

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE DISEÑO Y MÉTODOS INDUSTRIALES**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA  
INGENIERÍA**

**DETERMINACIÓN DE LA REDUCCIÓN DE NITRÓGENO AMONIAICAL DE  
EFLUENTES DE AGUA UTILIZADAS EN EL CULTIVO DE PECES POR MEDIO  
DE FORMALINA**

Memoria de Título presentada como parte de  
los requisitos para optar al TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO.

**CÉSAR ANÍBAL AGUILAR GATICA**

**VALDIVIA - CHILE**

**2003**

## CONTRAPORTADA

**PROFESOR PATROCINANTE**

---

Nombre

Firma

**PROFESOR COPATROCINANTE 1**

---

Nombre

Firma

**PROFESOR COPATROCINANTE 2**

---

Nombre

Firma

**PROFESORES CALIFICADORES**

---

Nombre

Firma

---

Nombre

Firma

**FECHA DE APROBACIÓN:**

---

## INDICE.

1. RESUMEN	.....	1
2. SUMMARY	.....	2
3. INTRODUCCIÓN	.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS	.....	11
5. RESULTADOS	.....	14
6. DISCUSIÓN	.....	27
7. BIBLIOGRAFÍA	.....	30
8. ANEXOS	.....	32
9. AGRADECIMIENTOS	.....	34

## 1. RESUMEN.

La excreción de compuestos nitrogenados por parte de los peces, es un proceso fisiológico que no es posible de evitar en sistemas de cultivos intensivos. Debido a la importancia que poseen estos compuestos y en especial el amonio ( $\text{NH}_3$ ) y por la capacidad que tiene de provocar problemas de índole sanitario, es que se hace muy sensible el cuidado de las variables de calidad de aguas destinadas a la producción, como las aguas para el transporte de peces vivos y para la recirculación en piscicultura.

El objetivo general de esta tesis, es demostrar la capacidad de la formalina para reducir el nitrógeno amoniacal de aguas de efluentes de piscicultura. Dentro de los objetivos específicos están el determinar la capacidad real de reducción de amoniaco, comprobar la efectividad de la formalina para reducir el nitrógeno conociendo la concentración óptima de formalina para eliminar la mayor cantidad de amoniaco y determinar en qué tiempo se produce esta reducción.

Para realizar este ensayo se utilizó aguas de efluentes de una piscicultura que produce alevines de la especie *S. salar* ubicada en la Región Metropolitana. El pH fue medido por un equipo multiparamétrico digital. La formalina utilizada es una solución de formaldehído al 37% v/v (40% p/p). Se tomaron muestras de agua en envases de 1 litro para las cuales se utilizaron 5 diferentes concentraciones de formalina (0,74 – 1,48 – 2,96 – 5,92 – 11,84 ‰) y un grupo control. Cada 30 segundos y hasta los 150 segundos posterior a la adición de la formalina se utilizó 0,8 ml de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) para fijar la concentración de  $\text{NH}_3$ . La concentración de  $\text{NH}_3$  fue medida por el método del fenol, que es una técnica de tipo colorimétrica leída por un espectofotómetro a 630 nm de transmitancia. El análisis estadístico entre los grupos en estudio se realizó mediante pruebas paramétricas, considerando datos significativamente estadísticos valores de  $p < 0,01$ .

Las concentraciones iniciales de  $\text{NH}_3$  varían entre 0,74 y 0,83 mg/L, llegando a reducir entre un 37,86% como mínimo y un 99,17% como máximo a los 150 segundos de iniciada la experiencia.

La formalina es capaz de reducir nitrógeno amoniacal de aguas de efluente destinadas al cultivo de peces. La capacidad real de reducción de amoniaco varió entre 0,068 mg/L como mínimo y 0,415 mg/L de agua por cada ‰ de formalina añadidos para cada uno de los distintos tratamientos. La concentración mas eficiente de formalina capaz de eliminar la mayor cantidad de amoniaco fue la de 0,74 ‰ (grupo 1), logrando una reducción de 0,415 mg/L de amonio. El tiempo de reducción ocurre hasta los 150 segundos posterior a la adición de formalina.

*Palabras claves: formalina, reducción de amonio, efluente de piscicultura.*

## 2. SUMMARY.

### **DETERMINATION OF THE REDUCCION OF AMMONIA NITROGEN IN OUTLET WATERS USED IN THE CULTURE OF FISH BY MEANS OF FORMALIN**

The reduce of nitrogenated compounds by fish is an unavoidable physiological process even in intensive culture systems. Because the relevance of these compounds, particularly ammonia ( $\text{NH}_3$ ), and its capability to result in health disorders, the careful management and control of the chemical variables in the water is very sensitive in those allocated to production, transport and reuse in hatcheries.

The aim of this work is demonstrate the capability of formalin to reduce the ammonia nitrogen in outlet waters in a hatchery. Within the specific objectives, determinate of the real capability of ammonia, prove the effectiveness of formalin to reduce nitrogen by knowing the optimal concentration of formalin to reduce the larger proportion of ammonia and the determination the timing of this reduction has been described.

The water analysed correspond to outlet waters from a hatchery located in the Metropolitan Region, which produce alevins of *Salmo salar*. The pH was measured using a multiparametric digital device. Formalin used was a solution of 37% v/v formaldehyde (40% w/w). One-litre samples were taken using five different concentrations of formalin (0,74 – 1,48 – 2,96 – 5,92 – 11,84 ‰) and its control. Every 30 seconds, and up to 150 seconds after add formalin 0,8 ml of concentrated sulphuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) was used to fix the  $\text{NH}_3$  concentration. This concentration was measured using the phenol method, a colorimetric technique that employs a spectrophotometer at 630 nm. For statistical analysis within the groups, parametric tests was used with a significant statistical value of  $p > 0,01$ .

The results shows that the original concentrations of  $\text{NH}_3$  varies between 0,74 and 0,83 mg/L, with reductions within 37,86% and 99,17% at 150 seconds.

Formalin was able to reduce the levels of ammonia nitrogen in outlet waters used in intensive fish culture units. The real capability varies within 0,068 mg/L and 0,415 mg/L per each ‰ of formalin added. The most efficient concentration of formalin able to reduce the larger amount of ammonia was 0,74 ‰ (group 1), by achieving a reduction of 0,415 mg/L of ammonia. Reduction timing happened up to 150 seconds after the formalin addition.

*Keywords: formalin, ammonia reduction, hatchery outlet water.*

### **3. INTRODUCCIÓN.**

Uno de los factores que se debe tomar en cuenta en la producción de especies salmonídeas es la cantidad de nitrógeno total que pueda tener el agua que llega a los peces, y por otra parte, la producción de compuestos nitrogenados que estos excretan. Es por la importancia que reviste estas moléculas para las condiciones generales de calidad de agua en que los peces son cultivados.

#### **3.1. INICIOS DE LA ACUICULTURA.**

Los inicios de la acuicultura, como los primeros cultivos bajo condiciones de cultivo semi-controladas, datan de hace 3.500 años atrás (Ling, 1977). En ese entonces este tipo de producción era extensivo, ya que los peces se cultivaban en ambientes muy parecidos a su hábitat natural, los que carecían de alimentación y de aireación. En estos sistemas de cultivo extensivo el agua cumple varias funciones, desde proveer el espacio físico para que el pez viva, aportar oxígeno disuelto desde la atmósfera, como también el de eliminar desechos metabólicos residuales y servir como medio en el cual los organismos que sirven de alimento para los peces se propaguen.

La necesidad de que el agua desempeñe todas estas funciones hace comprender que la cantidad de peces, y por consiguiente la biomasa de estos, sea limitada. Por lo tanto, la densidad de peces en sistemas extensivos no debería sobrepasar los  $0,04 \text{ kg/m}^3$  (Westers, 1984).

En el momento que la densidad es incrementada con el fin de aumentar la producción, los distintos factores que ejercían un estado beneficioso para la producción, comienzan a ser factores limitantes de ésta. La primera de todas las limitantes es el alimento, lo que fue solucionado posteriormente por el aporte de alimento artificial en la dieta. Otro limitante es el oxígeno disuelto en el cuerpo de agua, lo que fue solucionado aplicando métodos de aireación a las unidades de cultivo. Por último, la acumulación de desechos metabólicos residuales del pez se solucionó proporcionando en la unidad de cultivo un mayor flujo de agua.

Estas medidas de corrección al sistema de cultivo extensivo, además del uso de cuerpos de agua de mejor calidad, son factores que han permitido poder elevar la densidad de cultivo, logrando así una mayor eficiencia de la utilización de los cuerpos de aguas.

## **3.2. FUENTES DE NITRÓGENO AMONIAICAL.**

### **3.2.1. Medio Ambiente.**

El nitrógeno amoniacal y en especial el amoniaco puede encontrarse en mínimas cantidades en los afluentes de pisciculturas por la descomposición de material orgánico nitrogenado y por la lixividación de aguas desde los suelos circundantes.

Grandes cantidades de amoniaco son acumuladas en el sedimento o en las capas superficiales del agua, y generalmente son indicadores de contaminación por descargas de aguas servidas aledañas al cuerpo de agua, por del drenaje de tierras agrícolas o por la descarga de efluentes industriales.

### **3.2.2. Alimentación.**

La evolución de la producción desde la extensiva hasta la intensiva, ha hecho que la industria se encuentre totalmente dependiente a las dietas artificiales que proveen las compañías productoras de alimento para peces. Estas han suplido, bajo el conocimiento fisiológico de la alimentación y la digestión, además del conocimiento de la conducta alimenticia de las distintas especies de cultivo, los requerimientos nutricionales necesarios para estos.

Las dietas inicialmente eran clasificadas por la cantidad de agua que contiene el alimento.

- Aquellos alimentos que tienen cerca de 70 % agua fueron nombrados como Wet Feed (Dieta Mojada), la que fue muy utilizada en los inicios de los primeros cultivos de peces, con una baja calidad y consistencia del alimento.
- La dieta húmeda (Moist Feed), que varía su cantidad de humedad entre un 30 y 50 % de agua en el alimento, presentaba una mejor consistencia y podía ser pelletizada. Tenía desventajas como que su calidad era muy variable por la disponibilidad y calidad de las materias primas, también producían mayores problemas ambientales por que el factor de conversión (F.C.) o la relación entre la cantidad de alimento entregado y ganancia de peso era alta, cercana a 3:1 (por 3 K de alimento entregado el pez crece 1 K). También existen otras desventajas como la transmisión de enfermedades y su corto tiempo de almacenaje por la rápida descomposición de las materias primas orgánicas utilizadas.
- Las dietas secas (Dry Feed) contienen menos de un 10 % de agua en el alimento. Su utilización es masiva en estos días en la industria salmonicultora, por que posee varias características de valor, tales como, su mayor calidad de materias primas, la consistencia de su composición y la reducción en el factor de conversión.

La composición porcentual de las dietas secas es de 40 a un 55 % para la proteína, entre 15 y 33 para los lípidos, entre 10 y 12 % para los carbohidratos y entre un 7 a 10 % de cenizas. (Jobling, 1993).

Todo el alimento asimilado por los animales es consumido, digerido, metabolizado y excretado. Los constituyentes incorporados dentro de las estructuras celulares como el músculo, son eventualmente metabolizados y excretados por que los componentes tisulares son periódicamente reemplazados.

### **3.3. DEL NITRÓGENO AMONICAL.**

En el metabolismo de los peces, el mayor producto final son el agua, el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), junto a pequeñas cantidades de urea, creatinina, creatina y ácido úrico. Los lípidos y carbohidratos son directamente metabolizados a agua y  $\text{CO}_2$ . Las proteínas, peptidos y aminoácidos, son desaminados para producir amoníaco y las cadenas de carbono pasan a formar  $\text{CO}_2$  y agua.

El nitrógeno que produce el pez es liberado en forma de amoníaco, el cual es el mayor producto final en la cascada de degradación de las proteínas. El pez digiere las proteínas del alimento y las excreta por medio de las branquias, piel y a través de las heces. La cantidad de amoníaco excretado por pez varía con la cantidad de alimento que es suministrado a la unidad de cultivo, el cual varía entre 25 y 35 gramos de nitrógeno amoniacal por kilo de alimento consumido, teniendo estos una relación directamente proporcional, a mayor cantidad de alimento entregado hay una mayor producción de nitrógeno amoniacal. La otra manera de que se produzca amonio en un estanque es por la descomposición de materia orgánica por parte de bacterias; materia orgánica proveniente de alimento que no fue ingerido por el pez, por acumulación de mortalidad, por algas muertas y plantas acuáticas (Wedemeyer, 1996).

El nitrógeno amoniacal total (TAN) se compone de una molécula tóxica no ionizada que es el amonio ( $\text{NH}_3$ ), y una molécula no tóxica que es ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ). La proporción de amonio en forma ionizada y no ionizada se relaciona directamente con la temperatura y el pH del agua, a mayor temperatura y pH es mayor la fracción del TAN como nitrógeno no ionizado. Otro de los factores que influye indirectamente en la toxicidad del amonio es la concentración de oxígeno disuelto en el agua, a menor concentración de oxígeno disuelto en el agua hay una mayor toxicidad del amonio. En menor medida la toxicidad del amonio también está afectada por la cantidad de  $\text{CO}_2$  libre en el agua (Durborow, 1997).

Además, la concentración de amoníaco en el sistema de producción de peces también es dependiente de otros factores, entre otros:

- Cuan frecuente e intensivo sea el manejo del centro de cultivo.
- Período de ayuno anterior a un manejo y/o transporte.
- Porcentaje de agua reutilizada en un sistema de recirculación.
- Tipo de unidades de cultivo.
- Cantidad de proteína en el alimento y su perfil aminoacídico.



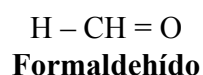
Las paredes celulares de muchos organismos son comparativamente impermeables al ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), pero la fracción no ionizada ( $\text{NH}_3$ ) puede atravesar fácilmente las barreras tisulares en forma difusa por gradientes de concentración, por esto el  $\text{NH}_3$  es potencialmente tóxico para el pez (Wedemeyer, 1996). Generalmente el TAN y sus fracciones están balanceados en el agua como en la interface de los tejidos del pez; si este balance está alterado, un pH ácido atraerá adicionalmente a la porción no ionizada. Esto explica la forma en que el  $\text{NH}_3$  traspasa desde el agua a la sangre y de ésta a los tejidos.

Los niveles máximos de exposición de amoniaco para salmónidos en cultivos intensivos están en concentraciones entre 0,02 y 0,03 mg  $\text{NH}_3/\text{L}$  para prevenir problemas sanitarios. Lo que usualmente se hace es mantener las concentraciones iguales o menores a 0,01 mg/L (Wedemeyer, 1996). La  $\text{LD}_{50}$  del amonio no disociado que produce una intoxicación aguda en salmónidos varía entre los 0,5 y 0,8 mg/L (Svobodová, 1993). Los valores que dan una  $\text{LD}_{50}$  a 24 h para peces de agua salina son de 0,12 a 0,28 mg/L (Erikson, 1997).

Los signos clínicos de una intoxicación crónica por amonio tienen por excelencia la disfunción cerebral, daño en branquias, riñón y disminución de la capacidad transportadora de oxígeno de la sangre. Los signos en peces con una intoxicación aguda por amonio son la letargia, boqueo, congregación del grupo de peces cerca de la superficie del agua, la hiperventilación seguido por una ventilación esporádica, el pez por pérdida del equilibrio se gira en torno a su eje longitudinal y nada en espiral, se producen espasmos musculares y convulsiones seguido por un estado parecido a un coma para seguir con la muerte del pez (Svobodová, 1993).

### 3.4. LA FORMALINA.

La formalina es un término genérico con el cual se describe una solución entre un 30 y 50%, generalmente 37 v/v ó 40 p/p, de formaldehído. Es un aldehído alifático que su grupo R es un átomo de hidrógeno. Tiene la característica de ser un gas incoloro que se disuelve fácilmente en agua y es el aldehído más simple. Su fórmula estructural es la siguiente:



Los nombres IUPAC de los aldehídos alifáticos se obtienen eliminando la *o* final y agregando *al* a la denominación del hidrocarburo primitivo o padre (esto es, refiriéndose a la cadena mas larga que tiene el grupo  $-\text{CHO}$ ). El carbono del aldehído queda siempre al final de la cadena, que se le asigna el numero 1, aunque no necesita estar enumerado. El primer miembro de la serie homóloga, el  $\text{H}_2\text{C}=\text{O}$ , es el metanal. El nombre metanal, se deriva obviamente del metano, que contiene un átomo de carbono.

Se usa con frecuencia los nombres comunes de algunos aldehídos. Los nombres vulgares de los aldehídos alifáticos se derivan de las denominaciones comunes de los ácidos carboxílicos que tengan la misma cantidad de átomos de carbono en su cadena. La terminación *ico* u *oico* del ácido se elimina (al igual que la palabra ácido) y se sustituye con el sufijo *aldehído*. Así el

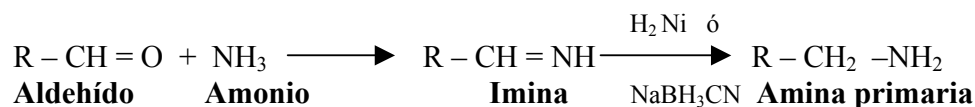
nombre del ácido con un carbono, que es el ácido fórmico, se transforma en formaldehído, en el caso del aldehído con un carbono.

El formaldehído se utiliza en la obtención de resinas sintéticas (Petrucci, 1999), plásticos y aglutinantes para madera enchapada (Whitten, 1999). También para embalsamar y preservar especímenes biológicos por su poderosa acción germicida. Se usa en la desinfección de habitaciones, barcos y construcciones para almacenamiento, para combatir plaga de moscas, para curtir pieles y como fungicida para plantas y vegetales (Hein, 1992).

La formalina es usada en acuicultura frecuentemente para controlar infestaciones parasíticas externas en el pez, en especial de protozoos, como también es usada para el control de hongos en etapas de ovas. Las dosis utilizadas van desde los 150 mg/L (con temperaturas sobre los 15 °C) hasta los 250 mg/L (a temperaturas bajo los 10 °C) por 60 minutos. Evidencias de laboratorio indican que la formalina puede ser efectiva en ovas de salmónidos frente a cuadros de hongos en dosis de 1.667 ppm (Marking, 1994).

### 3.5. REACCIÓN FORMALINA - AMONIACO.

La reacción que se produce entre una molécula de aldehído, en este caso la formalina, y una molécula de amoniaco reacción que se conoce como aminación reductiva, que es presentada en la siguiente fórmula (Morrison y Boyd, 1998).



La formación de aminas primarias consta de una primera reducción que no necesita de catalizadores, donde se forma una imina, que es la base para la segunda reducción que se logra por el uso de cianoborohidruro de sodio (Morrison y Boyd, 1998).

Las aminas pueden ir formando compuestos más complejos que pueden ser perjudiciales para animales y el hombre. Un ejemplo son las aminas aromáticas que se consideran como importantes carcinógenos ( $\beta$  - naftilamina y la bencidicina) los cuales fueron utilizados como colorantes, causando una elevada incidencia de cáncer de vejiga entre los manipuladores de este producto (Streitwieser, 1979).

La imina formada por esta reacción de reducción, es el residuo que se obtiene de la utilización de formalina para reducir el amoniaco presente en el agua. La imina formada a partir de formalina y el amonio, no representa por sí un riesgo para el medio ambiente (Hein, 1992).

### **3.6. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.**

Son pocos los antecedentes bibliográficos recolectados en que indiquen la efectividad de la acción de la formalina para eliminar el nitrógeno amoniacal. Chiayvareesajja (1993) compara la acción de la formalina en laboratorio. Indicando que concentraciones de TAN por sobre 8 mg/L y con tratamientos de 5, 10 y 20 mg/L de formalina reducen las concentraciones de TAN al menos en un 60%. En otro ensayo a 1 mg/L de TAN en el agua y una dosis de 20 mg/L de formalina se remueve hasta un 92% del TAN.

Según Brewster y McEwen (1961), la formalina es irregular en su reacción con el amonio. Los productos de la reacción entre el amonio y la formalina son aparentemente estables por que no existen cambios en la concentración sobre 7 días, período en el cual se siguieron las muestras en el laboratorio.

Allison en 1962, demostró que la formalina en lagunas puede matar al fitoplancton y por este motivo provocar una deplesión de oxígeno.

### **3.7. IMPORTANCIA DEL TRABAJO.**

El planteamiento del problema pasa por dar una alternativa a las actuales prácticas de reducción del amonio en aguas destinadas a la producción de peces y en especial a dos manejos productivos que existen en la acuicultura, mas específicamente enfocado a la salmonicultura, uno es el transporte de peces vivos en etapa de agua dulce y otro al sistema de recirculación de agua en pisciculturas.

#### **3.7.1. Transporte de peces vivos.**

Los peces han sido transportados desde los orígenes de la acuicultura hace 3.000 años atrás, en China y en el Imperio Romano. Sin embargo, el transporte de peces vivos es uno de los procesos más rutinarios del proceso productivo.

El transporte de peces es uno de los puntos críticos dentro de la cadena de producción de salmónidos, sobre todo el transporte realizado en peces que se trasladan hacia el agua de mar, por su delicado estado fisiológico.

Los peces en Chile, generalmente son transportados en camiones que llevan estanques que son en su mayoría de fibra de vidrio y de un volumen de 3 m<sup>3</sup> cada uno. Estos sólo poseen sistemas de oxigenación por medio de difusores de grafito o cerámicos. El estanque es un sistema cerrado, en el que se acumulan desechos metabólicos como el CO<sub>2</sub> y NH<sub>3</sub>.

La acumulación de NH<sub>3</sub> en esta etapa, depende directamente de la excreción producida por el pez; por lo tanto, es de suma importancia que los peces sean ayunados previo al traslado, de 24

a 48 horas previas a éste; 24 horas para peces en temperaturas mayores a 15 °C y 48 horas para peces con temperaturas menores a 15 °C.

La incorporación de formalina en este proceso, con el fin de poder reducir el amoniaco, debería permitir prolongar los tiempos de traslado de peces.

### **3.7.2. Sistema de recirculación de aguas.**

Uno de los factores mas importantes que influyen en el desarrollo de la acuicultura es el de la disponibilidad de agua en calidad como en cantidad; en este sentido, cualquier sistema que reutilice y conserve el agua puede ser muy beneficioso.

Los tipos de sistemas varían entre los que utilizan desde un 50% de agua recirculada hasta los que lo hacen en un 98 a 99%, siendo más complejo el que posee una mayor reutilización de agua. Las ventajas que posee este sistema entre otras son:

- Poder mantener bajo control los parámetros ambientales.
- Menor dependencia de factores climáticos por disponibilidad de agua.
- Control de temperatura.
- Control de enfermedades.

Este es un sistema cerrado, por lo tanto, se deben proveer las condiciones de oxigenación y de eliminación de desechos metabólicos ( $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$ ). El amonio es eliminado por la utilización de los llamados biofiltros o filtros biológicos, equipos donde por gravedad el agua pulverizada pasa generando una cascada a través de un material filtrante el cual a su vez actúa como sustrato biológico.

La mayoría de los organismos que participan de la remoción de nitrógeno amoniacal (proceso que se llama nitrificación) son bacterias autotróficas (no dependen de carbono orgánico), como *Nitrosomonas sp.*, y *Nitrobacter sp.* Las del género *Nitrosomonas* cumple la función de oxidar el amoniaco a nitrito ( $\text{NO}_2$ ), y las del género *Nitrobacter* oxidan el nitrito en nitrato (Haug y McCarty, 1971).

El filtro debe ser recargado con un cultivo de bacterias, que tardará varias semanas para que estas colonicen el filtro. Las bacterias nitrificantes son muy sensibles a muchos de los terapéuticos usados en la acuicultura, como desinfectantes y antibióticos, por lo que es de suma importancia el cuidar los biofiltros del alcance de estos productos.

La utilización de formalina en sistemas de recirculación de agua tendría un doble efecto, primero, el de eliminar amoniaco de las aguas a recircular y segundo, utilizar la formalina como desinfectante externo en los peces para prevenir y/o atacar a patógenos.

### **3.8. OBJETIVOS DE LA TESIS.**

#### **3.8.1. General.**

- Poder determinar si la formalina es capaz de reducir el nitrógeno amoniacal de aguas de efluentes de una piscicultura.

#### **3.8.2. Específicos.**

- Poder determinar cuál es la capacidad real de reducción de nitrógeno amoniacal por parte de la formalina.
- Poder determinar la concentración óptima de formalina capaz de reducir la mayor cantidad de nitrógeno amoniacal del agua.
- Poder determinar en qué tiempo se produce esta reducción.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS.

### 4.1. MATERIAL.

El cuerpo de agua que se utilizó como objetivo, es el efluente de una piscicultura destinada al cultivo de especies salmonídeas. Esta piscicultura pertenece a la empresa Aguas Claras S.A. y está ubicada en la Comuna de Peñaflo, Provincia de Talagante, Región Metropolitana (Coordenadas Geográficas: Latitud: 33° 30' / 33° 45' y Longitud: 70° 45' / 71° 00').

La muestra de agua fue tomada a la salida del galpón N° 2 de esta piscicultura el que tiene 32 estanques de 20 m<sup>3</sup>, lo que hace un volumen de 640 m<sup>3</sup> estáticos de agua a utilizar. En el instante que se tomó la muestra de agua había un número de 1.384.985 peces de la especie *Salmo salar* con un peso promedio de 19,08 gr, lo que indica que en ese momento había una biomasa de 26.432 K. La densidad de cultivo promedio es de 41,3 Kg/m<sup>3</sup>. La cantidad de alimento entregado ese día fue de 475 K en total, lo que significa que los peces están siendo alimentados a una ración de 1,8% PC (peso cuerpo). La alimentación de este grupo es por medio de alimentadores automáticos y la frecuencia en que es suministrado el alimento es por medio de pulsos cada 5 minutos.

El amoníaco fue medido directamente por el método del fenato. Esta es una técnica colorimétrica y su sensibilidad es de 0,01 gr de amonio (NH<sub>3</sub>), generalmente se usa en rangos de 0,5 mg de NH<sub>3</sub>. Se recomienda destilar si la alcalinidad es mayor a 500 mg CaCO<sub>3</sub>/L y además se debe fijar con 0,8 ml de ácido sulfúrico concentrado por litro de agua (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), para mantener el pH entre 1,5 y 2 (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1990).

El principio en el que se fundamenta la técnica es que se forma un compuesto azul intenso, el indofenol, que es formado por la reacción del amonio, hipoclorito y el fenol, catalizado por una sal de manganeso (MnSO<sub>4</sub>).

Las posibles interferencias son con la alcalinidad (sobre 500 mg CaCO<sub>3</sub>), la acidez (sobre 100 mg CaCO<sub>3</sub>) e interferencia con turbidez. La remoción de estas interferencias se realiza por medio de una destilación previa (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1990).

Los instrumentos que se usaron corresponden a un equipo colorimétrico que se compone de un agitador magnético y un espectrofotómetro, que se usa a 630 nm con una trayectoria de luz de aproximadamente 1 cm, equipado con un filtro rojo-naranja, que tenga un máximo de transmitancia de 630 nm y que provea una trayectoria de luz de aproximadamente de 1 cm.

Los reactivos a usar son agua libre de nitrógeno amoniacal, reactivo ácido hipocloroso, solución de sulfato de magnesio a 0,003 M, reactivo fenato y solución de amonio standard.

El procedimiento es el siguiente:

Para 10 ml de muestra, adicionar 1 gota (0,05 ml) de la solución de sulfato de magnesio 0,003 M ( $\text{MnSO}_4$ ). Se debe agitar en una placa magnética y se agregan 0,5 ml de ácido hipocloroso. Inmediatamente se adiciona gota a gota 0,6 ml del reactivo fenato por medio de una bureta, luego se agita vigorosamente durante la adición de los reactivos. Se deja por 10 minutos la muestra con el fin de que la formación del color sea completa, el que es estable por 24 horas.

El cálculo de la concentración de amoníaco se realiza de la siguiente manera:

$$\text{Amonio (NH}_3\text{) en mg} \longleftrightarrow \frac{A \times B \times D}{C \times S \times E}$$

Donde:

- A = absorbancia de la muestra.
- B =  $\text{NH}_3$  como standard ( $\mu\text{g}$ ).
- C = absorbancia del standard.
- S = volumen de la muestra usada.
- D = volumen total recolectado del destilado (ml).
- E = volumen del destilado usado para el desarrollo del color.

Los puntos D y E se aplican sólo en caso de que las muestras sean destiladas.

Las muestras de agua fueron procesadas por el laboratorio Bioquality S.A.

El pH fue medido multiparamétrico de la marca WTW, modelo 340i que mide pH con una resolución de 0,01 y su exactitud es de 0,003 a temperaturas mayores de 15 °C y 35° C.

La formalina utilizada es una solución acuosa de formaldehído al 37% v/v (40% p/p) producida por el laboratorio Veterquímica Ltda.

## 4.2. MÉTODO.

El agua se recolecta a las 12:00 p.m. del 11 de Junio de 2003, la que se extrae del canal de evacuación de los efluentes de los estanques por medio de una bomba de succión eléctrica y es acumulada en un estanque de 0,5 m<sup>3</sup> (500 L) del cual se toman las muestras de agua en botellas de 1 litro de vidrio ahumado. Se utilizarán 5 dosis (2 ml/L, 4 ml/L, 8 ml/L, 16 ml/L y

32 ml/L) de formalina que conforman los 5 grupos de tratamiento (la dosis de 2 ml/L ó 0,74 ‰ que conforma el grupo 1; la dosis de 4 ml/L ó 1,48 ‰ que conforma el grupo 2; la dosis de 8 ml/L ó 2,96 ‰ que conforma el grupo 3; la dosis de 16 ml/L ó 5,92 ‰ que conforma el grupo 4 y la dosis de 32 ml/L ó 11,84 ‰ que conforma el grupo 5) más un grupo control, al cual no se le adicionará nada. Cada uno de los grupos más el grupo control fueron llevados en triplicado. La dosis de formalina fue agregada toda de una vez a cada uno de los grupos y a sus repeticiones por separado.

El valor de pH fue medido cada 30 segundos hasta alcanzar los 150 segundos posteriores a la inclusión de formalina en cada una de las muestras, debido que experiencias propias previas al inicio de esta tesis indicaban una fluctuación de pH no mayores a 150 segundos posterior a la incorporación de la formalina.

Para fijar el amonio ( $\text{NH}_3$ ) se utilizará ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) en cantidad de 0,8 ml/L cada 30 segundos posteriormente a la adición de formalina y hasta los 150 segundos. Con este patrón existirán 6 tiempos muestrales para cada uno de los grupos y sus repeticiones (T0 previo al agregar la formalina, T1 a los 30 segundos después de agregada la formalina, T2 a los 60 segundos después de agregada la formalina, T3 a los 90 segundos después de agregada la formalina, T4 a los 120 segundos después de agregada la formalina y T5 a los 150 segundos después de agregada la formalina).

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos de los exámenes realizados a las muestras de agua, se realizó con el programa Statgraphics Plus para Windows v. 5.1. Los datos serán analizados para la variación de los distintos grupos de dosis en el tiempo y para la variación de los tiempos por cada grupo de tratamiento. Para su interpretación el análisis se basará en el Test de Barlett, el que indica si difieren las varianzas de los datos y muestra a través del valor p, si los datos tienen o no una distribución normal. Si los datos analizados se distribuyen normalmente, quiere decir que el valor p del test sea  $> 0,05$ , los resultados se interpretan con las pruebas inferenciales paramétricas o Test de Anova. Si los datos no se distribuyeran normalmente, o que el test sea  $< 0,05$  se interpretan con las pruebas inferenciales no paramétricas o Test de Kruskal-Wallis. Los valores de  $p < 0,05$  se consideraron como significativamente estadísticos. Se realizará el test de rangos múltiples de Tukey al 99% de confianza si los valores de p son  $< 0,0000$ .

De los resultados obtenidos se podrá comparar la capacidad de remoción de amonio de cada una de las muestras tomadas para cada uno de los grupos con dosis de formalina y el grupo control y evaluar el comportamiento en el tiempo de la concentración del amonio en cada uno de los grupos muestrales



## 5. RESULTADOS.

### 5.1. CARACTERIZACIÓN PRIMARIA DEL AGUA.

El estado del agua de la piscicultura fue analizado previo al inicio del muestreo (Tabla 1). Las muestras fueron tomadas previo al ingreso del agua al galpón N°2, donde se distribuye en los estanques, y otra a la salida del galpón, a fin de poder marcar la diferencia que aportan los peces en la calidad del agua. La temperatura del agua fue constante durante toda la experiencia, siendo ésta de 16,1 °C.

**Tabla 1: Resultado de los análisis de agua efectuados previo a la toma de las muestras.**

Análisis	Agua de Ingreso a la Piscicultura	Agua de Salida de la Piscicultura	Normas consultadas por análisis
pH	7,2	7,2	NCh 2313/1
Amonio (mg/L)	< 0,1	0,8	NCh 2313/16
Sólidos susp. totales (mg/L)	< 10	< 10	NCh 2313/3
Alcalinidad total (mg/L)	226	226	NCh 2313/15
Nitrito (mg/L)	< 0,1	< 0,1	NCh 2313/18
Fosfato (mg/L)	< 0,1	3,5	Standard Methods, 1990
Sulfato (mg/L)	320	353	Standard Methods, 1990
Dureza expresada (mg/L)	422	416	Standard Methods, 1990
Nitrato (mg/L)	67,7	32,6	Standard Methods, 1990

### 5.2. RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE AMONIO.

En el grupo control, las concentraciones de NH<sub>3</sub> de las tres repeticiones varían entre 0,78 y 0,81 mg/L. Dentro de los tiempos muestrales los valores promedios de las concentraciones fluctúan entre 0,79 y 0,80 mg/L de NH<sub>3</sub> sin presentar tendencia alguna.

De cada uno de los grupos tratados más el grupo control, y para cada uno de los tiempos de muestreo, resultaron datos para el test de Bartlett's, los que se presentan en las Tablas 2 y 3.

**Tabla 2: Valores del test de Barlett, su valor de p y su significación estadística (para los distintos grupos de tratamiento y el control).**

Grupos de Tratamiento	Test de Barlett	Valor de p	Significación estadística
Control	1,52484	0,515613	No
Grupo 1	1,6433	0,417084	No
Grupo 2	1,36381	0,681918	No
Grupo 3	1,70456	0,373779	No
Grupo 4	1,25992	0,803143	No
Grupo 5	1,19236	0,880282	No

**Tabla 3: Valores de Barlett, su valor de p y su significación estadística (para los distintos tiempos de muestreo).**

Grupos de Tratamiento	Test de Barlett	Valor de p	Significación estadística
Tiempo 0	1,43465	0,60441	No
Tiempo 1	1,26422	0,79809	No
Tiempo 2	1,76117	0,33797	No
Tiempo 3	2,22562	0,15418	No
Tiempo 4	1,78958	0,32141	No
Tiempo 5	1,43465	0,60441	No

Los valores de p para el Test de Barlett indican que las repeticiones de cada grupo y para cada tiempo presentan dentro de una distribución normal, dado que todos sus valores son mayores a 0,05; lo que permite utilizar el Test de ANOVA para interpretar los resultados obtenidos, los que se describen en las Tablas 4 y 5.

**Tabla 4 : Valores de “f” y “p” del Análisis de Variancia (ANOVA) para cada uno de los grupos tratados en los distintos tiempos de observación.**

	Control	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Valor de f	1,05	1069,0	2026,86	1365,7	3793,5	3729,97
Valor de p	0,4336	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

**Tabla 5 : Valores de “f” y “p” del Análisis de Variancia (ANOVA) para cada uno de los tiempos de muestreo en las distintas dosis de tratamiento.**

	Tiempo 0	Tiempo 1	Tiempo 2	Tiempo 3	Tiempo 4	Tiempo 5
Valor de f	0,87	528,33	279,08	633,79	1464,10	3257,40
Valor de p	0,5308	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Con tales valores de “p”, sólo los valores del grupo control y del tiempo 0 no son estadísticamente significativos. Los demás, grupos 1, 2, 3, 4 y 5; y los tiempos 1, 2, 3, 4 y 5 son altamente significativos, por lo tanto, el test de rangos múltiples de Tukey al 99 % de significancia estadística, el que está explicado en las Tablas 6 y 7 es el método estadístico mas sensible para analizar estos datos.

**Tabla 6: Significación estadística (\* =  $p < 0,01$ ) entre las concentraciones de amonio ( $\text{NH}_3$ ) de cinco grupos tratados y el grupo control durante 150 segundos posterior a la adición de distintos volúmenes de formalina.**

Tiempo / Grupos	Tiempo 0	Tiempo 1	Tiempo 2	Tiempo 3	Tiempo 4	Tiempo 5
Control – Grupo 1				*	*	*
Control – Grupo 2			*	*	*	*
Control – Grupo 3		*	*	*	*	*
Control – Grupo 4		*	*	*	*	*
Control – Grupo 5		*	*	*	*	*
Grupo 1 – Grupo 2				*	*	*
Grupo 1 – Grupo 3		*	*	*	*	*
Grupo 1 – Grupo 4		*	*	*	*	*
Grupo 1 – Grupo 5		*	*	*	*	*
Grupo 2 – Grupo 3		*	*	*	*	*
Grupo 2 – Grupo 4		*	*	*	*	*
Grupo 2 – Grupo 5		*	*	*	*	*
Grupo 3 – Grupo 4		*	*	*	*	*
Grupo 3 – Grupo 5		*	*	*	*	*
Grupo 4 – Grupo 5		*	*			*

**Tabla 7: Significación estadística (\* =  $p < 0,01$ ) entre las concentraciones de amonio ( $\text{NH}_3$ ) de los tiempos de tratamiento y de las dosis de tratamiento de formalina.**

Tiempo / Grupos	Control	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
T0 – T1				*	*	*
T0 – T2		*		*	*	*
T0 – T3		*	*	*	*	*
T0 – T4		*	*	*	*	*
T0 – T5		*	*	*	*	*
T1 – T2				*	*	*
T1 – T3		*	*	*	*	*
T1 – T4		*	*	*	*	*
T1 – T5		*	*	*	*	*
T2 – T3		*	*	*		
T2 – T4		*	*	*	*	*
T2 – T5		*	*	*	*	*
T3 – T4		*	*	*	*	*
T3 – T5		*	*	*	*	*
T4 – T5				*		*

Los valores promedio de amonio (mg/L de  $\text{NH}_3$ ) por cada uno de los tiempos son presentados en el Gráfico 1. Cabe destacar que la reducción de amoniac se produce hasta los 150 segundos posteriores del inicio del tratamiento.

Los valores de la reducción absoluta promedio de amonio y la reducción por ml de formalina utilizada y la reducción por cada parte por mil por parte de cada uno de los grupos tratados que se describen en la Tabla 8.

**Tabla 8: Reducción absoluta de amoniac y reducción de amonio por ml de formalina utilizada en cada uno de los tratamientos durante 150 segundos.**

Grupos de Tratamiento	Valor inicial promedio de la concentración de $\text{NH}_3$ (mg/L)	Reducción absoluta promedio de $\text{NH}_3$ (mg/L)	Reducción de $\text{NH}_3$ (mg/L) por cada ‰ de Formalina (37% v/v)	Reducción promedio de amoniac por ml de Formalina (mg/L)	Reducción porcentual total
Control	0,803	0,010	0,000	0,000	1,24%
Grupo 1	0,810	0,307	0,415	0,153	37,86%
Grupo 2	0,780	0,420	0,272	0,105	53,85%
Grupo 3	0,817	0,627	0,212	0,078	76,73%
Grupo 4	0,800	0,753	0,127	0,047	94,17%
Grupo 5	0,807	0,800	0,068	0,025	99,17%

En todos los grupos tratados se produce una disminución evidente de la concentración de amonio en el agua, que varía entre un 37,86% el mínimo para el grupo de tratamiento 1, hasta un 99,17% el máximo para el grupo 5. El grupo control aparece con una disminución promedio de la concentración de amonio de un 1,24% (Gráfico 2).

La cantidad de amonio reducido por cada ml de formalina varía entre 0,025 mg/L de NH<sub>3</sub> para el grupo de tratamiento 5, y 0,153 mg/L de NH<sub>3</sub> para el grupo 1 (Gráfico 3 y 4).

Los datos de amonio que son obtenidos de las muestras de agua y que dan origen a estos análisis se presentan en el Anexo 1.

Los porcentajes de reducción de amonio por cada grupo tratado en relación a los tiempos en que fue realizado el ensayo se presentan en la Tabla 6; y la Tabla 7 presenta la reducción porcentual de amonio por grupo tratado por cada intervalo de tiempo muestral. La interpretación de ambas tablas se puede observar en los Gráficos 5 y 6 respectivamente.

**Tabla 9: Reducción porcentual de amonio por grupo tratado en cada tiempo muestral.**

	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Control	0%	0,83%	1,24%	1,24%	0,00%	1,24%
Grupo 1	0%	3,29%	7,00%	27,57%	36,63%	37,86%
Grupo 2	0%	2,99%	7,26%	40,60%	52,14%	53,85%
Grupo 3	0%	19,59%	26,12%	60,00%	70,20%	76,73%
Grupo 4	0%	39,17%	81,25%	85,42%	92,92%	94,17%
Grupo 5	0%	69,83%	87,19%	89,67%	94,21%	99,17%

**Tabla 10: Porcentaje de reducción de amonio por grupo tratado por cada intervalo de tiempo muestral.**

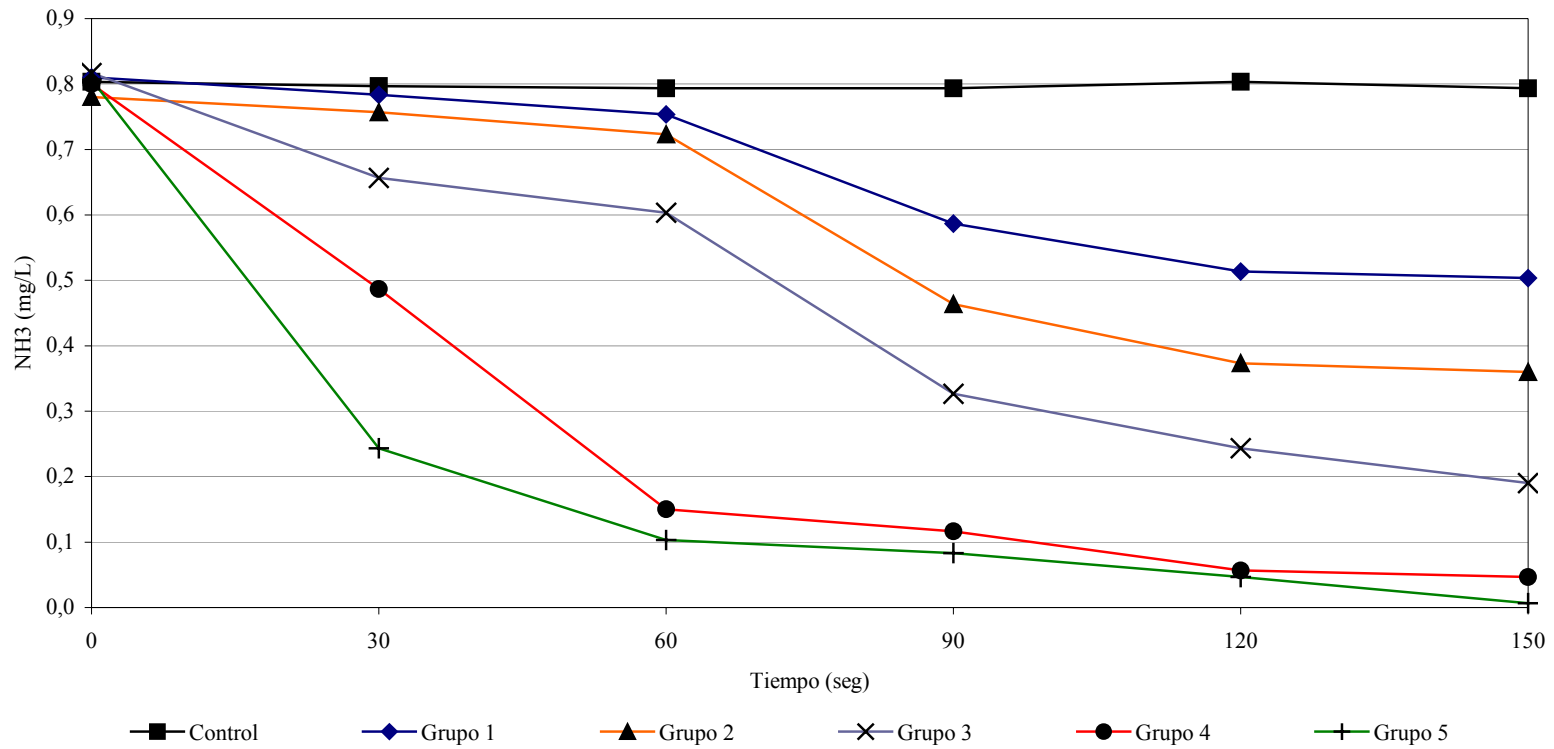
	T0	T0-T1	T1-T2	T2-T3	T3-T4	T4-T5
Control	100%	0,83%	0,41%	0,00%	-1,24%	1,24%
Grupo 1	100%	3,29%	3,70%	20,58%	9,05%	1,23%
Grupo 2	100%	2,99%	4,27%	33,33%	11,54%	1,71%
Grupo 3	100%	19,59%	6,53%	33,88%	10,20%	6,53%
Grupo 4	100%	39,17%	42,08%	4,17%	7,50%	1,25%
Grupo 5	100%	69,83%	17,36%	2,48%	4,55%	4,96%

### 5.3. RESULTADO DE LOS VALORES DE pH.

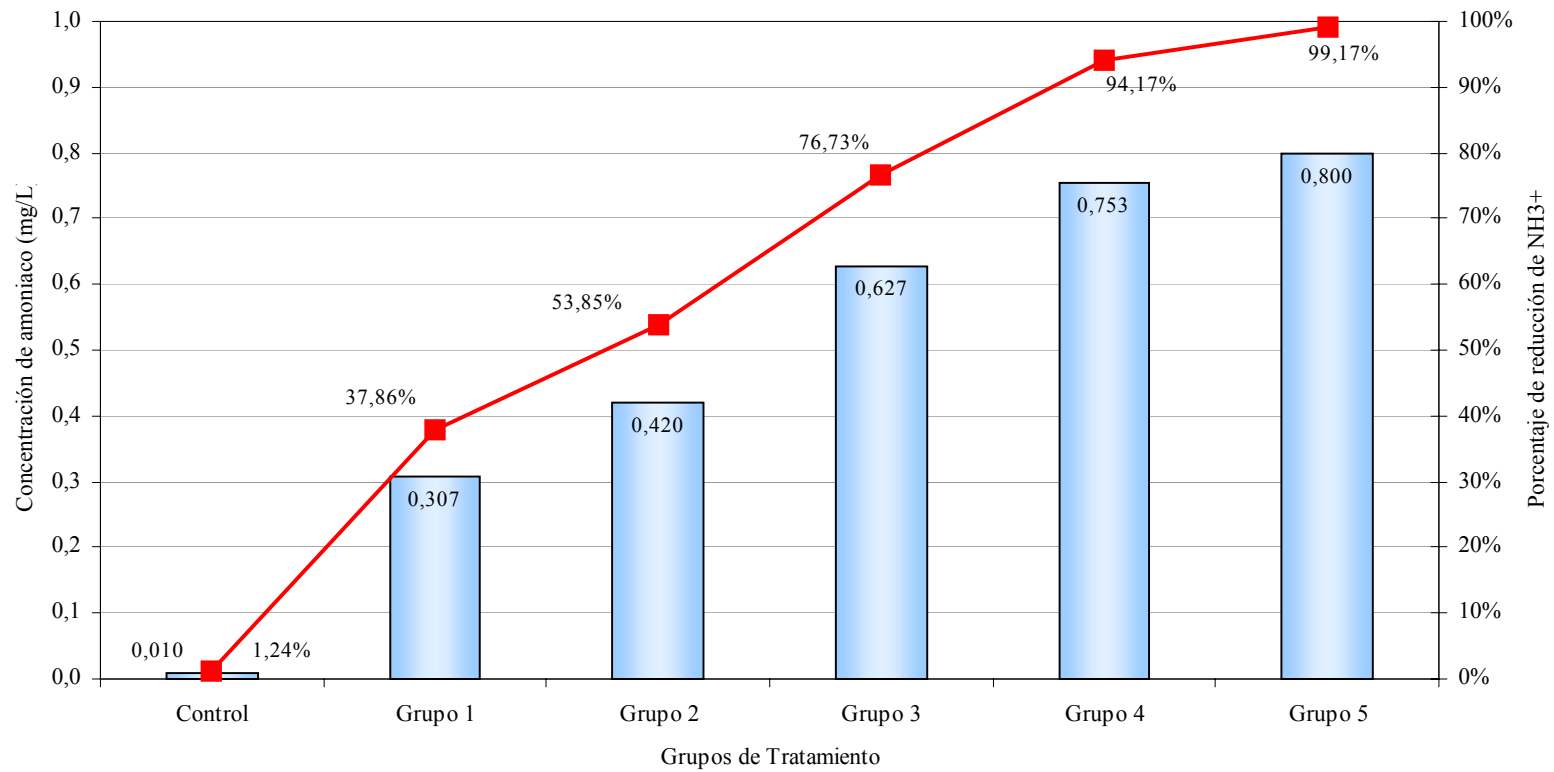
Los valores de pH del grupo control no tuvieron variación en el promedio ni en sus repeticiones, el que se mantiene en 7,23 por los 150 segundos en que se desarrolla la experiencia.

A los 30 segundos de iniciado el tratamiento se produce un peak en los valores que alcanza el pH, siendo el menor de 7,3 para el grupo 1 y el mayor de 7,62 para el grupo 5. Luego los valores disminuyen hasta alcanzar valores cercanos a los iniciales para los grupos 1 a 3 después de 150 segundos. Los grupos 4 y 5 disminuyeron los valores de pH por debajo del valor del grupo control a 7,21 y 7,18 respectivamente.

Los valores de pH para los distintos grupos se encuentran en el anexo 2 y se ven representados en el Gráfico 7.

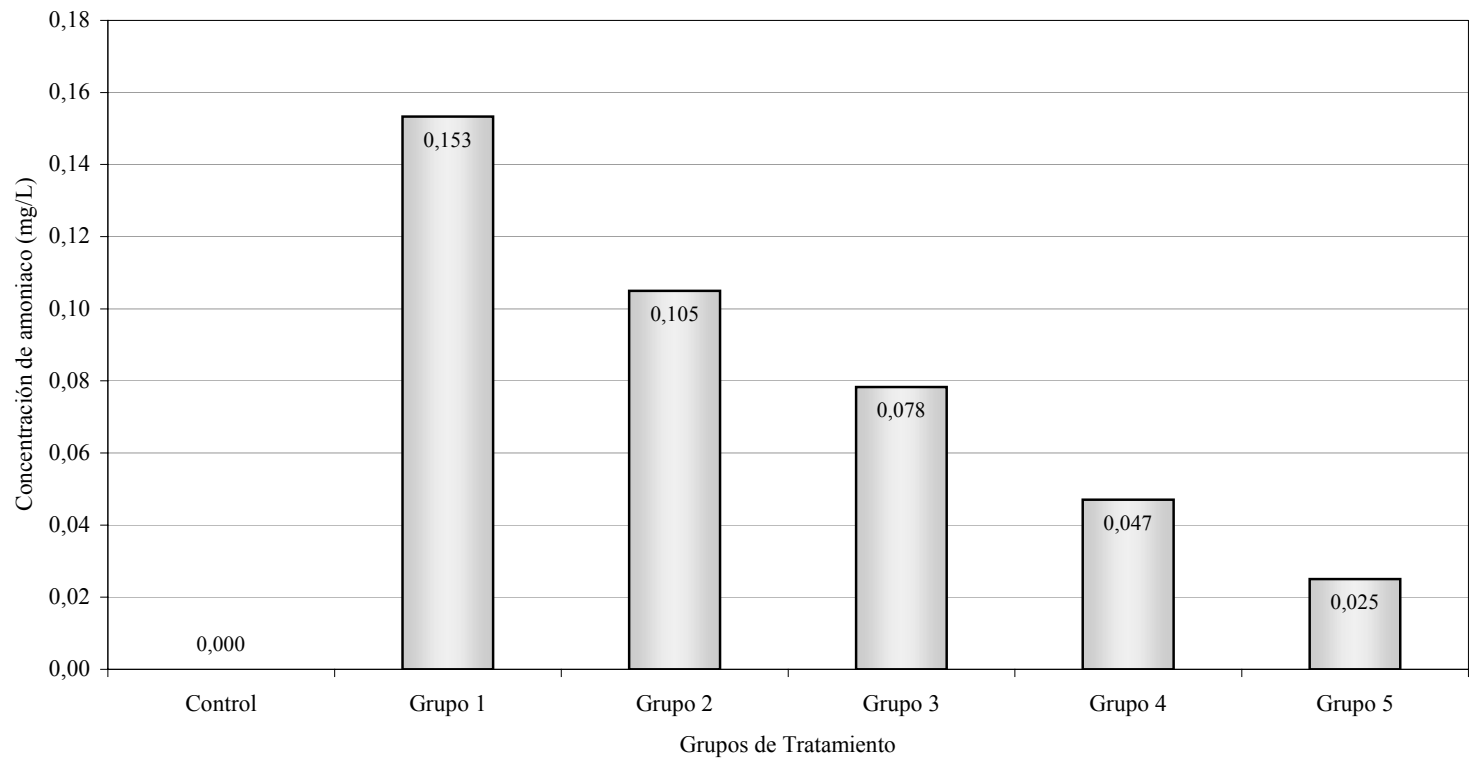


**Gráfico 1: Tendencias de los valores promedio de  $\text{NH}_3^+$  (mg/L) para el grupo control y los grupos tratados con diferentes dosis de formalina.**

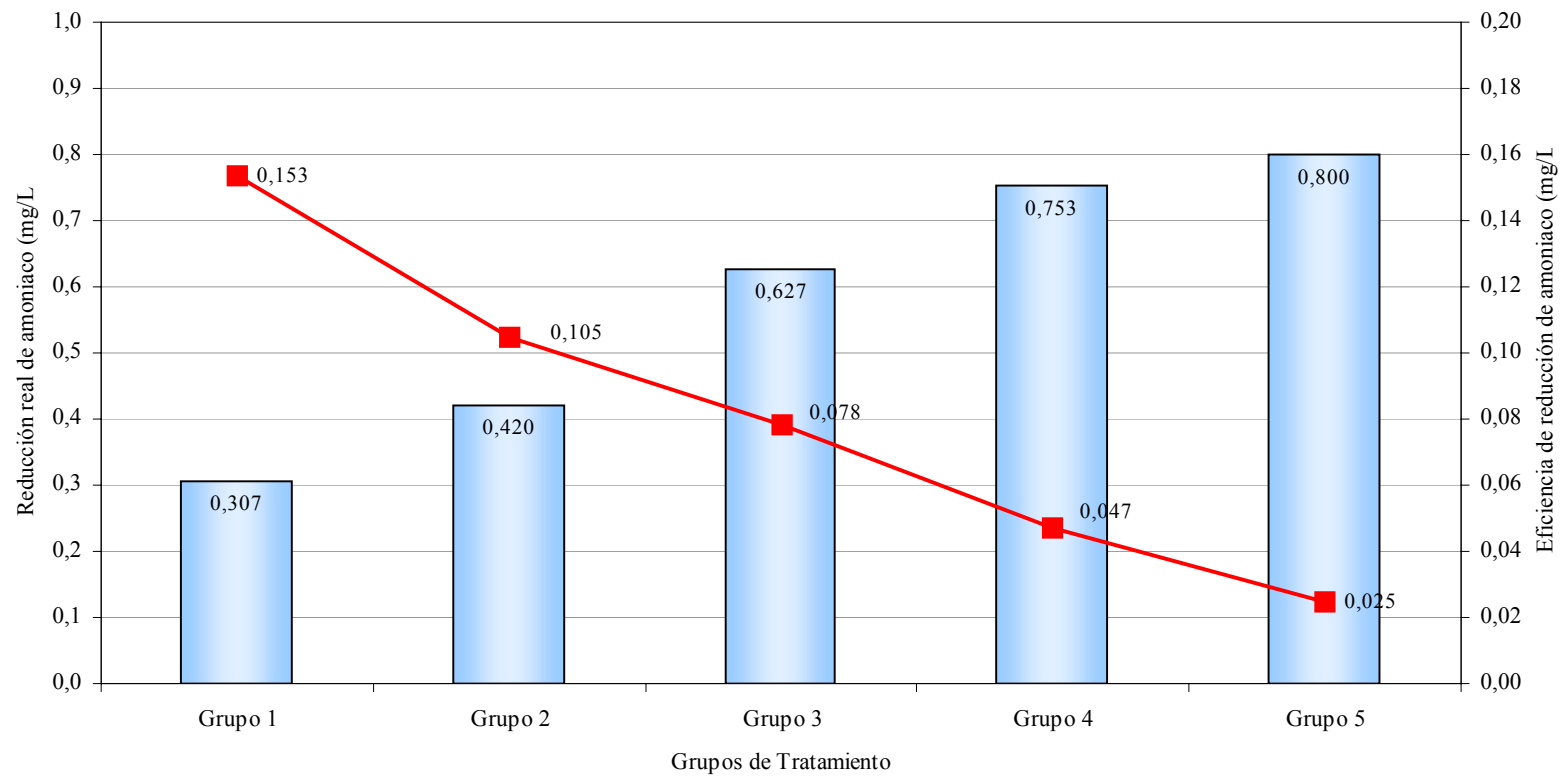


**Gráfico 2: Reducción absoluta y relativa de la concentración de amoniaco (en mg/L de  $\text{NH}_3^+$ ) para los grupos control y tratados con diferentes dosis de formalina durante 150 segundos.**

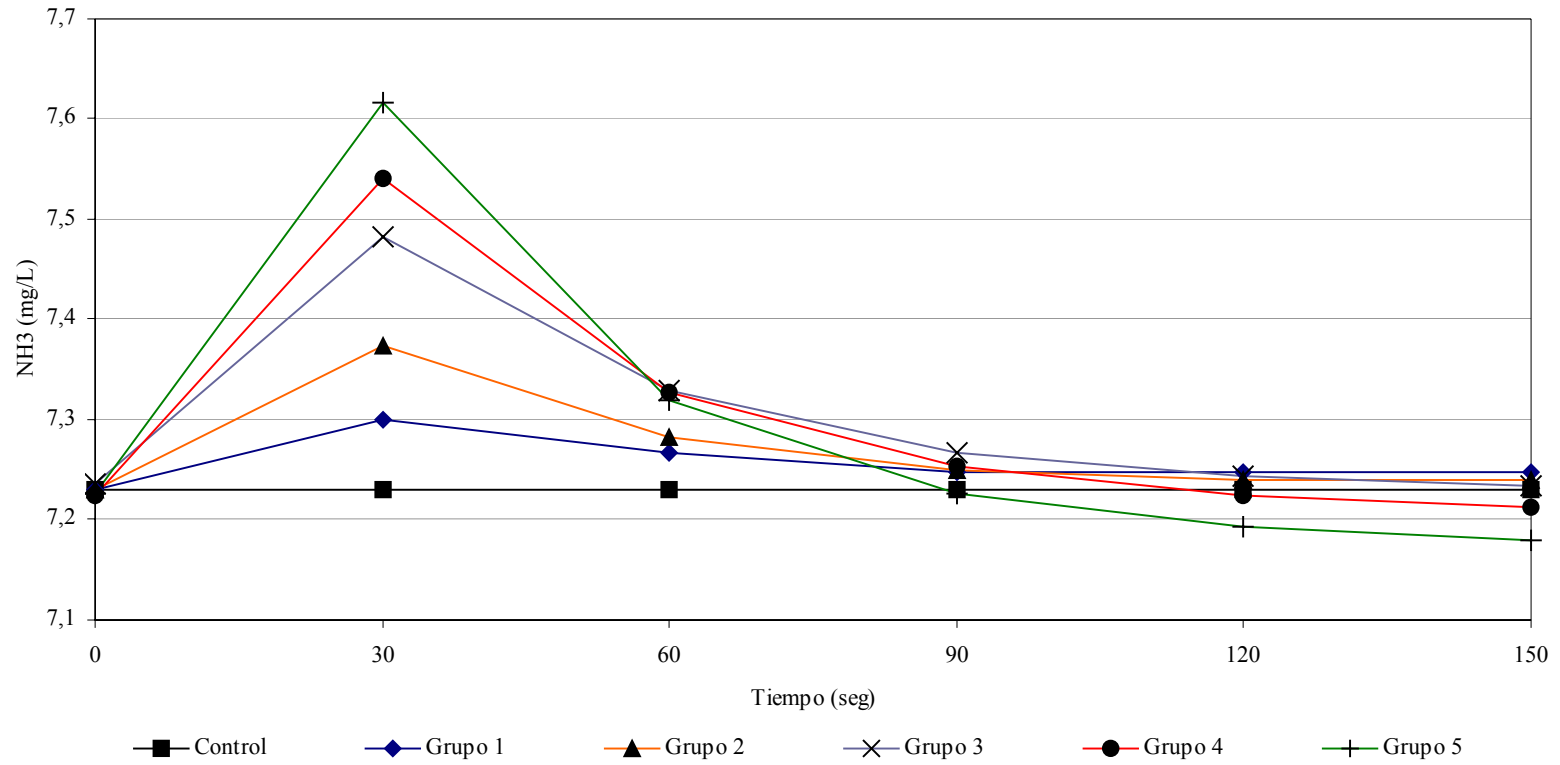




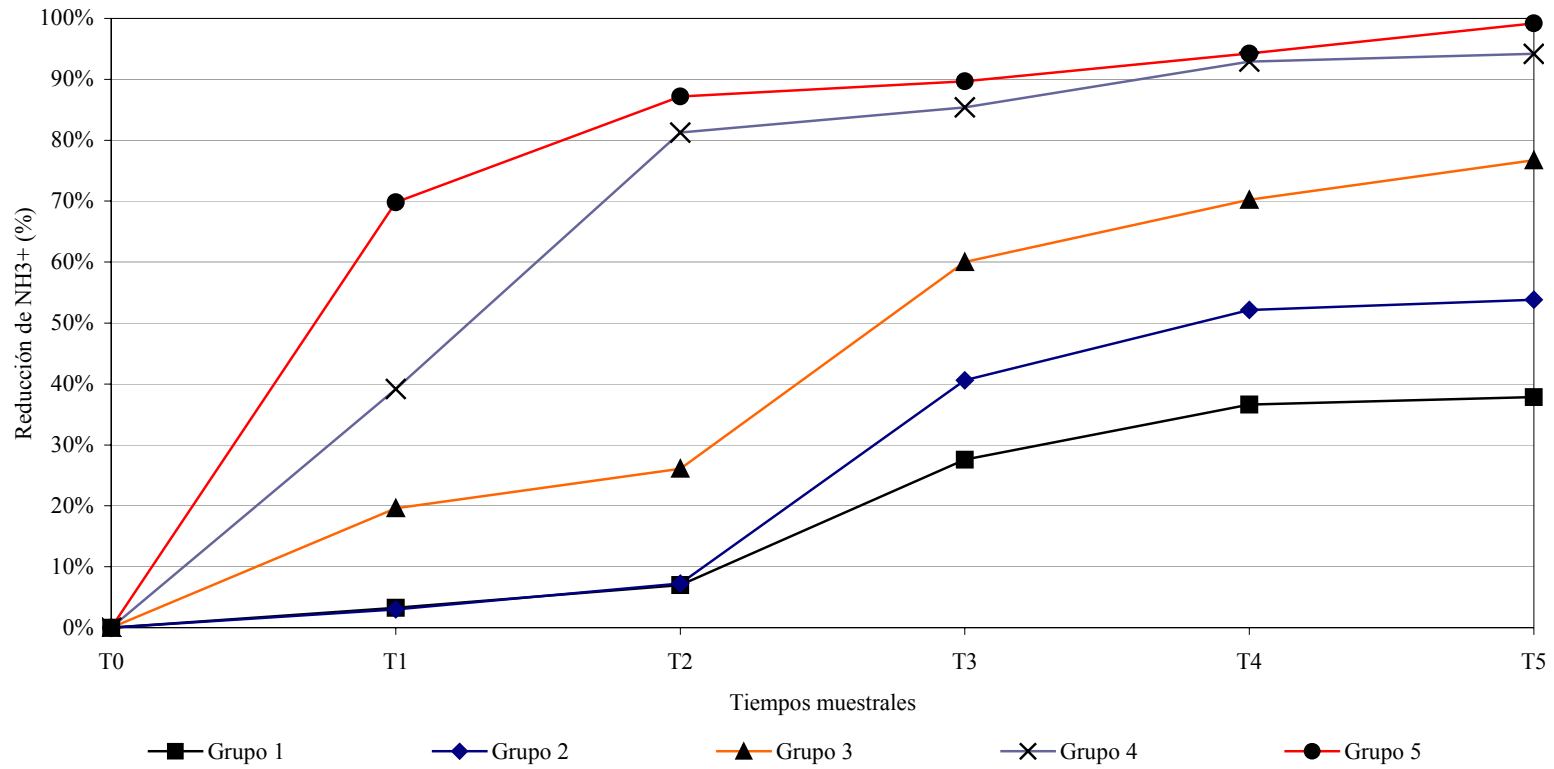
**Gráfico 3: Reducción absoluta de la concentración de amoniaco (en mg/L de NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) por ml de formalina utilizada para los grupos control y tratados con diferentes dosis de formalina durante 150 segundos.**



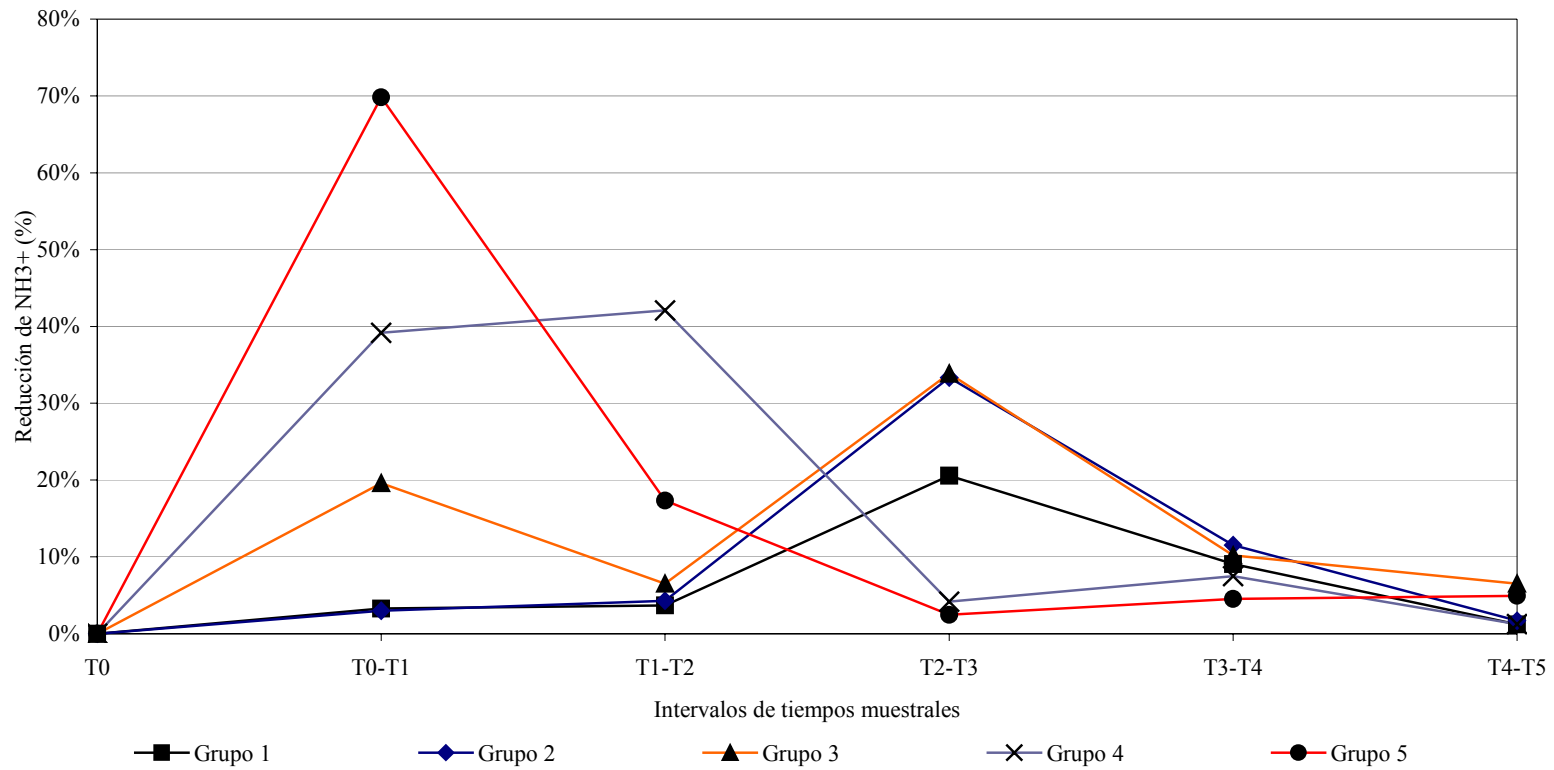
**Gráfico 4: Reducción absoluta y eficiencia de la reducción de la concentración de amoniaco (en mg/L de  $\text{NH}_3^+$ ) para los grupos control y tratados con distintas dosis de formalina durante 150 segundos**



**Gráfico 5: Tendencias de los valores promedio de pH para el grupo control y los grupos tratados con diferentes dosis de formalina.**



**Gráfico 6: Tendencias de la reducción promedio acumulada de  $\text{NH}_3^+$  (mg/L) por cada tiempo muestral para los grupos tratados con diferentes dosis de formalina durante 150 segundos.**



**Gráfico 7: Tendencias de las reducciones promedio de  $\text{NH}_3^+$  (mg/L) por cada intervalo de los tiempos muestrales para los grupos tratados con diferentes dosis de formalina.**

## 6. DISCUSIÓN.

En el presente ensayo se realizó con el propósito de evaluar la propiedad de la formalina para reducir el nitrógeno amoniacal de efluentes de agua. El agua utilizada fue de la piscicultura N°2 de Aguas Claras S.A. ubicada en la región Metropolitana, en el sector de Peñaflor.

Los niveles de amonio previo al ingreso son menores que 0,1 mg/L y a la salida son de 0,8 mg/L de amonio, lo que indica que la diferencia de nitrógeno amoniacal es aporte de los peces; además estos resultados concuerdan con los análisis realizados en esta experiencia ya que los niveles basales de cada uno de los grupos y sus repeticiones varían entre 0,74 y 0,83 mg/L.

El pH del agua que se utilizó en el ensayo también fue analizado previo a su ingreso al galpón y a la salida de este y los valores de pH no variaron entre ellos (7,2). Esto también concuerda con los valores obtenidos en el análisis de terreno, que variaron entre 7,22 y 7,24 previo al inicio de la experiencia.

Con los valores de pH anteriormente descritos y conociendo que éste es uno de los factores, que junto a la temperatura, influyen y favorecen directamente sobre la disociación del nitrógeno amoniacal total en amonio, es que se puede encontrar una mayor concentración de amonio en el agua.

La reducción del amonio se puede ver en el gráfico 1 y en el anexo 1, donde se puede evidenciar los valores de la concentración de amonio para el control y los grupos tratados. Para el grupo control hubo una reducción promedio de 1,24% (0,01 mg/L  $\text{NH}_3$ ) en comparación a la concentración inicial. El grupo 1, al cual se le adicionaron 2 ml de formalina por litro de agua, tuvo una reducción de un 37,86% (0,307 mg/L  $\text{NH}_3$  por cada 0,74 ‰ de formalina) para las lecturas del tiempo 0. La adición de 4 ml de formalina (grupo 2) produce una reducción de un 53,85% (0,420 mg/L de  $\text{NH}_3$  por cada 1,48 ‰ de formalina) a partir del inicio de la experiencia. El grupo 3, al cual se le adicionaron 8 ml de formalina hubo una reducción de 76,73% (0,627 mg/L  $\text{NH}_3$  por cada 2,96 ‰ de formalina). Hubo una reducción de un 94,17% (0,753 mg/L  $\text{NH}_3$  por cada 5,92 ‰ de formalina) en el grupo 4, en el que se utilizaron 16 ml de formalina por litro de agua. Y finalmente el grupo 5, en el que se adicionó una cantidad de 32 ml de formalina, se pudo reducir un 99,17% de  $\text{NH}_3$  (0,800 mg/L por cada 11,84 ‰ de formalina).

De lo anteriormente expuesto se puede deducir que la adición de formalina crea una disminución de la concentración basal de  $\text{NH}_3$  en cada uno de los grupos tratados, sin poder lograr una reducción total de del  $\text{NH}_3$ . Además, cada vez que se aumentó la dosis de formalina, se evidenció un aumento en la reducción de amonio en el agua tratada. Sin embargo, la magnitud del aumento fue cada vez menor que se aumentaba la dosis.

El análisis estadístico realizado a este ensayo, indica que todos los grupos entre sí, menos el grupo control, tienen diferencias estadísticamente significativas al término del tratamiento ( $p < 0,01$ ). Además, al tiempo 0, no existe diferencia entre tratamientos, en cambio los tiempos 1 a 5 existen diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ). Lo que significa que los tratamientos con formalina son capaces de reducir el nitrógeno amoniacal producido por los peces y además esta reducción ocurre desde el primer al último tiempo muestral, en este caso en particular.

La capacidad real de reducción de la concentración de amoníaco por efecto de la formalina es evaluada por cada grupo de tratamiento y el control, resultados respectivos se presentan en la Tabla 8. De esto se puede extraer que cada tratamiento, por sí solo, es capaz de reducir el amonio en cantidades entre 0,068 mg/L (grupo 5) y 0,415 mg/L (grupo 1) por cada ‰ (partes por mil) de formalina y por el tiempo que dura la experiencia, lo que indica que la reducción porcentual es de un 37,86% para el grupo 1 y de un 99,17% para el grupo 5 (11,84 ‰ de formalina), en cambio Chiayvareesajja (1993) indica que con una concentración base de 1 mg/L de nitrógeno amoniacal y con 20 ppm de formalina se puede remover un 92% del total, lo que significa que redujo 0,046 mg/L de  $\text{NH}_3$  por un  $\text{ml}^{-1}$  de formalina o dicho de otra forma, un ppm de formalina, en dichas condiciones, es capaz de reducir 0,124 mg/L de  $\text{NH}_3$ . Este resultado no se asemeja a los datos obtenidos por los grupos de tratamiento de este ensayo, que para una concentración inicial de 0,8 mg/L promedio de  $\text{NH}_3$  y con 16 ml de formalina (5,92 ‰) se puede remover un 94,17%, lo que significa que una ‰ de formalina reduce 0,127 mg/L de  $\text{NH}_3$ .

La eficiencia de los tratamientos relaciona la cantidad absoluta de  $\text{NH}_3$  reducida con la cantidad de formalina agregada en cada uno de los tratamientos. Los resultados de la eficiencia de reducción de la formalina se presentan en la Tabla 8. Ahí se puede apreciar que el tratamiento que redujo mayor cantidad de  $\text{NH}_3$  por ‰ o ml de formalina fue el grupo de tratamiento 1 (2 ml ó 0,74 ‰ de formalina) reduciendo 0,153 mg/L por ml de formalina o 0,415 mg/L por cada ‰ de formalina). Los resultados obtenidos por Chiayvareesajja (1993) indican que a concentraciones mayores de formalina se hace menos eficiente la remoción de amonio, lo que se puede comprobar en esta investigación, ya que la reducción de  $\text{NH}_3$  para el grupo de tratamiento 5 (32 ml o 11,84 ‰ de formalina) fue de 0,025 mg/L de  $\text{NH}_3$  por ml y de 0,068 mg/L por ppm de formalina.

En relación al tiempo en que ocurre esta reducción, se puede observar en el gráfico 1 que entre los 120 y 150 segundos posterior al agregar la formalina, en todos los grupos tratados se observa una tendencia a la estabilización en la reducción.

En el gráfico 6 y 7 se demuestra que mientras se avanza en el tiempo, el proceso de reducción continúa. Para los grupos 1, 2 y 3 el punto más alto de reducción se marca a entre los 60 y 90 segundos, con un porcentaje de reducción de 20,58%, 33,33% y 33,88% respectivamente. Para el grupo 4 este punto ocurre entre los 30 y 60 segundos con un 42,08% de reducción. Para el grupo 5 el máximo de reducción sucede entre los 0 y 30 segundos, lo que significa un 69,83% en la reducción total de amoníaco.

Es importante indicar que las concentraciones de formalina varían dependiendo de varios aspectos, una de ellas es la temperatura de almacenaje, ya que a temperaturas menores a 5°C, la formalina se concentra y cristaliza en paraformaldehído, dejando a la fase líquida con una menor concentración de formalina. Otro factor que incide en la formación de paraformaldehído es el tiempo de almacenaje, períodos mayores a dos meses en que se mantenga el líquido estático, se aumenta la formación de este compuesto, disminuyendo también la concentración de formalina.

Es necesario resaltar que con esta tesis se da inicio a una posible línea de investigación sobre el uso de este compuesto con el fin de poder reducir compuestos amoniacales de otro origen que no sea el de este estudio.

De lo anteriormente descrito puedo concluir que:

- La adición de formalina es capaz de reducir el nitrógeno amoniacal en forma de amonio de aguas de efluente destinadas al cultivo de peces.
- La capacidad real de reducción de amonio varió entre 0,068 mg/L como mínimo y 0,415 mg/L de agua por cada ‰ de formalina añadidos para cada uno de los distintos tratamientos a valores de temperatura y de pH indicados en la experiencia.
- La concentración más eficiente de formalina capaz de reducir la mayor cantidad de amoníaco fue la de 0,74 ‰ (grupo 1), logrando una reducción de 0,415 mg/L de amonio.
- El tiempo de reducción ocurre hasta los 150 segundos posterior a la adición de formalina.



## 7. BIBLIOGRAFÍA.

ALLISON, R., 1962. The effects of formalin and other parasiticides upon oxygen concentrations in ponds. Proc. Annu. Conf. S.E. Assoc. Game Fish Comm. 16: 446-449.

BREWSTER, R. Q., W.E. McEWEN. 1961. Organic Chemistry. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs. USA.

CHIAYVAREESAJJA, S., C. E. BOYD. 1993. Effects of zeolite, formalin, bacterial augmentation, and aeration on total ammonia nitrogen concentrations. Aquaculture 116: 33-45.

DURBOROW, R. M., D. M. CROSBY, M. W. BRUNSON. 1997. Ammonia in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication N° 463. USA.

ERIKSON, U., T. SIGHOLT, A. SELAND. 1997. Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 149: 243-252.

EPA (Environmental Protection Agency). 1986. Quality Criteria for Water. EPA 440/5-86-001. U.S. Environmental Protection Agency. USA.

HAUG, R.T., P.L. McCARTY. 1971. Nitrification with a submerged filter. Tech. Rept. 149. Dept. Civ. Eng'g. Stanford. California. USA.

HEIN, M. 1992. Química. 1ª Edición. Grupo Editorial Iberoamérica. México.

HILL, J. W., D. K. KOLB. 1999. Química para el nuevo milenio. 8ª Edición. Prentice Hall. México.

JOBLING, M. 1993. Nutrition, diet formulation and feeding practices. Salmon Aquaculture. Fishing News Books. England.

KNOPH, M. B. 1992. Acute toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. Comp. Biochem. Physiol. 101 N° 42: 275-282.

KNOPH, M. B., K. THORUD. 1996. Toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater – Effects on plasma osmolality, ion, ammonia, urea and glucose levels and hematologic parameters. Comp. Biochem. Physiol. 113A, N° 4: 375-381.

LING, S.W. 1977. Aquaculture in Southeast Asia: a historical overview. University of Washington Press. USA.

MARKING, L. L., J. RACH, T. SCHEIER. 1994. Evaluation of antifungal agents for fish culture. Progressive Fish-Culturist. N°56: 225-231.

MORRISON, R. T., R. N. BOYD. 1998. Química orgánica. 5ª Edición. Pearson Educación. México.

PETRUCCI, R. H., W. S. HARWOOD. 1999. Química general. Principios y aplicaciones modernas. 7ª Edición. Prentice Hall. España.

STREITWIESER, A., C. HEATHCOCK. 1979. Química orgánica. 3ª Edición. McGraw Hill. México.

SVOBODOVA, Z., R. LLOYD, J. MACHOVA, B. VYKUSOVA. 1993. Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper N° 54. FAO.

WEDEMEYER, G. A. 1996. Physiology of fish in intensive culture systems. 1ª Edición. Chapman & Hall. USA.

WESTERS, H. 1984. Principles of Intensive Fish Culture (A manual for Michigan's State Fish Hatcheries). Michigan Department of Natural Resources. USA.

WHITTEN, K. W., R. E. DAVIS, M. L. PECK. 1999. Química general. 5ª Edición. McGraw-Hill. España.

WILLOUGHBY, S. 1999. Manual of salmonid farming. Blackwell Science Inc. USA.

## 8. ANEXOS.

**Anexo 1: Valores de NH<sub>3</sub> (mg/L) en el grupo control y los 5 grupos de aguas tratadas con distintas dosis de formalina.**

Grupo	Repetición	Tiempo					
		0 (0 seg)	1 (30 seg)	2 (60 seg)	3 (90 seg)	4 (120 seg)	5 (150 seg)
Control	1	0,79	0,80	0,78	0,79	0,81	0,79
	2	0,81	0,79	0,81	0,79	0,80	0,80
	3	0,81	0,80	0,79	0,80	0,80	0,79
Grupo 1 (2 ml)	1	0,81	0,79	0,76	0,60	0,50	0,51
	2	0,82	0,77	0,75	0,57	0,52	0,50
	3	0,80	0,79	0,75	0,59	0,52	0,50
Grupo 2 (4 ml)	1	0,81	0,75	0,74	0,48	0,38	0,37
	2	0,79	0,78	0,72	0,47	0,37	0,35
	3	0,74	0,74	0,71	0,44	0,37	0,36
Grupo 3 (8 ml)	1	0,82	0,66	0,60	0,34	0,25	0,19
	2	0,83	0,65	0,59	0,33	0,24	0,18
	3	0,80	0,66	0,62	0,31	0,24	0,20
Grupo 4 (16 ml)	1	0,83	0,50	0,14	0,11	0,06	0,04
	2	0,78	0,48	0,15	0,12	0,06	0,06
	3	0,79	0,48	0,16	0,12	0,05	0,04
Grupo 5 (32 ml)	1	0,79	0,25	0,10	0,09	0,06	0,01
	2	0,81	0,24	0,10	0,08	0,04	0,00
	3	0,82	0,24	0,11	0,08	0,04	0,01

**Anexo 2: Valores de pH en el grupo control y los 5 grupos de aguas tratadas con distintas dosis de formalina.**

Grupo	Repetición	Tiempo					
		0 (0 seg)	1 (30 seg)	2 (60 seg)	3 (90 seg.)	4 (120 seg)	5 (150 seg)
Control	1	7,23	7,23	7,23	7,23	7,23	7,23
	2	7,23	7,23	7,23	7,23	7,23	7,23
	3	7,23	7,23	7,23	7,23	7,23	7,23
Grupo 1 (2 ml)	1	7,24	7,30	7,28	7,25	7,25	7,25
	2	7,22	7,31	7,26	7,24	7,24	7,24
	3	7,23	7,29	7,26	7,25	7,25	7,25
Grupo 2 (4 ml)	1	7,23	7,37	7,28	7,25	7,24	7,24
	2	7,23	7,36	7,28	7,25	7,24	7,24
	3	7,23	7,39	7,29	7,25	7,24	7,24
Grupo 3 (8 ml)	1	7,24	7,53	7,34	7,27	7,24	7,23
	2	7,23	7,45	7,32	7,26	7,24	7,23
	3	7,24	7,47	7,33	7,27	7,25	7,24
Grupo 4 (16 ml)	1	7,23	7,56	7,35	7,26	7,23	7,22
	2	7,22	7,54	7,32	7,25	7,22	7,21
	3	7,22	7,52	7,31	7,25	7,22	7,21
Grupo 5 (32 ml)	1	7,22	7,60	7,31	7,22	7,18	7,17
	2	7,23	7,62	7,32	7,23	7,20	7,19
	3	7,23	7,63	7,33	7,23	7,20	7,18

## **9. AGRADECIMIENTOS.**

Para mi padre Haroldo, mi madre María Teresa, y mis hermanos Eduardo y Marlene, por ser el principio, base y forma de mi persona.

A Silke y María Ignacia por ser las personas más importantes en mi vida.

Agradezco todo el apoyo que recibí de parte de Aguas Claras S.A. por haber aportado los recursos necesarios para llevar a cabo este trabajo, y en especial de señores Jaime Maldonado, Iván Salas y Andrés Millán por la fraternidad, amistad y compañerismo entregadas incondicionalmente.

Mi gratitud también la hago extensiva a Bioquality S.A., representada por las señoras Ximena Lecaros y Bestabé Ulloa, quienes me prestaron una valiosa ayuda además de los conocimientos técnicos para poder desarrollar este proyecto.

Esta tesis no hubiese sido posible sin el apoyo prestado por María Luisa, quien tuvo la voluntad de poder aceptar las diferentes condicionantes que circundaron este trabajo.