



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA MARINA Y ACUICULTURA



**EVALUACIÓN DE UN HIDROCICLON EN EL TRATAMIENTO DE AGUA
RESIDUAL DE UN SISTEMA DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLA.**

Por

DIEGO IGNACIO SEPÚLVEDA PINTO.

Profesor guía

JORGE AMADOR SILVA ACOSTA.

SEMINARIO DE TÍTULO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA MARINA Y ACUICULTURA

CONCEPCIÓN - CHILE

Septiembre, 2017

Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas

Este Seminario de Título ha sido realizado en la Unidad de Biotecnología Marina, Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción

Profesor Guía:

Profesor Jorge Silva Acosta
Unidad de Biotecnología Marina
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción, Concepción

Comisión Evaluadora:

Dra. María Angélica Mondaca
Profesora Emérita, Departamento de Microbiología,
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción, Concepción

Dr. Fernando A. Cruzat Cruzat
Departamento de Oceanografía
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción, Concepción

Coordinador Seminario de Título:

Dra. Alejandra Ilanos Rivera
Unidad de Biotecnología Marina
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción, Concepción

DEDICATORIA

A Franco & Camila.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que me ayudaron en las distintas aristas de este proceso, en primer lugar agradecer tremendamente a mi comisión evaluadora y profesor guía Jorge Silva sobre todo por la sabiduría y paciencia conmigo, por otra parte agradecer a mis compañeros de carrera quienes me apoyaron y estuvieron ahí durante todos estos años, sobre todo a Franco, Camila y Karina. También a mis cercanos y amistades desde fuera de lo académico quienes también formaron parte importantísima en este proceso; Y por supuesto a mis padres a quienes amo profundamente, gracias por entregarme oportunidades para desarrollarme como persona.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	16
MATERIALES Y MÉTODOS	17
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	36
LITERATURA CITADA	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N°1.- Diagrama de un hidrociclón convencional (Puprasert, 2004).	11
Figura N°2.- Esquema de un hidrociclón y sus corrientes de flujo. Corriente de entrada (IN), fluído en el hidrociclón (HC) y corriente de salida o spitcher (SP).	17
Figura N°3.- Comparación de sólidos descargados en el RSA versus límite permisible.	28
Figura N°4.- Variación en la concentración de amonio en dos regímenes.	30
Figura N°5.- Variación en la concentración de Cloro libre en dos regímenes.	31
Figura N°6.- Variación en la concentración de nitrito en dos regímenes.	31

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N°1 .- Tabla de Mc Grady para determinación de NMP.	22
Tabla N°2 .- Resumen de resultados.	24
Tabla N°3 .- Concentración de sólidos a partir de pesos en tubos falcon de 50 ml.	25
Tabla N°4 .- Parámetros químicos en HC, IN y SP de la figura 2 (mg/L).	25
Tabla N°5 .- Parámetros estándar en HC, IN y SP de la figura 2.	25
Tabla N°6 .- Concentración de sólidos suspendidos a partir de SST en tubos falcon de 50 ml	26
Tabla N°7 .- Parámetros físico/Químicos en muestreo de régimen intermitente de vaciado en 3 corrientes de flujo del hidrociclón (mg/L).	26
Tabla N°8 .- Parámetros estándar asociados a régimen alternado de vaciado	27
Tabla N°9 .- Resultado de análisis de varianza ANOVA para comparación en tratamiento de sólidos suspendidos	27
Tabla N°10 .- Sólidos suspendidos totales expresados en gramos descargados por día.	28
Tabla N°11 .- Colimetría asociada a caracterización del sistema	29
Tabla N°12 .- Eficiencia del hidrociclón en base a la capacidad de eliminar SST.	32

RESUMEN

El cuidado del medio ambiente es un concepto que se ha ido desarrollando desde la declaración de Estocolmo en 1972, en donde se establecen principios de convicción común con el fin de mitigar los impactos ambientales producidos por el desarrollo socio económico. Usando como base dichos principios, se evaluó un hidrociclón en el tratamiento de agua residual del sistema de recirculación acuícola perteneciente a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción. Un hidrociclón es un equipo que permite separar sólidos de una matriz líquida por centrifugación. En el sistema de recirculación (RSA) evaluado éste se encuentra al final de la cadena de procesos permitiendo de este modo separar sólidos del agua, en su mayoría materia fecal. Dicha evaluación tomó 3 ejes principales: Concentración de sólidos suspendidos, parámetros químico/físicos y parámetros microbiológicos. Es importante mencionar que durante el desarrollo del estudio, se presentaron condiciones ambientales que provocaron eventualmente cambios en el entorno, afectando gran parte de la biomasa de truchas cultivadas. En el marco de lo establecido anteriormente, la evaluación fue planteada como un estudio en condiciones extremas comparando 2 regímenes diferentes de funcionamiento del hidrociclón. Uno de vaciado único diario versus otro intermitente. Realizando un análisis de varianza ANOVA con un 95% de confiabilidad, se obtuvo que el régimen alternado de descarga del hidrociclón no lograba cumplir su cometido de bajar la concentración de sólidos suspendidos (SST), sin embargo al analizar el caudal másico de descarga diaria de sólidos suspendidos totales, el tratamiento alternado de descarga presentó una mejora en la eficiencia del hidrociclón en alrededor de un 133%.

ABSTRACT

Caring for the environment is a concept that has been developed since the Estocolmo declaration on 1972, in which it is established principles of common conviction with the purpose of reduce the environmental impacts due to the socio economic development. Using these principles as a logistic base, an hydrocyclone has been evaluated on a fish farm recirculation system, specifically on waste water treatment. A hydrocyclone is an equipment that allows the separation of solid material from liquid. On the recirculation system (RAS) this gear is on the final part of the process chain, the purpose of this is to remove the fecal material from the water. The evaluation had 3 main axes: Suspended solids, physical and chemical parameters, and microbiological aspects. It is important to mention that on the development of this project, there were environmental issues that interfered to the data obtained; affecting huge part of the biomass of fish in culture was one of the consequences. Within that established, the evaluation has to be seen as a study of the system under extreme conditions. Comparing two functional regimes of the hydrocyclone (one of one discharge and the other with three discharges) and using an ANOVA analysis with 95% of confidence it was obtained that the altered discharge regime was not effective on lowering the concentration of suspended solid concentration. Although, the mass flux of spitcher does improve with the alternate regime in 133% compared with the daily regime.

INTRODUCCIÓN

Acuicultura es un concepto que se define como: "Actividad que tiene por objeto la producción de recursos hidrobiológicos organizada por el hombre"¹. El aumento constante de la actividad acuícola a nivel mundial ha sido una ventaja desde un punto de vista económico, sin embargo dado lo anterior, es que cada vez más tipos de sistemas acuícolas son vistos como poco amigables con el medio ambiente (Lee et al., 2009), y acorde con trabajos como el de Cripps y Bergheim 2000, se establece que la mayor cantidad de desechos provienen o se originan a partir de la alimentación en los cultivos. Debido a lo anterior, el correcto entendimiento y estimación de los desechos como alimento o sólidos fecales es esencial para formular estrategias ambientales apropiadas para el cultivo (Eding et al., 2006), además diversos estudios han emprendido usar análisis directo por medios químicos, ya que este tipo de evaluación de la calidad de agua es útil para examinar la concentración de contaminantes en un volumen dado de agua. En respuesta al manejo de aguas asociado al cultivo de organismos acuáticos, surgen sistemas de reutilización (RAS o por su nombre en inglés) los cuales son usados para reducir el consumo de aguas en cultivos en tierra. La tendencia en la que se han usado los RAS, es principalmente disminuir el nivel de consumo de agua por kg de alimento con el objetivo de aumentar el porcentaje de reciclaje (Eding, 2006).

Dado que este proyecto contempla e involucra conceptos asociados al medio ambiente, es necesario partir por definir conceptualmente ciertos términos. Manejo medioambiental es un concepto que está sujeto al contexto en el cual se utilice. Para entenderlo de mejor forma es necesario definir qué es "medio ambiente". El diccionario de la lengua española de la RAE lo define como: "Conjunto de circunstancias exteriores a un ser vivo"². También se le puede considerar como: "El aire, agua y tierra en donde viven personas, animales y plantas"³.

La unidad de biotecnología marina de la Universidad de Concepción cuenta con un sistema de recirculación acuícola en donde se cultivan peces, específicamente salmonídeos. En dicho sistema de cultivo se deben tratar las aguas para su reutilización. Uno de los tratamientos unitarios corresponde al retiro de sólidos generados por los peces. Esto se realiza a través de un hidrociclón, el cual corresponde a un equipo que permite una separación por

centrifugación de materiales en el líquido que se hace pasar por éste, estos materiales por lo general son partículas sólidas, pero también pueden ser burbujas, aceites y otros.

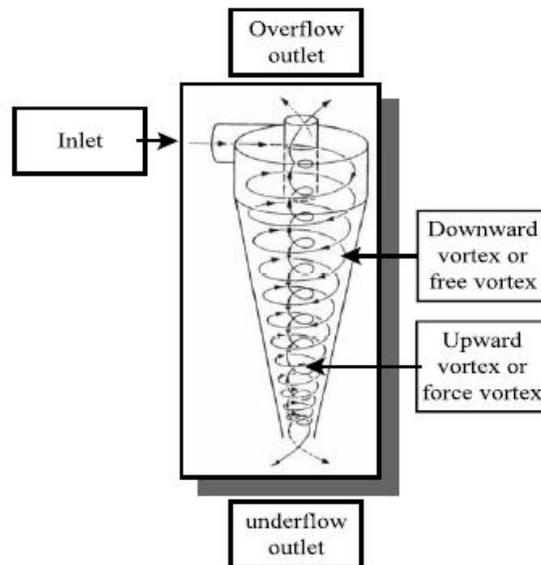


Figura N° 1.- Diagrama de un hidrociclón convencional (Puprasert, 2004).

El cuerpo de un hidrociclón consta de dos partes: una cilíndrica y otra cónica. En la figura 1 se muestra la operación clásica de un hidrociclón diseñado para la separación sólido-líquido. El fluido es inyectado de forma tangencial en la sección cilíndrica alta lo cual hace que genere un flujo de caída tipo "vortex" en la sección cilíndrica. De este modo, las partículas con mayor velocidad de decantación son llevadas hacia las paredes del equipo siguiendo el flujo y finalmente caen por gravedad hacia la corriente de salida (Underflow outlet).

Sin embargo, la idea de evaluar este equipo en particular surge en base a un problema el cual se asocia al bajo caudal que posee el RAS referido anteriormente. Normalmente estos equipos deben funcionar con caudal constante para cumplir la función para la cual están destinados. No obstante en el sistema en que se realizó el estudio, no existe un caudal necesario para cumplir con el funcionamiento adecuado del equipo, por lo que se debe acumular sólidos y realizar una descarga al día. Esto entrega una carga elevada de residuos líquidos, exceso de nutrientes, así como también sólidos suspendidos que provienen de los mismos peces en cultivo. Esto debido a la acumulación de materia durante el día dentro del equipo, incluyendo fechas y hojas que caen dentro de éste.

La separación de partículas sólidas en los hidrociclones es inducida por la fuerza centrífuga en el interior del cuerpo del hidrociclón y esta depende de la densidad, tamaño y forma de la partícula. A diferencia de otras máquinas que utilizan la fuerza centrífuga, el hidrociclón no tiene partes móviles. La fuerza de separación propiamente tal, proviene de la transformación de la energía estática en energía dinámica del fluido (Puprasert et al, 2004). La eficiencia de estos equipos está determinada por sus características de flujo interno. Desde hace varios años, se afirma que en cultivos de peces, la caracterización de la calidad de agua permite obtener información básica para el proceso de tratamiento. En orden de hacer que los sistemas de recirculación sean económicamente competitivos, es necesario el desarrollo de procesos de tratamiento de agua. Dado lo anterior es importante obtener data básica que permita caracterizar el agua (Chen, 1992). Uno de los parámetros que afectan a los sistemas que se ha estudiado ampliamente es la concentración de sólidos suspendidos, de hecho el manejo de esta variable es uno de los factores clave en la determinación del éxito en un sistema de recirculación debido a su potencial impacto (Stickney, 1979). Al tener tal importancia, es que se hace necesario realizar análisis y evaluaciones sobre el manejo de éstos. Finalmente, los sólidos suspendidos pueden llegar a mineralizarse hasta producir amonio, el cual en su forma desionizada es altamente tóxico para los peces. Como resultado, la acumulación de desechos sólidos puede resultar ser el parámetro limitante en un sistema de recirculación (Muir, 1982). Los hidrociclones son equipos muy eficientes y aun que son usados en diferentes ámbitos, la selección y el diseño de estos equipos es aún empírica y basada en experiencia (Chen et al., 2000). Además, su uso ha sido empleado no solo en el área acuícola, sino que también en la industria química, minera, farmacéutica, etc. (Delgadillo, 2005). De este modo, se infiere que es necesaria la evaluación de éstos para mejorar su desempeño. Sin embargo una descripción completa de su performance es muy compleja dado el efecto de un largo número de variables tanto operativas como también de diseño (Lee, 2014). De este modo, un resumen del funcionamiento de estos equipos debería separar el hidrociclón en 3 flujos, de entrada superior, salida superior y salida inferior. En el caso del sistema de recirculación de la unidad de biotecnología marina, la entrada del hidrociclón proviene de las unidades de cultivo donde se maneja trucha arcoíris (*O. mykiss*),

la corriente de salida se recircula al sistema y la salida inferior corresponde a la descarga de desagüe.

Otro aspecto importante de considerar es la carga bacteriana. Históricamente, las bacterias coliformes han sido usadas como indicadores de calidad del agua, debido a su relación con el tubo intestinal y con bacterias patogénicas (Conboy y Goss, 2001). Las heces animales pueden contener bacterias incluyendo *Escherichia Coli* O157, *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes*, entre otros (Valenzuela et al, 2009). De este modo se entiende que es un área importante de estudiar debido a su potencial impacto tanto en el medio, así como también para el ser humano mismo. Trabajos como el de Valenzuela, 2009 proponen que la variabilidad en la concentración de microorganismos en aguas Chilenas y los factores que la afectan no son bien conocidos en el presente, por lo que es importante mejorar el estado de conocimiento sobre la calidad y tratamiento de este recurso. Agregando, los análisis de colimetría han sido utilizados a lo largo de los años para determinación de calidad de agua. Existe documentación como el trabajo de Edberg, 2000 en donde se establece que *Escherichia coli* es el mejor indicador biológico para la protección de salud pública asociada a aguas.

El grupo de bacterias coliformes totales comprende todos los bacilos Gramnegativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. El grupo de coliformes fecales, está constituido por bacterias Gram-negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h. de incubación a $44.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$. Este grupo no incluye una especie determinada, sin embargo la más prominente es *Escherichia coli*. La demostración y el recuento de organismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivo líquidos y sólidos con características selectivas y diferenciales (Camacho et al, 2009).

Uno de los aspectos que puede incluir un proyecto es la implementación de sistemas de gestión ambiental. La norma ISO 14001 se usó como referencia para realizar la evaluación y de aquí se desprende que bajo el marco de la norma ISO 14001, es la empresa o institución la que define sus objetivos y metas bajo la premisa: ¿Qué queremos y podemos hacer? Es así como en la norma se define un objetivo y una meta, de forma paralela es importante que tanto el objetivo como la meta sean consistentes con la mejora continua y el compromiso de prevención de contaminación y en la posible, los objetivos deben ser específicos y las metas medibles (Rodríguez, 2011). De este modo es que para establecer un sistema de gestión asociado al manejo de aguas, es necesario evaluar y caracterizar los parámetros sumados a la función del equipamiento en el presente.

¹ Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, 2016.

² Real Academia Española, Diccionario de la Lengua Española, 2016.

³ Cambridge Advanced Learner´s Dictionary

HIPÓTESIS

Si bien el presente estudio se enmarcó en una habilitación profesional, se ha podido establecer la siguiente hipótesis de trabajo:

- Un régimen alternado de vaciado de un hidrociclón mejorará el tratamiento de aguas residuales en un sistema de recirculación acuícola.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el régimen operacional de un hidrociclón que optimice el tratamiento de aguas en un sistema de recirculación acuícola (RSA).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar la eficiencia a régimen diario de vaciado e intermitente de un hidrociclón en un sistema de recirculación acuícola.

- Comparar el desempeño actual (régimen diario de vaciado) de un hidrociclón versus un régimen intermitente de vaciado.

- Determinar los parámetros físico/químicos y colimetría asociados a la descarga de RIL bajo los regímenes diario e intermitente de vaciado.

- Determinar la carga másica diaria de sólidos suspendidos totales en un régimen diario y alternado de vaciado del hidrociclón.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se realizó en el sistema de reutilización de agua de la Unidad de Biotecnología Marina, Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción, región del Bío Bío, Chile. Se Evaluó el desempeño de un hidrociclón en el tratamiento de concentración de sólidos suspendidos, así como también se determinó su caudal másico de descarga ante dos regímenes. De forma paralela se analizó la calidad bacteriológica del agua mediante la técnica del número más probable (NMP) y además se caracterizó el sistema en cuanto a parámetros físico/químicos los cuales corresponden a amonio, cloro libre, nitrato, fosfato, oxígeno, pH y temperatura.

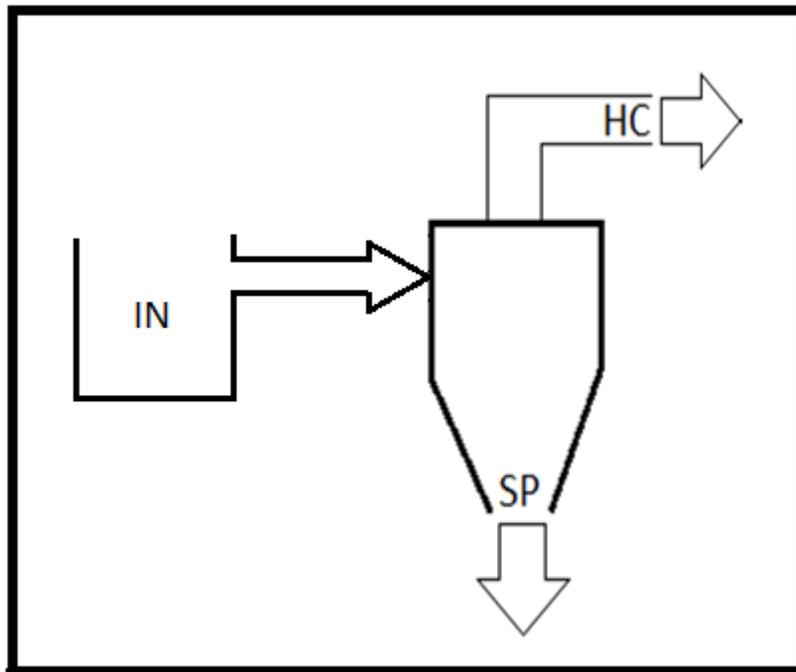


Figura N°2.- Esquema de un hidrociclón y sus corrientes de flujo. Corriente de entrada (IN), fluído de salida superior en el hidrociclón (HC) y corriente de salida de desagüe o spitcher (SP). Se utilizó dicha nomenclatura para los rótulos de los datos obtenidos en el experimento.

Se compararon dos regímenes de vaciado de un hidrociclón: vaciado único diario e intermitente. Los muestreos en ambos regímenes fueron hechos bajo los mismos protocolos, sin embargo en el régimen diario se trabajó con un solo muestreo, mientras que el régimen

intermitente abarcó 3 muestreos en un día, siendo el objetivo determinar el funcionamiento óptimo del equipo bajo las diferentes condiciones del sistema. De este modo es que en primera instancia se caracterizó el funcionamiento regular (descarga diaria) del equipo tomando como referencia el tratamiento de sólidos suspendidos, parámetros físico/químicos, así como también bacteriológico. Finalmente, con una semana de diferencia se analizó el régimen intermitente o alternado para lo cual se realizaron 3 muestreos con intervalos de dos horas, siendo el primero a las 11:00 AM, el segundo a las 13:00 hrs y el tercero a las 16:00 hrs. Cabe destacar que la evaluación consideró una biomasa aproximada de 13,8 kg, correspondiente a 667 individuos. La biomasa fue alimentada los días previos a la toma de muestra a una tasa de alimentación diaria entre 1,34 y 1,41 % del peso corporal.

A continuación se detalla por separado la metodología para cada análisis.

1.1 Sólidos suspendidos.

1.1.1 Toma de muestra.

Para la determinación en el régimen diario de vaciado, los sólidos suspendidos totales (SST) se midieron utilizando tubos falcon de 50 ml, los cuales fueron llenados con agua obtenida directamente de tres puntos: Desagüe del sistema (SP), salida superior del hidrociclón (HC), y agua de entrada al hidrociclón (IN) (ver figura 2). Las muestras se tomaron por triplicado llenando un recipiente de 10 litros para SP, el cual se dejó decantar por 20 minutos para luego descartar 9 litros de éste, dejando así los sólidos acumulados en el fondo en un volumen de 1 litro. Utilizando una varilla se agitó y re suspendieron los sólidos y se procedió a llenar los tubos. Para los puntos HC e IN, el agua se obtuvo usando frascos de vidrio de 1 litro directamente. Se rotularon los tubos y se guardaron para su posterior centrifugación. Para el régimen intermitente se procedió del mismo modo, con una semana de diferencia realizando 3 muestreos en un día.

1.1.2 Centrifugación y determinación de peso.

Previo al muestreo, los tubos fueron rotulados y pesados en una balanza analítica para luego comparar los pesos en g de los tubos vacíos con el peso de los tubos con sólidos, de este modo se obtiene el peso de los sólidos sin los tubos. Una vez obtenida la muestra in situ, los

tubos fueron centrifugados a 5000 rpm por 5 minutos. La misma fuerza centrífuga que se ejerce sobre los tubos actúa sobre las partículas llevándolas hacia el fondo del tubo dejando un pellet adherido a la pared inferior del tubo. El agua sobrante fue descartada y los tubos se dejaron secando por una noche para luego ser pesados en una balanza analítica. Como se mencionó anteriormente, al tener los pesos de los tubos con y sin sólidos, mediante la resta de dichos valores se obtiene el peso solamente de los sólidos contenidos en la muestra. Cabe destacar que este proceso fue utilizado tanto para el régimen diario, así como también para el intermitente.

El protocolo empleado como base para esta determinación se describe a continuación:

Protocolo para medición de concentración sólidos suspendidos en agua residual.

1. Rotular y pesar tubos falcon de 50 ml con balanza analítica y registrar los pesos correspondientes. El valor de peso en este punto corresponde al peso inicial (P_0).
2. Tomar muestra de 10 litros de agua en un recipiente lavado y libre de sólidos en su interior, luego dejar decantar durante 15 - 25 minutos.
4. Una vez decantado, descartar 9 litros usando una manguera, de este modo los sólidos se acumularan en 1 litro, lo cual facilitará su medición.
5. Homogeneizar la muestra y obtener alícuotas con tubos falcon de 50 ml. Llenar 12 tubos y uno extra en caso de pérdida de agua en alguna de las muestras.
6. Centrifugar los tubos a 5000 rpm durante 5 minutos, luego remover el agua y dejar secando el pellet en el tubo durante un día a temperatura ambiente.
7. Pesar los tubos nuevamente y registrar. El peso en este punto corresponde al peso final del tubo y pellet (P_f).
8. Para la determinación de los sólidos suspendidos acumulados en el pellet (SS_p), calcular para cada uno de los tubos, la diferencia entre peso final e inicial mediante:

$$SS_p = P_f - P_0$$

Finalmente, para obtener la concentración de sólidos suspendidos totales (SST) expresados en g/L, calcular el promedio de SS_p y seguir la siguiente ecuación:

$$SST = (SS_p \times 1000) / 50$$

1.2 Parámetros físico/químicos de agua.

1.2.1 Determinación de parámetros químicos.

En paralelo a la medición de sólidos suspendidos se realizó un análisis químico en base a las mismas muestras de agua en los puntos SP, IN y HC del hidrociclón (Figura 2). El diseño experimental respecto a estos análisis fue el mismo que para SST, es decir, se realizó una caracterización del sistema y posteriormente se muestreó el vaciado intermitente. Los parámetros que se midieron fueron: Amonio, cloro libre, nitrito y fosfato. Las muestras de agua fueron analizadas con el equipo HI 83200 Multi Parameter Photometer de Hanna Instruments según los protocolos respectivos para cada parámetro. A partir de la muestra directa del sistema de recirculación se obtuvo una porción de agua de 200 ml para llevar al laboratorio y utilizando las cubetas en el kit del equipo se obtuvo 10 ml de agua por muestra, los cuales fueron tratados con sus respectivos reactivos para determinar concentración de los parámetros mediante fotometría. Este procedimiento se aplicó en la caracterización de sistema, así como también en el experimento de régimen intermitente

1.2.2 Determinación de parámetros estándar.

Al medir concentración de sustancias en el agua es importante mantener registro de los parámetros químicos y físicos, dado esto es que al igual que los experimentos anteriores, se registró para cada muestra de agua el pH, temperatura y concentración de oxígeno disuelto, los cuales se consideraron como parámetros estándar. La medición de oxígeno se hizo con el sensor de saturación de oxígeno presente en la unidad de desafío del sistema de recirculación, sumergiendo el electrodo directamente en el contenedor de muestra y para la medición de pH y temperatura se utilizó un medidor de pH y temperatura Hanna pHep4 (HI 98127) el cual posee la ventaja de que permite medir estos parámetros in situ. Estos datos se obtuvieron para la caracterización del sistema y para el experimento de régimen intermitente.

1.3 Calidad bacteriológica del agua

1.3.1 Técnica del número más probable NMP.

Se obtuvo una muestra del punto SP (ver figura 2) la cual fue trasladada al laboratorio de microbiología ambiental. Usando tubos con caldo lactosado se sembraron 10, 1 y 0,1 ml de la muestra respectivamente. Los tubos se rotularon y se incubaron a 37°C durante 48 horas.

Una vez transcurrido el tiempo de cultivo, se anotó cuales tubos mostraron desarrollo bacteriano positivo. El criterio para discernir entre desarrollo positivo o negativo recae en la observación de turbidez en el caldo y presencia de gas en la campana de vidrio. De los tubos con desarrollo bacteriano positivo se traspasó 0.1 ml a 3 tubos con caldo bilis verde brillante BVB y 3 tubos con caldo EC. Al sembrar los tubos positivos en estos 2 medios de cultivo selectivos es que se puede diferenciar los coliformes totales de coliformes fecales. Los tubos con BVB (Coliformes totales) se cultivaron a 37°C y los tubos con caldo EC (Coliformes fecales) se cultivaron en baño maría a 44.5°C ambos por 48 horas tras la inoculación. Transcurrido el tiempo de cultivo se registró el número de tubos positivos (con turbidez y producción de gas), y se interpretó en la Tabla de Número más probable anexa a continuación.

1.3.2 Determinación del número más probable.

El registro del desarrollo bacteriano positivo en los tubos es imprescindible para interpretar esta tabla. El procedimiento consiste en revisar cuántos tubos de cada cultivo mostraron desarrollo bacteriano positivo, tanto caldo BVB para detectar coliformes totales y caldo EC para detectar coliformes fecales. Los números en negrita de la tabla corresponden a los valores de las posibilidades de combinación de desarrollo en los tubos y el número a su derecha corresponde al número de bacterias por cada 100 ml de agua (NMP/100). De este modo, si todos los tubos dieran positivo, se consideraría como resultado 333, lo cual equivale a un NMP de 2400/100ml, de otro modo si ningún tubo registrara turbidez se consideraría como resultado 000 lo cual según la tabla correspondería a un NMP <3/100 ml.

Tabla N°1.- Tabla de Mc Grady para determinación de NMP

NMP/100							
000	<3	100	4	200	9	300	23
001	3	101	7	201	14	301	39
002	6	102	11	202	20	302	64
003	9	103	15	203	26	303	95
010	3	110	7	210	15	310	43
011	6	111	11	211	20	311	75
012	9	112	15	212	27	312	120
013	12	113	19	213	34	313	160
020	6	120	11	220	21	320	93
021	9	121	15	221	28	321	150
022	13	122	20	222	35	322	210
023	16	123	24	223	42	323	290
030	9	130	16	230	29	330	240
031	13	131	20	231	36	331	460
032	16	132	24	232	44	332	1100
033	19	133	29	233	53	333	2400

1.4 Definición de caudal másico de descarga diaria de SST.

Para la determinación de la descarga de SST diaria se utilizaron los promedios concentración de descarga en el punto SP (figura 2). Utilizando estos valores y considerando un caudal definido in situ de 30 litros por minuto, se efectuó la estimación de la masa de SST descargada al día para cada régimen evaluado. Lo anterior tuvo como finalidad de comparar la data con la normativa nacional de descarga de residuos definida en el DS 90.

RESULTADOS

2. Presentación de resultados obtenidos.

Una vez obtenidas las muestras de SST, se aplicó un ANOVA comparando la data obtenida para el régimen diario de vaciado y régimen intermitente. Utilizando un 95% de confianza.

En la tabla N°2 se establece si existe o no una diferencia significativa entre régimen alternado de vaciado versus uno diario de descarga en lo que respecta a la concentración de SST. El análisis de la data obtenida fue realizado con ANOVA y lo que expresa finalmente en concreto esta tabla es estadísticamente no habría un efecto significativo sobre el tratamiento de concentración de SST. Por ende, el hidrociclón bajo régimen intermitente de descarga no mejoraría su rol principal en el tratamiento de concentración de SST del RSA sin embargo, al analizar la masa de SST descargada en el día si se observó un efecto positivo en la remoción de éstos.

Tabla N°2.- Resumen de resultados.

Análisis	Efecto	No hay efecto
Concentración SST		X
Caudal Másico SST	X*	

*Efecto en la eficiencia del hidrociclón en la remoción de sólidos calculado.

A continuación se detalla la data numérica obtenida para los análisis correspondientes.

2.1. Caracterización del sistema, régimen de vaciado diario único.

Tabla N°3.- Concentración de sólidos a partir de pesos en tubos falcon de 50 ml.

TUBO	SST (g)	SST (g/L)
1	0,106	2,12
2	0,302	6,04

Observación: ambos pesos corresponden a muestras tomadas de la salida inferior del hidrociclón (SP en fig 2).

Tabla N°4.- Parámetros químicos en HC, IN y SP de la figura 2 (mg/L).

Parámetro	HC	IN	SP
Amonio	0,30	0,43	0,42
Cloro libre	0,04	0,12	0,05
Nitrito	0,30	0,32	0,25
Fosfato	15,40	13,30	15,20

Tabla N°5.- Parámetros estándar en HC, IN y SP (figura 2).

Parámetro	HC	IN	SP
OXIGENO (mg/L)	8,05	8,05	7,88
pH	6,9	6,7	6,9
TEMP(°C)	23,3°C	23,2	22,9

2.2 Experimento de régimen alternado de vaciado

Tabla N°6.- Concentración de sólidos suspendidos a partir de SST en tubos falcon de 50 ml.

Hora muestreo	Tubo	SST (g)	SST (g/L)
11:00	1	0,105	2,1
	2	0,112	2,24
13:00	3	0,132	2,64
	4	0,284	5,68
16:00	5	0,194	3,88
	6	0,126	2,52

Nota: A partir de esta tabla se realizó un análisis de varianza para comparar el régimen intermitente de vaciado diario único.

Tabla N°7.- Parámetros físico/Químicos en muestreo de régimen intermitente de vaciado en 3 corrientes de flujo del hidrociclón (mg/L).

	Parámetro	HC	IN	SP
11:00 am	Amonio	0,42	0,5	0,5
	Cloro libre	0,09	0,05	0,05
	Nitrito	0,05	0,18	0,17
	Fosfato	4,8	4,7	5,5
13:00 pm	Amonio	0,31	0,45	0,34
	Cloro libre	0,02	0,05	0,03
	Nitrito	0,2	0,17	0,23
	Fosfato	4,3	4,6	3,9
16:00 pm	Amonio	0,31	0,4	0,18
	Cloro libre	0,04	0,31	0,06
	Nitrito	0,15	0,13	0,17
	Fosfato	4,6	3,1	2,6

Tabla N°8 Parámetros estándar asociados a régimen alternado de vaciado.

	PARÁMETRO	HC	IN	SP
11:00 am	OXIGENO (mg/L)	8,29	8,23	8,18
	pH	7,3	6,2	6
	TEMP (°C)	25,7	25,7	24,9
13:00 pm	OXIGENO (mg/L)	8,39	7,88	8,59
	pH	6,3	6,5	6,1
	TEMP (°C)	27,2	27	27,1
16:00 pm	OXIGENO (mg/L)	8,29	8,29	7,88
	pH	6,3	6,4	6,4
	TEMP (°C)	27,9	28,1	27,9

2.3 Resultado de ANOVA en comparación de régimen intermitente versus régimen diario.

Tabla N°9.- Resultado de análisis de varianza ANOVA¹ para comparación en tratamiento de sólidos suspendidos totales.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,00543004	2	0,00543004	0,75033682	0,41965454	5,98737758
Dentro de los grupos	0,04342083	6	0,00723681			
Total	0,04885088	7				

1: Para todos los análisis de varianza se usó un nivel de confianza de 95%, por ende una significancia de 5%, lo cual establece un valor P de referencia de 0,05. Estableciendo como hipótesis nula del test que no habría diferencia significativa entre los 2 regímenes e hipótesis alternativa que el segundo tratamiento (régimen alternado) si es significativo respecto al vaciado diario. El valor P de este análisis en particular arroja un valor P mayor a 0,05 por lo que se acepta la hipótesis nula del experimento.

Por otra parte, al no trabajar utilizando concentración, si no que caudal másico por día, los sólidos suspendidos varían de la siguiente forma:

Tabla N°10.- Sólidos suspendidos totales expresados en gramos descargados por día.

	SST (g/día)
Vaciado único	12,24
Régimen intermitente	24,28
Límite DS 90	3.520

En esta tabla se muestra una comparación entre el límite másico de descarga que rige el DS 90, decreto que establece cantidades permisibles de descarga de contaminantes a cuerpos fluviales. Si bien el régimen intermitente genera una mayor descarga de SST, ésta se encuentra muy por debajo del límite permisible, por lo que no se consideraría como un peligro para el medio.

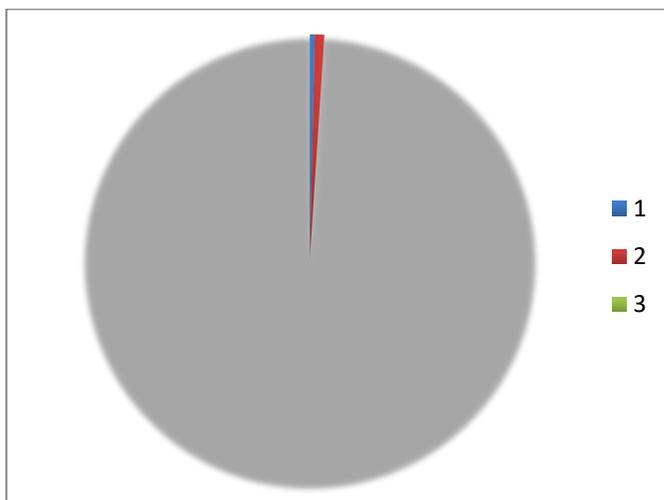


Figura N°3.- Comparación de sólidos descargados en el RSA versus límite permisible. En la figura se presenta un gráfico circular representando la comparación entre la descarga diaria de sólidos en régimen diario (1), régimen intermitente (2) y el límite que acepta la normativa establecida en el decreto supremo 90 (3).

Los resultados en la figura N°3 muestran la diferencia entre los SST descargados al día en comparación con lo que acepta la normativa Chilena, sin embargo es importante destacar que esto está sujeto a una biomasa, número de individuos, caudal y funcionamiento del RAS en particular.

2.4 Colimetría total y fecal

En la siguiente tabla se presentan los resultados para el análisis de colimetría mediante la técnica de NMP, la interpretación de estos resultados proviene de la tabla de McGrady. Para colimetría total se encontró una concentración bacteriana de 43 bacterias por cada 100 ml de agua, mientras que para colimetría fecal la concentración bacteriana correspondería a 0 bacterias por cada 100 ml de agua, por lo que se descarta la presencia de bacterias de origen fecal. Ambos resultados se obtuvieron tras 48 horas de incubación en dos medios selectivos distintos. Para colimetría total se utilizó caldo BVB y se cultivo a 37°C y para colimetría fecal se usó caldo EC cultivando a 44.5°C.

Tabla N°11.- Colimetría asociada a caracterización del sistema.

Colimetría total	Colimetría Fecal
NMP 43/100	NMP 0/100

2.5 Esquemas de variación temporal en parámetros físico/Químicos.

En los gráficos (Fig N°4, 5 y 6), los números 1, 2 y 3 corresponden a los muestreos realizados para los experimentos, en donde la barra azul corresponde a la medición del parámetro indicado en el régimen diario y en rojo se muestran los vaciados intermitentes del régimen alternado en los siguientes horarios: 11:00 (1), 13:00 (2) y 16:00(3).

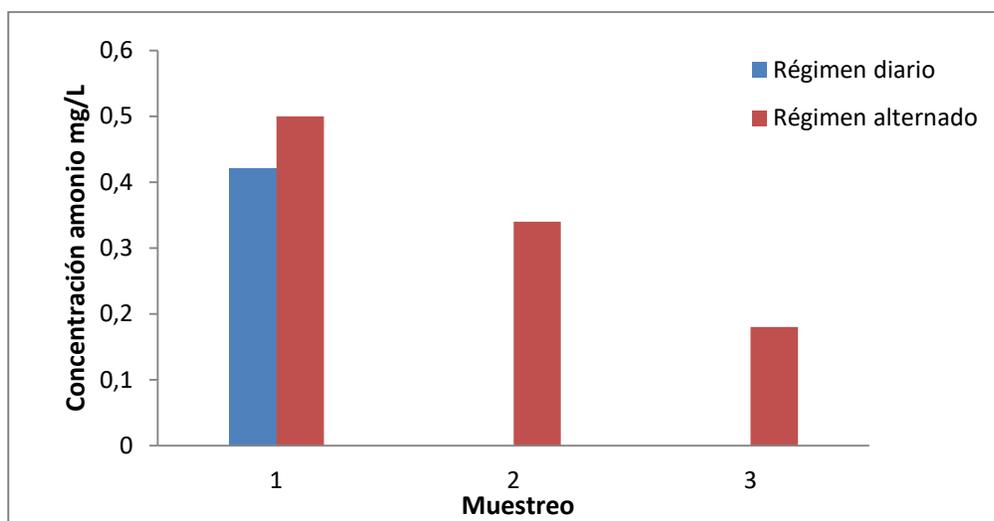


Figura N°4.- Variación en la concentración de amonio en dos regímenes (SP).

En la figura se presentan los valores unitarios evaluados para la concentración de amonio durante el experimento. Estos datos fueron recopilados con el fin caracterizar químicamente la descarga asociada a RIL. En el gráfico se observa una tendencia a disminuir la concentración de amonio en conjunto con la descarga intermitente.

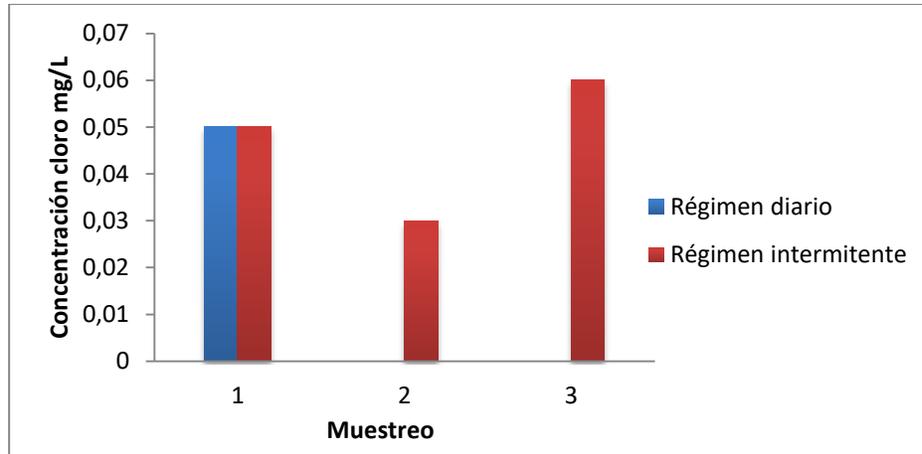


Figura N°5.- Variación en la concentración de Cloro libre en dos regímenes.

En la figura se observa un aumento de cloro libre en el muestreo de las 16:00 hrs (3) lo cual difiere con la tendencia entre los muestreos de las 11:00 y 13:00hrs (1 y 2 respectivamente). Una explicación a este aumento en la concentración en el último muestreo es que posiblemente haya habido una disminución en la materia orgánica disponible en el sistema, esto basado en la disminución de amonio observada en la figura N°4. De este modo es que al tener menor sustrato, el cloro dejaría de reaccionar generando así un aumento en la concentración de este parámetro.

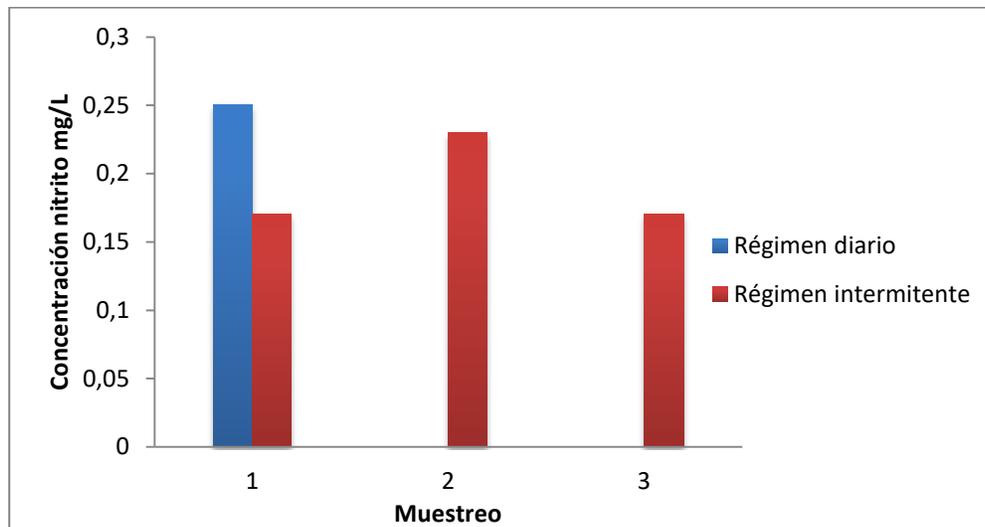


Figura N°6.- Variación en la concentración de nitrito en dos regímenes.

2.6 Eficiencia del hidrociclón bajo 2 regímenes

Al considerar los caudales máxicos de descarga diaria del hidrociclón, se obtuvo una diferencia entre los dos tratamientos. Esta diferencia se da en la eficiencia de éste operación en particular (régimen alternado de evacuación), la cual corresponde al porcentaje de SST que el hidrociclón pudo sacar del sistema en base a lo alimentado para cada régimen como se indica en la tabla N°11

Tabla N°11.- Eficiencia del hidrociclón en base a la capacidad de eliminar SST.

Régimen	Alimentación Dia ⁻¹	SST producido ¹	Descarga SST	% Eficiencia
Diario	194 g ± 0,063	49 g	12,24 g	25
Intermitente	185 g ± 0,088	46 g	24,28 g	52,8

1: Dato estimado como sugiere Timmons et al, 2002. En donde se establece que el 25% del alimento entregado es convertido en sólidos suspendidos.

DISCUSIÓN

Para la evaluación y análisis de concentración de SST se utilizó la prueba estadística ANOVA, la cual funciona en base a comparar la varianza entre bases de datos, midiendo su nivel de significancia.

Para el análisis de varianza en el tratamiento de SST se usó un nivel de confianza de 95%, por ende una significancia de 5%, lo cual establece un valor P de referencia de 0,05. Estableciendo como hipótesis nula del test que no habría diferencia significativa entre los dos regímenes e hipótesis alternativa que el segundo tratamiento o régimen alternado si es significativa su diferencia respecto al vaciado diario. Interpretando los resultados obtenidos de este test se obtuvo que el hidrociclón bajo las condiciones ambientales de los días de muestreo y mediante un régimen alternado de vaciado no mostró tener un efecto en el tratamiento de concentración de sólidos suspendidos totales. El valor P de este análisis corresponde a 0,419 mayor a 0,05 (Tabla N°8) de este modo se acepta la hipótesis nula infiriendo que no habría una diferencia entre ambos tratamientos.

En cuanto a los análisis de calidad bacteriológica del agua, la colimetría Fecal tuvo un resultado negativo (0/100) mientras que la colimetría total tuvo un resultado de concentración baja pero positiva siendo éste 43/100. De este modo se infiere que el sistema no cuenta con una carga bacteriana agresiva. Estos resultados concuerdan con la base teórica de fondo, como menciona Camacho (2009), los coliformes totales corresponden a los grupos bacterianos *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. En este trabajo no se identificaron grupos bacterianos, sin embargo el experimento sugiere que debería haber coliformes totales y no fecales como los resultados lo indican. Si se considera que el agua que ingresa al sistema es agua de uso público, ésta no debería tener carga de coliformes fecales. Por otra parte el resultado positivo en colimetría total podría deberse a que de hace ya varios años se sabe que los salmónidos de por sí tienen ciertas especies bacterianas de este grupo en su flora intestinal, así lo indica Spanggaard en un trabajo de 1999 en donde se estudia la micoflora intestinal de trucha arcoíris (*O. mykiss*) mediante identificación tradicional y molecular. En este trabajo dentro de las especies de bacterias encontradas está *Enterobacter*, la cual corresponde a una especie del grupo de coliformes totales. Otro factor que influye en este aspecto es la época del

año en la que se toman las muestras debido a las variaciones en la temperatura, así como también el tipo de estanque, trabajos como el de Macías et al. 2003 indican que la carga bacteriana de colimetría total no solo está en tejidos intestinales si no que también en agua circundante. En ese mismo trabajo se muestra que el material de los estanques de cultivo es un factor influyente en la carga microbiológica, estableciendo que un estanque de concreto resulta mucho mejor para mantener baja la carga bacteriana que uno rústico, en base a esto es que se puede explicar el por qué de la baja carga bacteriana encontrada en este experimento. Además, Pullela et al., 1998 establece que uno de los factores que facilita la entrada de coliformes fecales a sistemas de cultivo en tierra son las lluvias, sin embargo el RAS en donde se realizó el experimento no cuenta con piscinas en tierra, sin mencionar que los días en que se tomaron las muestras las condiciones ambientales no trajeron lluvias consigo si no que todo lo contrario. Respecto a esto último, los días en que se tomaron las muestras, en particular el muestreo del régimen intermitente estuvo sujeto a condiciones ambientales que afectaron al RAS generando una gran mortalidad de peces en las unidades de cultivo y que posiblemente hayan tenido que ver en la variación de los datos obtenidos. En 1990 Servizi y Martens publicaron un estudio en donde se estableció los valores letales para salmónidos que sólidos suspendidos causaban según diferentes rangos de temperatura ambientales. En este trabajo se establece que a bajas temperaturas, la saturación de oxígeno y el metabolismo en equilibrio de los salmónidos favorecen la tolerancia ante sólidos suspendidos, esto se relaciona con la capacidad de los peces para realizar trabajo de mantenimiento del reflejo respiratorio lo cual mantiene las branquias en buen estado y limpias de partículas. Sin embargo, en ese trabajo se expone en ejemplo que si el agua sube de 7 a 18°C, la saturación de oxígeno disminuye un 22% aproximadamente, por ende en este rango de temperatura los peces podrían aumentar su demanda metabólica de oxígeno en un 100%, lo cual considerando la disminución en la saturación de oxígeno llevaría a un efecto neto de una reducción en la tolerancia a sólidos suspendidos de un 67% al menos para salmón Coho (*O. kisutch*). Por lo general, la temperatura se maneja en el RAS alrededor de 20°C o menos, No obstante el día en que se tomaron las muestras para el régimen intermitente, el agua en el sistema de recirculación estuvo bordeando los 30°C lo cual trajo consigo una mortalidad elevada de los peces en cultivo, esto debido a la ola de calor vivida esa semana sumado al calor generado por los incendios que afectaron al país durante esa fecha. De este modo es que el exceso de calor

posiblemente pudo haber afectado a los experimentos de forma negativa. Cabe destacar que cuando se realizó el experimento y se tomaron muestras bajo régimen intermitente, se tomó una muestra para análisis microbiológico, la cual resultó negativa en medio del experimento por lo que no se incluyó dentro de los resultados para análisis general. Se desconoce una razón concreta para que haya ocurrido esto dado que el procedimiento tanto de toma de muestra como el de laboratorio fue exactamente el mismo que en la caracterización del sistema. Dadas las condiciones ambientales de esa fecha, es probable que la temperatura del agua haya sido uno de los factores que afectó a esto, sin embargo no hay forma de comprobarlo.

Finalmente, al normalizar los datos y trabajar respecto a la cantidad de masa de sólidos eliminada por la descarga del hidrociclón, se obtuvo que a régimen intermitente se elimina aproximadamente el doble de sólidos que a régimen diario, esto no quiere decir que se esté generando una perturbación en el medio con este método de descarga, ya que al analizar el DS 90 se concluyó que los niveles de descarga de sólidos suspendidos del RSA están muy por debajo de los límites establecidos por la norma (Fig 3). En dicho texto se establece que las fuentes que emitan una carga contaminante media diaria o de valor característico igual o inferior al establecido, no se consideran fuentes emisoras para los efectos de la norma y no quedan sujetos a la misma, en tanto se mantengan esas circunstancias.

Por ende, el RSA no se consideraría como una fuente emisora al menos respecto a sólidos suspendidos. Además queda establecido que utilizar el régimen intermitente no solo permite cumplir con la norma de descarga de contaminantes, sino que también se logra una mejor extracción de sólidos suspendidos dentro del sistema. Dadas estas circunstancias, es que pese a que estadísticamente no haya habido una diferencia significativa en lo que respecta al tratamiento de sólidos suspendidos totales entre los dos regímenes en cuestión; el régimen alternado sí resultó ser beneficioso en la extracción de SST producidos por el cultivo de peces del sistema, quedando dentro de los límites permisibles de descarga. De este modo si se considera la alimentación entregada para cada régimen, el hidrociclón bajo un régimen operacional alternado de descarga presentaría una eficiencia de 133,05% mayor que funcionando a régimen diario de descarga. Esto suponiendo que de la alimentación entregada (tabla N°12) un 25% se convierte en SST, según lo establecido por Timmons (2002).

CONCLUSIONES

- Un hidrociclón funcionando a régimen alternado no posee una diferencia significativa en la concentración de SST en comparación a un régimen de vaciado diario.
- La diferencia en la temperatura testada entre ambos regímenes evaluados, podría ser una variable ambiental que afectó los parámetros físico/químicos y microbiológicos en la experiencia realizada.
- Desde la perspectiva de la descarga másica total diaria, un hidrociclón de bajo caudal, operando a un régimen alternado de descarga, de tres evacuaciones diarias, con un intervalo de tiempo entre descarga de 2 horas, permite optimizar la extracción de SST hasta 133% respecto al régimen diario de vaciado.

LITERATURA CITADA

Camacho, A., M.Giles, A.Ortegón, M.Palao, B.Serrano y O.Velázquez. 2009.

Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.

Cambridge Advanced Learner's Dictionary and Thesaurus, Cambridge University Press, 2016.

Chen, S. Timmons, M. Aneshansley, D & Bisogni, J. 1992. Suspended solids characteristics from recirculating aquacultural systems and design implications. *Aquaculture*, 112. p143-155.

Chen, W. Zydek, N & Parma, F. 2000. Evaluation of hydrocyclone models for practical applications. *Chem Eng*, 80, p295-303.

Conboy, M. & Goss, M. 2001. Identification of an assemblage of indicator organisms to assess timing and source of bacterial contamination in groundwater. *Water, Air and Soil Pollut.* 129. p101-118.

Cripps, S & Bergheim, A. 2000. Solids management and removal for intensive land based aquaculture production systems. *Aquacult Eng* 22, p33-56.

Delgadillo, A & Rajamani, R. 2005. A comparative study of three turbulence-closure models for the hydrocyclone problem. *Int. J. Miner. Process.* 77, p217-230.

Edberg, S. Rice, E. Karlin, R & Allen, M. 2000. Echerichia coli: The best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*. 88, p1065-1165.

Eding, E. Kamstra, A. Verreth, J. Huisman, A. Klapwijk, A. 2006. Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: a review. *Aquac. Eng.* 34. p234–260.

Macías, J. Núñez, A. Chacón, O. Alfaro, R & Espinoza, M. 2003. Estudio microbiológico de tejido superficial de trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*) y del agua circundante. *Hidrobiológica*. 13, p111-118.

Muir, J. 1982. Recirculated system in aquaculture. *Recent Advances in Aquaculture*, Vol. 1. Croom Helm and Westview press, London. p358-446.

Puprasert, C. Herbrard, G. Lopez, L. & Aurelle. Y, 2002. Potential of using an Hydrocyclone equipped with Grit pot as a pre-treatment in run-off water treatment. *Chemical Engineering and Processing*. 43, p67-83

Pullela, S., F. Fernandez, G. Flick, G. Libey, S. Smith & C. Coale, 1998. Indicative and pathogenic microbiological quality of aquaculture. *Aquaculture* 182. p1-15

Real Academia Española, *Diccionario de la Lengua Española*, 2016.

Rodríguez, A. 2011. Definición de programas de gestión ambiental y controles operacionales, bajo el enfoque de ISO 14001. CEGESTI. No. 158.

Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, 2016.

Servizi, A & Martens, D. 1990. Effect of temperature, season and fish size on acute lethality of suspended sediments to coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Fish. Aquat. Sci. 48. p493-497.

Spanggaard, B. Huber, I. Nielsen, J. Nielsen, T. Appel, K & Gram, L. 2000. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. Aquaculture 182, p1-15.

Stickney, R. 1979. Principles of Warm Water Aquaculture. Wiley Interscience, New York, p375.

Timmons, M. Ebeling, J. Whaton, F. Summerfelt, S. & Vinci, B. 2002. Sistemas de Recirculación para la Acuicultura. Edición en español, p162.

Valenzuela, M. Lagos, B. Claret, M. Mondaca, M.a. Pérez, C & Parra, O. 2009. Fecal contamination of groundwater in a small rural dryland watershed in central Chile. Chilean Journal of Agricultural Research. 69, p235-243.

Lee. J, Jo. J, Lee. S, Cho. S, Hutabart. J & Taufiq. S, 2009. Biological Estimation of waste Products from Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Fed on Three Different Feed Types. The korean Society of Fisheries and Aquatic Science. 12, p317-323.

Lee, J. 2014. Separation of fine organic particles by a low preassure hydrocyclone. Aquaculture Management Division, National Fishieries Research and Development Institute. Aquacultural Engieneering. 55, p69-75