las bacterias así como de material orgánico degradable, que es transformando en compuestos fácilmente biodegradables (Weemaes & Verstraete, 1998).

La temperatura ambiental tuvo un efecto significativo en la producción de biogás ya que conforme aumentaba, se incrementó la producción de biogás (Rehm *et al.*, 2000). El TRH es también importante, ya que después de ocho días la digestión de la MO se estabilizó, incrementándose así la producción de AGV, que son los intermediarios más importantes en el proceso de digestión anaeróbica (Li & Noike, 1989; Appels, *et al.*, 2008), incrementando la producción de metano (Mechichi & Sayadi, 2005; Appels *et al.*, 2008). Rani *et al.* (2012), observaron alta tasa de producción de biogás durante los primeros días del periodo de incubación de lodos de los efluentes y dicha tasa de producción se ve reducida conforme el TRH aumenta, ya que la cantidad de compuestos volátiles disponibles en el digestor disminuye. Esto indica que en lodos de un efluente de un SRA, la aplicación de pretratamientos resulta en un efectivo incremento en la velocidad de los procesos de digestión y el grado de degradación de lodos, reduciendo así el TRH para la digestión anaeróbica e incrementando la producción de biogás (Muller, 2000).

### Disponibilidad de DBO

La DBO es un método que cuantifica la cantidad de oxígeno necesario por los microorganismos para oxidar la MO, se puede usar para cuantificar la masa potencial de carbono disponibles para realizar los procesos de

desnitrificación y digestión anaeróbica (Hamlin *et al.*, 2008). Al determinar el DBO inicial y final (días 0 y 15) en los pretratamientos, se observó un incremento, siendo el pretratamiento biológico significativamente menor al resto de los pretratamientos. La DBO mayor se registró en el pretratamiento térmico y en el control con un promedio de  $1722 \pm 660 \text{ mg L}^{-1}$  y  $1775 \pm 708 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente (Tabla 3). En los cinco pretratamientos existió suficiente carbono para que se efectuara en forma simultánea la desnitrificación como la digestión anaeróbica aún después de 15 días de TRH. La remoción de la materia orgánica en digestores anaeróbicos se puede realizar por tres procesos: 1) conversión de la materia orgánica a metano, 2) desnitrificación, y 3) síntesis de nueva biomasa (Barker & Dold, 1995; De la Rubia *et al.*, 2006).

En los meses con temperaturas más altas, el DBO fue significativamente más alto que en el resto de los meses, lo que indica que al aumentar la temperatura hubo un aumento en la solubilidad de los compuestos orgánicos y en consecuencia un aumento en la concentración de DBO (Boe, 2006; Rehm *et al.*, 2000). Los aumentos en temperatura tienen como consecuencia un incremento en la velocidad de las reacciones biológicas y químicas en los lodos, provocando una rápida degradación de la materia orgánica en un menor periodo de tiempo (Rehm *et al.*, 2000).

La cantidad de materia orgánica en los efluentes acuícolas fue alta mientras que la tasa de digestión fue baja, esto se hizo evidente ya que el DBO medido en los digestores al final de 15 días de TRH fue mayor al inicial (presentándose los mayores incrementos en el pretratamiento térmico y control), lo que indica una liberación constante de DBO soluble. Este incremento en el DBO está asociado a la ruptura de las uniones químicas en las paredes celulares y membranas por lo que el material intracelular orgánico se liberó a la fase líquida, aumentando así el DBO y el carbono orgánico disuelto (COD) (Appels *et al.*, 2010; Banu *et al.*, 2012).

## CONCLUSIONES

Los pretratamientos utilizados en este estudio resultaron efectivos y redujeron de manera significativa la concentración de N-NO<sub>3</sub> y los SST en un periodo de tiempo relativamente corto (5 a 15 días). La aplicación de cualquiera de los cuatro pretratamientos incrementó la solubilidad de la MO, la cual a su vez, aumentó la producción de biogás. La DBO en los digestores se incrementó durante los primeros 5 a 10 días de TRH como resultado del incremento en la liberación del material orgánico soluble, siendo más efectiva en el pretratamiento biológico. El pretratamiento biológico presentó la mayor remoción de N-NO<sub>2</sub>, N-NO<sub>3</sub> y la

mayor producción de biogás. La aplicación de un pretratamiento biológico en los efluentes acuícolas puede resultar en un mejoramiento en los procesos de desnitrificación y digestión anaeróbica, reduciendo el TRH requerido para una completa remoción de N-NO<sub>3</sub>, así como una alta remoción de lodos y una mayor producción de biogás en comparación con el resto de los pretratamientos aplicados. El pretratamiento biológico además es de bajo costo comparado con el resto de los pretratamientos utilizados en esta investigación, debido a que requiere un menor consumo de energía y no hay costos elevados de operación por la compra de aparatos, consumo de energía y uso de reactivos.

### AGRADECIMIENTOS

Este artículo es parte de la tesis de doctorado del M. en C. Juan Pablo González Hermoso. Este estudio fue en parte financiado por el proyecto interno número 623148 del CICESE. Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca para la realización de los estudios de posgrado de Juan Pablo González Hermoso y a la Dra. Carmen Paniagua Chávez por la revisión de este manuscrito.

### REFERENCIAS

- American Public Health Association (APHA). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington, 1496 pp.
- Appels, L., J. Baeyens, J. Degréve & R. Dewil. 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Prog. Energy Combust. Sci.*, 34: 755-781.
- Arogo, J., R.H. Zhang, G.L. Riskowski, L.L. Christianson & D.L. Day. 1999. Mass transfer coefficient of ammonia in liquid swine manure and aqueous solutions. *J. Agric. Eng. Res.*, 73: 77-86.
- Bailey, L.D. & E.G. Beauchamp. 1973. Effects of temperature on NO<sup>-3</sup> and NO<sup>-2</sup>- reduction, nitrogenous gas production, and redox potential in a saturated soil. *Can. J. Soil Sci.*, 53: 213-218.
- Banu, J.R., S. Kaliappan, S. Adishkumar, D.K. Uan & I.T. Yeom. 2012. A novel method of sludge pretreatment using the combination of alkalis. *J. Environ. Biol.*, 33: 249-253.
- Barat, R., T. Montoya, A. Seco & J. Ferrer. 2011. Modelling biological and chemically induced precipitation of calcium phosphate in enhanced biological phosphorus removal systems. *Water Res.*, 45: 3744-3752.
- Barjenbruch, M. & O. Kopplow. 2003. Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge. *Adv. Environ. Res.*, 7: 715-720.
- Barker, P.S. & P.L. Dold. 1995. COD and nitrogen mass balances in activated sludge systems. *Water Res.*, 29: 633-643.
- Boe, K. 2006. Online monitoring and control of the biogas process. Ph.D. Thesis, University of Denmark, Copenhagen, 47 pp.
- Boltz, D.F. 1958. Colorimetric determination of nonmetals. Interscience, New York, 372 pp.
- Bougrier, C., J.P. Delgenes & H. Carrere. 2006. Combination of thermal treatments and anaerobic digestion to reduce sewage sludge quantity and improve biogas yield, *Process Saf. Environ. Protect.*, 84: 280-284.
- Campos, E. & X. Flotats. 2003. Dynamic simulation of pH in anaerobic processes. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 109: 63-76.
- Carrère, H., C. Dumasa, A. Battimellia, D.J. Batstoneb, J.P. Delgenèsa, J.P. Steyera & I. Ferrer. 2010. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. *J. Hazard. Mater.*, 183: 1-15.
- Chávez, C.P. & J.C. Obreque. 2010. Bioremediation of aquaculture wastes. *Current Opinion in Biotechnol.*, 21: 313-317.
- Corneau, Y., J. Brisson, J.P. Réville, C. Forget & A. Drioz. 2001. Phosphorus removal from trout farm effluents by constructed wetlands. *Water Sci. Technol.*, 44: 55-60.
- Cripps, S.J. & A. Bergheim. 2000. Solids management and removal for intensive land based aquaculture production systems. *Aquacult. Eng.*, 22: 33-56.
- Dawson, R.N. & K.L. Murphy. 1972. The temperature dependence of biological denitrification. *Water Res.*, 6: 71-83.
- De la Rubia, M.A., M. Perez, L.I. Romero & D. Sales. 2006. Effect of solids retention time (SRT) on pilot scale anaerobic thermophilic sludge digestion. *Process. Biochem.*, 41: 79-86.
- Doyle, J.D. & S.A. Parsons. 2002. Struvite formation, control and recovery, *Water Res.*, 36: 3925-3940.
- Dytczak, M.A., K.L. Londry, H. Siegrist & J.A. Oleszkiewicz. 2007. Ozonation reduces sludge production and improves denitrification, *Water Res.*, 41: 543-550.
- Elefsiniotis, P. & W.K. Oldham. 1994. Substrate degradation patterns in acidphase anaerobic digestion of municipal primary sludge. *Environ. Technol.*, 15: 741-751.

- Estuardo, C., M.C. Marti, C. Huiliñir, E.A. Lillo & M.R. Von Bennewitz. 2008. Improvement of nitrate and nitrite reduction rates prediction. *Electr. J. Biotechnol.*, 11: 6-9.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Food and Agriculture Organization, Roma, 253 pp.
- Fontenot, Q., C. Bonvillain, M. Kilgen & R. Boopathy. 2007. Effects of temperature, salinity and carbon: nitrogen ratio on sequencing batch reactor treating shrimp aquaculture wastewater. *Bioresour. Technol.*, 90: 1700-1703.
- Gavala, H.N., U. Yenal, I.V. Skiadas, P. Westermann & B.K. Ahring. 2003. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. Effect of pre-treatment at elevated temperature. *Water Res.*, 37: 4561-4572.
- Gebauer, R. & R. Eikebrokk. 2006. Mesophilic anaerobic treatment of sludge from salmon smolt hatching. *Biores. Technol.*, 97: 2389-2401.
- Graef, S.P. & J.F. Andrews. 1974. Stability and control of anaerobic digestion. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 46: 667-682.
- Guerdat, T.C., T.M. Losordo, D.P. DeLong & R.D. Jones. 2013. An evaluation of solid waste capture from recirculating aquaculture systems using a geotextile bag system with a flocculant. *Aquacult. Eng.*, 54: 1-8.
- Hamlin, H.J., J.T. Michaels, C.M. Beaulaton, W.F. Graham, W. Dutt, P. Steinbach, T.M. Losordo, K.K. Schrader & K.L. Main. 2008. Comparing denitrification rates and carbon sources in commercial scale upflow denitrification biological filters in aquaculture. *Aquacult. Eng.*, 38: 79-92.
- Henze, M. 1997. Basic biological processes. In: U. Förstner, R. Murphy & W.H. Rulkens (eds.). *Wastewater treatment: biological and chemical processes*. Springer Verlag, Berlin, pp. 11-111.
- Hoather, R.C. & R.F. Rackham. 1959. Oxidised nitrogen in waters and sewage effluents observed by ultra-violet spectrophotometry. *Analyst*, 84(1002): 548-551.
- Holmer, M. & E. Kristensen. 1992. Impact of marine fish cage farming on metabolism and sulfate reduction of underlying sediments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 80: 191-201.
- Huiliñir, C., E. Roa, D. Vargas & E. Aspé. 2008. Kinetics of syntrophic acetogenesis in a saline medium. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 83: 1433-1440.
- Hulshoff, P. 1995. Waste characteristics and factors affecting reactor performance. Lecture notes by Hulshoff Pol in International Course on Anaerobic Wastewater Treatment, Wageningen Agriculture University, The Delft, Netherlands, 52: 157-162.
- Jiang, X., X. Jin, Y. Yao, L. Li & F. Wu. 2008. Effects of biological activity, light, temperature and oxygen on phosphorus release processes at the sediment and water interface of Taihu Lake, China. *Water Res.*, 42: 2251-2259.
- Kim, J., C. Park, T. Kim, M. Lee, S. Kim & S. Kim. 2003. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *J. Biosci. Bioeng.*, 95: 271-275.
- Klas, S., N. Mozes & O. Lahav. 2006. Development of a single-sludge denitrification method for nitrate removal from RAS effluents: lab-scale results vs model prediction. *Aquaculture*, 259: 342-353.
- Knowles, R. 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev. Mar.*, 4: 3-70.
- Lee, D.S., C.O. Jeon & J.M. Park. 2001. Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system. *Water Res.*, 35: 3968-3976.
- Lei, X., N. Sugiura, C. Feng & T. Maekawa. 2007. Pretreatment of anaerobic digestion effluent with ammonia stripping and biogas purification. *J. Hazard. Mater.*, 145: 391-397.
- Lettinga, G., S. Rebac & G. Zeeman. 2001. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends Biotechnol.*, 19: 363-370.
- Li, B. & S. Irvin. 2007. The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification and denitrification in a sequencing batch reactor (SBR). *Biochem. Eng. J.*, 34: 248-255.
- Li, Y. & T. Noyke. 1989. The effect of thermal pretreatment and retention time on the degradation of waste activated sludge in anaerobic digestion. *Japan J. Water Pollut. Res.*, 12: 112-121.
- Lihner, S. 1995. Effect of pH on metals precipitation in denitrifying biofilms. *Water Sci. Tech.*, 32: 179-183.
- Marchaim, U. 1992. Biogas processes for sustainable development. FAO, Rome, pp. 95-96.
- McCarty, P.L. 1964. Anaerobic waste treatment fundamentals. *Public Works*, 95: 110-112.
- McDermott, B.L., D. Chalm & J. Goodwin. 2001. Ultrasonication as a pre-treatment method for the enhancement of the psychrophilic anaerobic digestion of aquaculture effluents. *Environ. Technol.*, 22: 823-830.
- Mechichi, T. & S. Sayadi. 2005. Evaluating process imbalance of anaerobic digestion of olive mill wastewaters. *Process Biochem.*, 40: 139-45.
- Mirzoyan, N., Y. Tal & A. Gross. 2010. Anaerobic digestion of sludge from intensive recirculating aquaculture systems: review. *Aquaculture*, 306: 1-6.
- Mirzoyan, N., S. Parnes, A. Singer, Y. Tal, K. Sowers & A. Gross. 2008. Quality of brackish aquaculture

- Sludge and its suitability for anaerobic digestion and methane production in an upflow anaerobic Sludge blanket (UASB) reactor. *Aquaculture*, 279: 35-41.
- Mogensen, A., J. Dolfing, F. Haagensen & B. Ahring. 2003. Potential for anaerobic conversion of xenobiotics. *Biomethanation*, II: 69-134.
- Muller, J.A. 2000. Pretreatment processes for the cycling and reuse of sewage sludge. *Water Sci. Technol.*, 42:167-174.
- Nydahl, F. 1976. On the optimum conditions for the reduction of nitrate to nitrite by cadmium. *Talanta*, 23: 349-357.
- Parkin, G.F. & W.F. Owen. 1986. The fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludge. *J. Environ. Eng.*, 112: 876-820.
- Patrick, W.H. & R. Wyatt. 1964. Soil nitrogen loss as a result of alternate submergence and drying. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 28: 647-653.
- Pham, T.T.H., S.K. Brar, R.D.T Yagi & R.Y. Surampalli. 2009. Ultrasonication of wastewater sludge consequences on biodegradability and flowability. *J. Hazard. Mater.*, 163: 891-898.
- Piedrahita, R. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture*, 226: 35-44.
- Pind, P., I. Angelidaki, B. Ahring, K. Stamatelatou & G. Lyberatos. 2003. Monitoring and control of anaerobic reactors. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 82: 135-182.
- Rani, R.U., S.A. Kumar, S. Kaliappan, I.T. Yeom & J.R. Banu. 2012. Low temperature thermo-chemical pretreatment of dairy waste activated sludge for anaerobic digestion process. *Bioresour. Technol.*, 103: 415-424.
- Reddy, K.R. & W.H. Patrick Jr. 1979. Nitrogen fixation in flooded soil. *Soil Sci.*, 128: 80-85.
- Rehm, H.J., G. Reed, A. Puhler & P.J.W. Stadler. 2000. *Biotechnology. Environmental processes I*. Wiley, New York, Vol. 11A: 612 pp.
- Rustrian, E., Delgenes, J.P. Bernet & N.R. Moletta. 1997. Nitrate reduction in acidogenic reactor: influence of wastewater COD/N-NO<sub>3</sub> ratio on denitrification and acidogenic activity. *Environ. Technol.*, 18: 309-315.
- Sharrer, M.J., K. Rishel & S.T. Summerfelt. 2009. Evaluation of geotextile filtration applying coagulant and flocculant amendments for aquaculture biosolids dewatering and phosphorus removal. *Aquacult. Eng.*, 40: 1-10.
- Sharrer, M., K. Rishel, A. Taylor, B.J. Vinci & S.T. Summerfelt. 2010. Cost and effectiveness of solids thickening technologies for treating backwash and recovering nutrients from intensive aquaculture systems. *Bioresour. Technol.*, 100: 6630-6641.
- Sindilariu, P.D., A. Brinker & R. Reiter. 2009. Waste and particle management in a commercial partially recirculating trout farm *Aquacult. Eng.*, 40: 127-135.
- Solorzano, L. & J.H. Sharp. 1969. Determination of total dissolved nitrogen in natural waters. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 751-754.
- Stanford, G., S. Dzienia & R.A. Vander-Pol. 1975. Effect of temperature on denitrification rate in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39: 867-870.
- Stewart, N.T., G.D. Boardman & L.A. Helfrich. 2006. Treatment of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) raceway effluent using baffled sedimentation and artificial substrates. *Aquacult. Eng.*, 35: 166-178.
- Stichting Toegepast Onderzoek Reiniging Afvalwater (STORA). 1985. *Optimalisatie van de gistings gas productie. Handboek voorkomen en bestrijden van licht silb*, Amsterdam, 75 pp.
- Stratful, I., S. Brett, M.B. Scrimshaw & J.N. Lester. 1999. Biological phosphorus removal, its role in phosphorus recycling. *Environ. Technol.*, 20: 681-695.
- Sumico, T., K. Isaka, H. Ikuta, Y.I. Saiki & T. Yokota. 2006. Nitrogen removal from wastewater using simultaneous nitrate reduction and anaerobic ammonium oxidation in single reactor. *J. Biosci. Bioeng.*, 102: 346-351.
- Summerfelt, S.T. & B.J. Vinci. 2008. Better management practices for recirculating aquaculture systems. *Environ. Best Manage. Pract. Aquacult.*, pp. 389-426.
- Timmons, M.B. & J.M. Ebeling. 2007. *Recirculating systems*. Northeastern Regional Aquaculture Center, Ithaca, New York, 775 pp.
- Tchobanoglous, G., L.B. Franklin & H.D. Stensel. 2003. *Wastewater engineering: treatment and reuse*. Metcalf & Eddy Inc., New York, 1876 pp.
- Turovskiy, I.S. & P.K. Mathai. 2006. *Wastewater sludge processing*. Wiley, New York, 349 pp.
- Ucisik, A.S. & M. Henze. 2008. Biological hydrolysis and acidification of sludge under anaerobic conditions: the effect of sludge type and origin on the production and composition of volatile fatty acids. *Water Res.*, 42: 3729-3738.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1993. *Standards for the use or disposal Sewage Sludge, Final Rules 40 CFR Part 257 US Environ. Protec. Agency*. Available at [[https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/58\\_fr\\_9248\\_-\\_9404\\_standards\\_for\\_the\\_disposal\\_of\\_sewage\\_sludge\\_final\\_reduced.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/58_fr_9248_-_9404_standards_for_the_disposal_of_sewage_sludge_final_reduced.pdf)]. 157 pp.
- Van Lier, J.B. 1996. Limitations of thermophilic anaerobic wastewater treatment and the consequences for process design. *Antonie Van Leeuwenhoek Int. J. Gen. Mol. Microbiol.*, 69: 1-14.

- Van Lier, J.B., F.P. Van der Zee, N.C.G. Tan, S. Rebac & R. Kleerebezem. 2001. Advances in high-rate anaerobic treatment: staging of reactor systems. *Water Sci. Technol.*, 44: 15-25.
- Van Rijn, J. 1996. The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture-a review. *Aquaculture*, 139: 181-201.
- Vavilin, V.A., B. Fernandez, J. Palatsi & X. Flotats. 2008. Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: an overview. *Waste Manage.*, 28: 939-951.
- Weemaes, M.P.J. & W. Verstraete. 1998. Evaluation of current wet sludge disintegration techniques. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 73: 83-92.
- Wik, T.E.I., B.T. Linden & P.L. Wramner. 2009. Integrated dynamic aquaculture and wastewater treatment modelling for recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 287: 361-370.
- Zhang, T., L. Ding, H.Q. Ren, Z.T. Guo & J. Tan. 2010. Thermodynamic modeling of ferric phosphate precipitation for phosphorus removal and recovery from wastewater. *J. Hazard. Mater.*, 176: 444-450.
- Zheng, W., X.M. Li, D.B. Wang, Q. Yang, K. Luo, G.J. Yang & G.M. Zeng. 2013. Removal and recovery of phosphorus during anaerobic digestion of excess sludge by the addition of waste iron scrap. *J. Serbian Chem. Soc.*, 78: 303-312.
- Zhu, J., A. Luo & P. Ndegwa. 2001. Raising pH by low-level aeration for soluble phosphorus removal of swine manure. *Am. Soc. Agric. Biol. Eng.*, 44: 391-396.

*Received: 29 May 2016; Accepted: 21 November 2016*