UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE CIENCIAS

# EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE FILTRACIÓN, CALOR Y RADIACIÓN UV, EN LA ELIMINACIÓN DE BACTERIAS PRESENTES EN AGUA DE LASTRE DE LA BAHÍA DE VALPARAÍSO.

TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL

TESISTA: CAROLINA ROSSANA DE LA FUENTE MANRÍQUEZ

PROFESOR GUÍA: DORIS OLIVA EKELUND.

CO-GUÍAS: JUAN CARLOS ESPINOZA IBAÑEZ.
MARIO HERRERA ARAYA.

VALPARAÍSO, 2006

# AGRADECIMIENTOS

Quisiera comenzar estas palabras, agradeciéndole a mi mamá, por su amor incondicional, por estar siempre a nuestro lado y por haber entregado parte de su vida a la crianza de sus hijos.

A mi hermanos Camilita y Sebastián, por el cariño y unión que tenemos.

A mis 4 abuelitos, que han sido una parte fundamental en mi vida, Jorge, Maggi, Rosita y Jorge, sin ellos no sería lo que soy, ni estaría donde estoy. Gracias por sus consejos, optimismo, apoyo y motivación.

A Iván, por ser el amor de mi vida.

A mi papá, que a pesar que se encuentre lejos, sé que disfruta mis logros.

Gracias a esos tíos, por su ayuda sin interés, que aparecieron como ángeles, justo en el momento en que lo necesitaba.

A mis compañeros de universidad, principalmente a mis amigas brujis, por todas las cosas que pasamos juntas, y a Cintia, por su buena voluntad para acompañarme a terreno.

A mi profesora guía Doris Oliva, por su incondicional apoyo y por enseñarme a soñar en grande.

A los profesores integrantes del Comité evaluador, los cuales siempre me recibieron de la mejor forma, profesor Juan Carlos Espinoza, por su buena disposición a ayudarme en esas largas jornadas en el laboratorio, y al Sr. Mario Herrera, que siempre tuvo muy buena voluntad en responder a mis consultas en el transcurso de la realización de este trabajo.

# INDICE DE CONTENIDO


| Capítulos | | | | | Páginas |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | | | MARCO TEÓRICO…… | 11 |
| | 1.1 | | | Antecedentes Generales…….. | 20 |
| | 1.2 | | | Características del transporte de aguas de lastre…..... | 13 |
| | 1.3 | | | Estado de las aguas de lastre en Chile…….. | 21 |
| | 1.4 | | | Principales especies introducidas a través del agua de lastre……. | 22 |
| | | 1.4.1 | | Experiencias internacionales…… | 22 |
| | | 1.4.2 | | Experiencias nacionales……... | 24 |
| 2 | | | | PROBLEMA…… | 26 |
| 3 | | | | OBJETIVOS…… | 28 |
| | 3.1 | | | Objetivo general……. | 28 |
| | 3.2 | | | Objetivo específico……. | 28 |
| 4 | | | | METODOLOGÍA GENERAL…… | 29 |
| | 4.1 | | | Objetivo específico Nº 1…… | 29 |
| | 4.2 | | | Objetivo específico Nº 2…… | 29 |
| | 4.3 | | | Objetivo específico Nº 3…… | 30 |
| | | 4.3.1 | | Materiales…… | 30 |
| | | | 4.3.1.1 | Reactivos……..… | 30 |
| | | | 4.3.1.2 | Soluciones…….. | 30 |
| | | | 4.3.1.3 | Otros……. | 30 |
| | | | 4.3.1.4 | Equipos…… | 31 |
| | | 4.3.2 | | Método y análisis de las muestras…….. | 31 |
| | | | 4.3.2.1 | Muestreos…… | 31 |
| | | | 4.3.2.2 | Preparación de las muestras…… | 33 |
| | | | 4.3.2.3 | Tinción con Sybr Green…… | 33 |
| | | | 4.3.2.4 | Tinción con Ioduro de Propidio…… | 33 |

Capítulos Páginas


| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 4.3.2.5 | Tratamiento de las muestras…….. | 34 |
| | 4.3.3 | | Cuantificación de bacterias…….. | 34 |
| | 4.3.4 | | Análisis estadístico…… | 35 |
| 5 | | | RESULTADOS……... | 36 |
| 5.1 | | | Objetivo específico Nº 1……... | 36 |
| | 5.1.1 | | Evolución de la normativa internacional…… | 36 |
| | 5.1.2 | | Evolución de la normativa nacional…… | 38 |
| | 5.1.3 | | Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques, 2004. | 41 |
| | | 5.1.3.1 | Situación internacional con respecto al Convenio……... | 47 |
| | | 5.1.3.2 | Situación nacional con respecto al Convenio…….. | 50 |
| 5.2 | | | Objetivo específico Nº 2…….. | 51 |
| | 5.2.1 | | Métodos de intercambio…..... | 51 |
| | | 5.2.1.1 | Método secuencial…… | 52 |
| | | 5.2.1.2 | Método de flujo continuo…..... | 52 |
| | | 5.2.1.3 | Método de dilución brasileño……... | 52 |
| | 5.2.2 | | Métodos de tratamiento del agua de lastre..... | 53 |
| | | 5.2.2.1 | Sistemas de tratamiento mecánico..... | 53 |
| | | 5.2.2.2 | Sistema de tratamiento físico…..... | 55 |
| | | 5.2.2.3 | Sistemas de tratamiento químico…… | 58 |
| | 5.2.3 | | Métodos de aislamiento del agua de lastre…..... | 65 |
| | | 5.2.3.1 | Facilidad de recepción…..... | 66 |
| | | 5.2.3.2 | Retorno al origen……..... | 66 |
| | 5.2.4 | | Selección de los tratamientos..... | 71 |
| | | 5.2.4.1 | Filtración……..... | 71 |
| | | 5.2.4.2 | Calor……..... | 73 |
| | | 5.2.4.3 | Radiación UV..... | 73 |

Capítulos Páginas


| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 5.3 | | | Objetivo específico Nº 3…….. | 76 |
| | 5.3.1 | | Análisis de las muestras de la bahía, tanque de lastre y agua de lastre prefiltrada……. | 76 |
| | | 5.3.1.1 | Bahía…..... | 76 |
| | | 5.3.1.2 | Tanque de lastre (muestra control)…..... | 77 |
| | | 5.3.1.3 | Agua de lastre prefiltrada……..... | 78 |
| | 5.3.2 | | Tratamiento de calor……. | 82 |
| | | 5.3.2.1 | Temperatura de 25º C……..... | 82 |
| | | 5.3.2.2 | Temperatura de 35º C…..... | 83 |
| | | 5.3.2.3 | Temperatura de 45º C……..... | 85 |
| | | 5.3.2.4 | Temperatura de 55º C…….. | 87 |
| | 5.3.3 | | Tratamiento de radiación UV……... | 90 |
| 6 | | | DISCUSIÓN……..... | 94 |
| 7 | | | CONCLUSIONES……. | 99 |
| 8 | | | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..... | 100 |
| | 8.1 | | Referencias citadas…….. | 100 |
| | 8.2 | | Referencias complementarias……. | 103 |

# INDICE DE FIGURAS


| Nº de Figura | | Páginas |
|---|---|---|
| Figura 1 | Etapas del proceso de carga y descarga de agua de lastre…… | 15 |
| Figura 2 | Disposición general de los distintos tipos de tanques de lastre.. | 16 |
| Figura 3 | Toma de muestra en el tanque de lastre……. | 32 |
| Figura 4 | Toma de muestra de la bahía de Valparaíso…….. | 32 |
| Figura 5 | Normativa internacional y nacional aplicada al agua de lastre… | 40 |
| Figura 6 | Países participantes en la primera etapa del proyecto Globallast…….. | 48 |
| Figura 7 | Métodos de manejo del agua de lastre…… | 51 |
| Figura 8 | Comparación de tamaños de microorganismos y la tecnología de filtración seleccionada……... | 54 |
| Figura 9 | Ilustración de un separador ciclónico, con sus principales características…….... | 54 |
| Figura 10 | Comparación en la cantidad de bacterias totales y bacterias muertas en muestra de la bahía…….. | 76 |
| Figura 11 | Comparación en la cantidad de bacterias totales y bacterias muertas en muestra de tanque de lastre…… | 77 |
| Figura 12 | Comparación en la cantidad de bacterias totales y bacterias muertas en el agua de lastre prefiltrada…….. | 78 |
| Figura 13 | Concentración de bacterias vivas y muertas en las muestras de bahía de Valparaíso, tanque de lastre y agua de lastre…… | 79 |
| Figura 14 | Bacterias con forma de bacilos en muestra de agua de lastre… | 80 |
| Figura 15 | Bacterias con forma de cocos en muestras de agua de lastre y de la bahía…… | 81 |
| Figura 16 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 25ºC por 5 minutos, y muestra control……. | 82 |
| Figura 17 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 35ºC por 5 minutos, y muestra control……. | 83 |
| Figura 18 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, posterior a la aplicación de 35ºC de temperatura……. | 84 |
| Figura 19 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 45ºC por 30 segundos, y muestra control…….. | 85 |

# INDICE DE FIGURAS


| Nº de Figura | | Páginas |
|---|---|---|
| Figura 20 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, posterior a la aplicación de 45ºC de temperatura……. | 86 |
| Figura 21 | Fragmentos de DNA de bacterias en muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a 45ºC durante 5 minutos…… | 86 |
| Figura 22 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 55ºC por 10 minutos, y muestra control……. | 87 |
| Figura 23 | Concentración de bacterias expuestas a distintas temperaturas y tiempos de exposición……. | 88 |
| Figura 24 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a radiación UV y muestra control……. | 90 |
| Figura 25 | Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, posterior a la aplicación de radiación UV……. | 91 |
| Figura 26 | Concentración de bacterias muertas en agua de lastre expuesta a radiación UV……. | 91 |
| Figura 27 | Concentración de bacterias muertas en muestra de agua de lastre después de la aplicación de tratamientos, en comparación con muestra control……. | 92 |

# INDICE DE TABLAS


| Nº de Tabla | | Páginas |
|---|---|---|
| Tabla 1 | Ejemplo de condiciones de lastre para cada tipo de buque……. | 18 |
| Tabla 2 | Tipos de embarcaciones, funciones de lastre y tasas de bombeo…….. | 20 |
| Tabla 3 | Países que han firmado y ratificado el Convenio Internacional... | 50 |
| Tabla 4 | Sistemas de tratamiento del agua de lastre…… | 53 |
| Tabla 5 | Ventajas y desventajas de los distintos métodos de manejo del agua de lastre……... | 67 |
| Tabla 6 | Costos asociados a los métodos de manejo del agua de lastre | 70 |
| Tabla 7 | Tamaño de los microorganismos que pueden estar presentes en el agua de lastre……. | 72 |
| Tabla 8 | Datos de la inactivación de organismos por la radiación UV…... | 75 |

# INDICE DE ANEXOS


| Nº de Anexo | | | Páginas |
|---|---|---|---|
| Anexo 1 | | Glosario de abreviaturas (siglas)…...…….. | 107 |
| Anexo 2 | 2.1 | Estados miembros de la Organización Marítima Internacional……. | 108 |
| | 2.2 | Estados del Consejo de la Organización Marítima Internacional……. | 112 |
| Anexo 3 | 3.1 | Distribución de los tanques de lastre del buque PACSA II..... | 113 |
| | 3.2 | Datos del buque PACSA II…… | 114 |
| Anexo 4 | | Formulario de notificación del agua de lastre……. | 115 |

# RESUMEN

El transporte marítimo es el principal medio de comercio tanto a nivel mundial como nacional. Los buques para mantener su estabilidad durante la navegación utilizan agua de lastre, dependiendo del tipo de buque va a ser la capacidad de los tanques de lastre.

A través del agua de lastre se transportan en forma involuntaria organismos no deseados, lo que es considerado una problemática a nivel mundial, que ha causado que muchas especies se establezcan fuera de sus áreas de distribución, lo que provoca un impacto sobre el medio ambiente, la salud pública y la economía. Por este motivo resulta trascendental aplicar regulaciones y métodos de manejo al agua de lastre.

Este trabajo tiene por objetivo evaluar en forma experimental la efectividad de los tratamientos de filtración, calor y radiación UV en la eliminación de bacterias presentes en muestra de agua de lastre. Además de analizar el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques y las normativas vigentes.

Para realizar la evaluación experimental, se analizó los métodos de manejo de agua de lastre existentes y se seleccionaron tres de ellos, filtración, calor y radiación UV.

Los tratamientos que eliminaron una mayor cantidad de bacterias fueron el tratamiento de calor a 45ºC de temperatura, y la radiación UV a 1 minuto de exposición.

Las exigencias que impone el Convenio Internacional, distan de las regulaciones que actualmente existen en nuestro país.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1 Antecedentes generales

Desde la antigüedad para las civilizaciones ha sido muy importante la comunicación por vía marítima, siendo desde esa época, el principal medio de transporte.

En el pasado, las embarcaciones utilizaban lastre "duro", regularmente piedras, para asegurar su estabilidad y equilibrio en mar abierto, durante los últimos cien años se ha utilizado agua para este propósito, lo que facilita la estabilidad en el mar y la mantención de la línea de flotación en el puerto, mientras el buque se carga o descarga (Dobbs, 2001).

El agua de lastre [1] de las embarcaciones, trasporta involuntariamente una gran variedad de especies acuáticas, las que trasladan en estado viable a los distintos puertos (Dobbs, 2001).

Según el Programa Mundial de Gestión del agua de lastre (Programa Globallast, 2001) en un mundo globalizado en que las distancias cada día se acortan más y los productos pasan de un continente a otro con la velocidad que navega un buque mercante, capaz de transportar todo tipo de carga rápidamente, han llegado a nuestras costas una serie de individuos no deseados, son las denominadas especies exóticas y que en algunos lugares constituyen plagas.

Lo mencionado en el párrafo anterior, concuerda con lo señalado por Gollash (1997), en el sentido que, "La introducción involuntaria de organismos exóticos ha dado lugar al establecimiento de muchas especies fuera de sus rangos naturales, lo que ha supuesto una potencial amenaza sobre el medio ambiente, la salud pública y la economía local. Se supone que el vector principal de movilización de organismos es, junto a la introducción de especies para la acuicultura, el transporte involuntario a través de la navegación"

[1] El agua, con las materias en suspensión que contenga, cargada a bordo de un buque para controlar el asiento, la escora, el calado, la estabilidad y los esfuerzos del buque. (Convenio internacional para el control y la gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques, 2004. Artículo 1, número 2).

El traslado de grandes volúmenes de agua de mar de un lugar a otro, ha sido y es un problema que ha acaparado la atención de numerosos países y organismos como las Naciones Unidas, que a través de la Organización Marítima Internacional (OMI), dedica grandes esfuerzos al control y mitigación de los efectos perjudiciales que causa el transporte y traslado de agua de mar, al medio marino donde son vertidas.

La OMI, es un organismo especializado en asuntos marítimos, que fue creada en Ginebra en 1948, en la Conferencia Marítima de las Naciones Unidas. Entró en vigencia en 1958. El principal órgano de la OMI es la Asamblea, que tiene su sede en Londres, Inglaterra y está compuesta por 167 estados miembros más tres miembros asociados (OMI, octubre 2005) (Ver Anexo 2.1). Se reúnen una vez cada dos años. Además existe un Consejo que está formado por 40 estados miembros (Ver Anexo 2.2), que son elegidos por la Asamblea cada dos años, y éstos tienen la función de administrar la Organización durante el período que transcurre entre las Asambleas.

Desde 1972 Chile forma parte de sus estados miembros y también se encuentra entre los 40 estados miembros de su consejo.

La OMI está compuesta por comités y subcomités. Los dos comités principales son el Comité de Seguridad Marítima (CSM) y el Comité de Protección del Medio Marino (MEPC). Este último, fue creado por el consejo en noviembre 1973 y se encarga de coordinar todos los temas relacionados con la prevención y control de la contaminación.

Según Globallast (2001) la introducción de especies es considerada como la cuarta amenaza principal para el medio marino. Las otras tres serían: la contaminación por vertidos de contaminantes, la sobreexplotación de los recursos del mar y la destrucción y alteración del borde costero y el hábitat marino.

El Programa Globallast (2001) divide los impactos causados por la introducción de especies provenientes del agua de lastre de las naves, en tres categorías principales:

- Ecológicos: la biodiversidad nativa y/o los procesos ecológicos pueden ser interrumpidos por la invasión de especies. Se estima que la introducción de especies marinas invaden un nuevo ambiente en alguna parte del mundo cada nueve semanas.

- Económicos: las industrias pesqueras y las costeras más otras actividades comerciales y laborales son interrumpidas por la invasión de especies. Se estima que el costo de todas las invasiones de especies es de alrededor de US $ 138 billones por año sólo en los Estados Unidos.

- Salud humana: organismos tóxicos y patógenos son introducidos directamente al agua de lastre, afectando la salud humana.

### 1.2 Características del transporte de aguas de lastre

Para que un buque pueda navegar con la mayor estabilidad posible, de forma segura para la nave y su tripulación, se utiliza el lastre. Lastre se define, como el peso que se carga en un buque, para que ésta se sumerja hasta un calado (parte de la nave que está bajo el agua) conveniente (Alegría *et al*., 1998).

En el mundo marítimo, es utilizado de forma común, el término “lastrar”. Se entiende por lastrar o lastrado, el hecho de embarcar y colocar el lastre de forma conveniente para que el barco quede en buenas condiciones marineras (Alegría *et al*., 1998).

Antiguamente, los barcos eran lastrados con materiales pesados, como rocas, maderos, arena, tierra; una vez que llegaban al puerto de destino estos materiales eran vendidos, intercambiados o desechados. Actualmente, las naves se lastran con agua de mar.

Los buques utilizan el lastre principalmente cuando descargan la mercancía en algún puerto y luego zarpan sin carga o con poca carga. Éstos deben llenar sus estanques de lastre con agua. Es peligroso salir al mar (zarpar) sin carga en las bodegas, o sin lastre, puesto que la estabilidad es deficiente y por ende peligrosa, principalmente en los buques de pasajeros con grandes estructuras, encontrándose el centro de gravedad de la nave muy elevado. Aunque la estabilidad fuese la adecuada, el poco calado y la gran obra muerta (parte de la nave que sobresale del mar), ponen al buque a merced del viento y de las olas. En estas condiciones la embarcación se controla con dificultad y es probable la

formación de averías en el casco, trayendo como consecuencia un bajo rendimiento por estar poco sumergido (Alegría *et al*., 1998).

La figura 1 muestra las etapas de llenado y vaciado de los tanques de agua de lastre, lastrado y deslastrado, respectivamente, según la carga que lleva el buque.

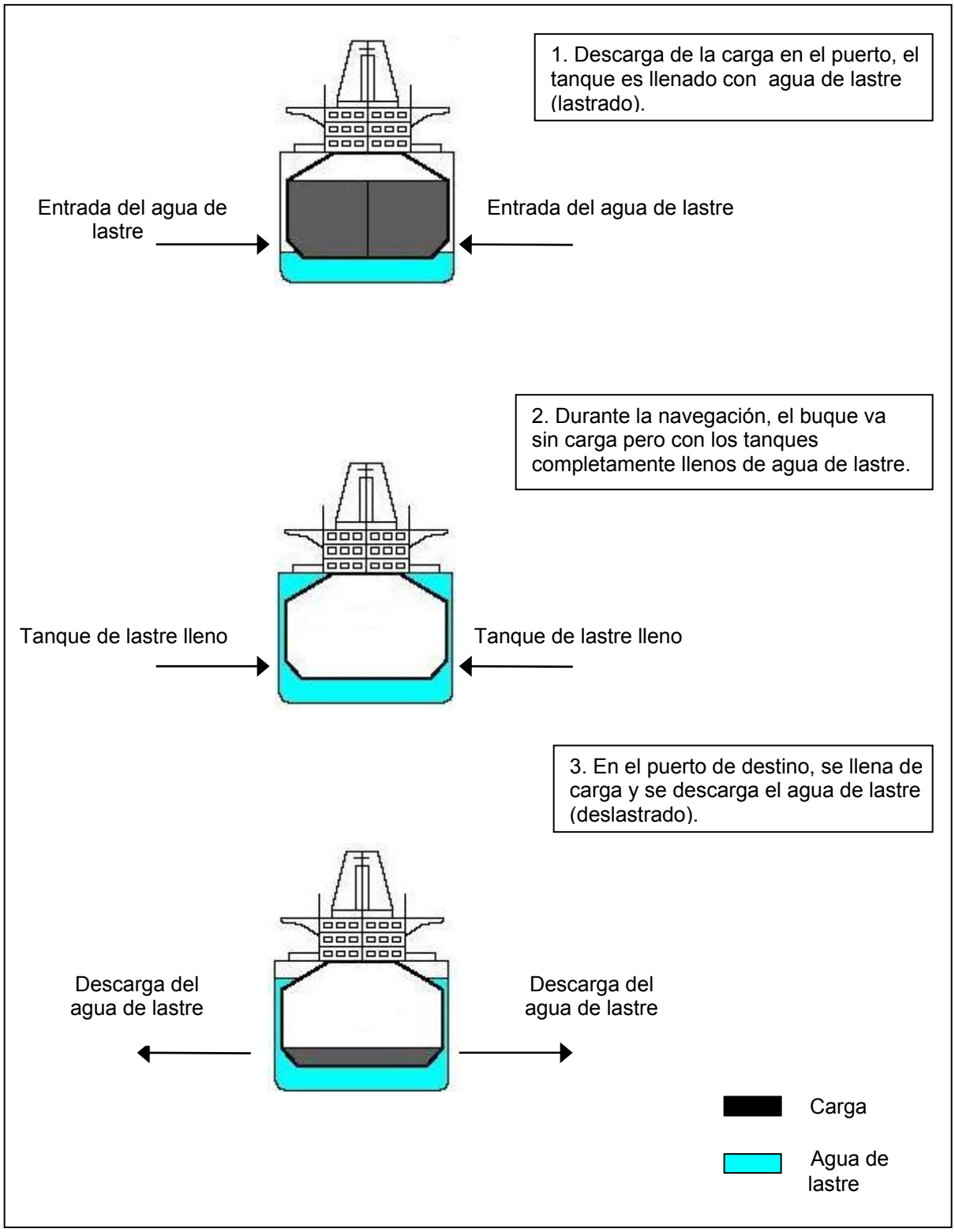



**Figura 1. Etapas del proceso de carga y descarga del agua de lastre**
Fuente: Adaptado de Globallast.

Una parte importante de la construcción de los buques, son los tanques, los cuales corresponden a depósitos cerrados que forman parte de la estructura de la nave, en los cuales se transportan y/o almacenan líquidos (D.S (M) Nº1 “Reglamento para el control de la contaminación acuática”, 1992).

Según el D.S (M) Nº 1 de 1992 (artículo 27, número 30), los tipos de tanques de lastre son:

1. “Tanque central o de fondo: El situado del lado interior de un mamparo (pared de hierro con que se divide el interior de un buque) longitudinal.
2. Tanque lateral: El adyacente al forro exterior en los costados del buque.
3. Tanque de lastre separado: Los reservados exclusivamente para llevar agua de lastre.
4. Tanque de lastre limpio: Aquellos que constituyen una alternativa a los tanques de lastre separados, y que permiten reservar algunos tanques de carga para ser llenados exclusivamente con agua de lastre”.

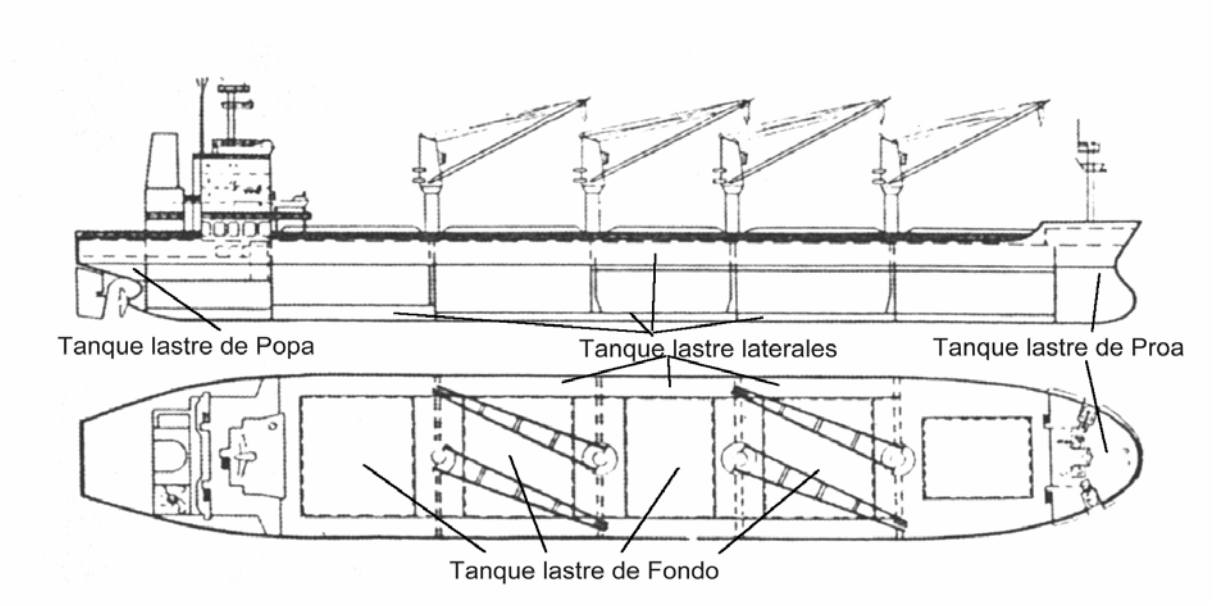



**Figura 2. Disposición general de los distintos tipos de tanques de lastre.**
Fuente: (Alegría *et al*., 1998).

En la figura 2 se muestra la disposición general de los distintos tipos de tanques de lastre según Alegría *et al* ., 1998.

Los tanques de lastre independientemente de su ubicación son controlados desde una central de lastre, donde se activan sus válvulas de carga (llenado) o descarga (vaciado). Los orificios para tomar agua de mar se encuentran bajo la línea de flotación, es decir, bajo el agua ya sea a un costado o bajo el casco de la nave, siendo el agua de mar trasladada desde ese lugar hasta el tanque respectivo, mediante el cierre o abertura de válvulas (Alegría et al., 1998). En la toma de agua se instalan habitualmente mayas para la protección del sistema de bombeo de objetos y organismos no deseados.

La descarga del agua de lastre proveniente de un tanque se puede efectuar por orificios situados, o por encima de la línea de flotación (sobre el agua), o por debajo de la línea de flotación (bajo el agua). Así, dependiendo de lo anterior y de la ubicación del tanque de lastre su descarga puede ser por gravedad o mediante bombas que controlan el flujo de descarga (Alegría et al., 1998).

La central de lastre tiene identificado cada tanque de lastre, junto con su máxima capacidad y la cantidad de agua que posee. Para realizar esta medición se dispone en cada tanque de un tubo-sonda por el cual un operario introduce una cinta de medir en la que se marca una altura de sonda, y de ella se determina la cantidad de líquido que contiene el tanque. A través de este tubo-sonda también se puede obtener la carga del tanque al relacionar el volumen y la densidad del agua del tanque. Esta información generalmente se registra en toneladas métricas (Alegría et al., 1998).

A pesar de que la mayoría de las embarcaciones poseen estos dispositivos, los tanques tan solo se pueden inspeccionar directamente si se remueven los numerosos pernos de la tapa de registro que permite la entrada de una persona (Alegría et al., 1998) (Ver figura 3).

A continuación, se muestran ejemplos de condiciones de lastre, en peso muerto en toneladas para distintos tipos de buques, con los tanques de lastre sin cargar y cargados (Tabla 1)

| CONDICIÓN DEL LASTRE | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Tipo de tanque** | *DWT | Normal ( Toneladas) | % de DWT | Cargado (Toneladas) | % de DWT |
| | | | | | |
| Granelero | 250.000 | 75.000 | 30 | 113.000 | 45 |
| Granelero | 150.000 | 45.000 | 30 | 67.000 | 45 |
| | | | | | |
| Granelero | 70.000 | 25.000 | 36 | 40.000 | 57 |
| Granelero | 35.000 | 10.000 | 30 | 17.000 | 49 |
| | | | | | |
| Petrolero | 100.000 | 40.000 | 40 | 45.000 | 45 |
| Petrolero | 40.000 | 12.000 | 30 | 15.000 | 38 |
| | | | | | |
| Porta contenedores | 40.000 | 12.000 | 30 | 15.000 | 38 |
| Porta Contenedores | 15.000 | 5.000 | 30 | ------ | |
| | | | | | |
| Carga general | 17.000 | 6.000 | 35 | ------ | |
| Carga general | 8.000 | 3.000 | 38 | ------ | |
| | | | | | |
| Roll on-Roll off | 3.000 | 1.000 | 33 | ------ | |
| * DWT=Peso muerto en toneladas | | | | | |

**Tabla 1. Ejemplo de condiciones del lastre para determinados tipos de buques.**
Fuente: Australian Quarantine & Inspection Service 1993. Ballast Water Management. Ballast Water Research Series Report No. 4 AGPS Canberra

En la tabla 1, se aprecia la variación en las toneladas de peso muerto (TPM, sigla en inglés, DWT), en relación a la cantidad de agua de lastre cargada, que va a depender del peso muerto en toneladas de cada tipo de buque. Como se muestra en la tabla 1, si para un buque granelero, su peso muerto es de 250.000 toneladas, el porcentaje de peso muerto con los tanque de lastre sin cargar, va a ser del 30%, lo que equivale a 75.000 toneladas; Si el tanque de lastre es cargado, el porcentaje de peso muerto en toneladas va a aumentar en un 45%, con lo cual, el buque queda con un peso muerto de 113.000 toneladas.

De entre los distintos tipos de buques comerciales que navegan por los mares, los que cargan una mayor cantidad de agua de lastre son los graneleros y los buques porta-contenedores, debido a las cantidades de agua de lastre utilizadas (Gollasch, 1997).

Un granelero, con respecto de un buque porta-contenedores, suele poseer un menor número de tanques de lastre, pero de mayor longitud; además suele utilizar las bodegas cuando van sin carga como estanques de lastre. En total este tipo de embarcaciones pueden alcanzar a llevar, cuando navega sin carga, más de 100.000 $m^3$ de agua de lastre (Gollasch, 1997).

Un carguero de astillas de 25.000 TRG suele estar configurado con 10 tanques con una capacidad total de 16.000 $m^3$. El peso combinado del agua de lastre de los tanques y la de las bodegas da normalmente a la embarcación una capacidad de lastre casi equivalente a su tonelaje neto (Cawthron, 1997).

Un buque porta-contenedores de tamaño medio (aprox. 25.000 trg) suele tener entre 20 y 24 tanques que en total transportan entre 8.000 y 10.000 $m^3$ de agua. En general, la cantidad total de agua de lastre transportada en un buque porta-contenedores se puede estimar como la tercera o cuarta parte del tonelaje de registro grueso (Cawthron, 1997).

El agua de lastre es transportada en diferentes tipos de buques y depositada en tanques de diferente tamaño y diseño. La complejidad de las operaciones de lastre depende del tamaño, la configuración y los requerimientos de la embarcación, además del estado y la configuración del sistema de bombeo de la misma. Asimismo, la capacidad de lastre varía de centenares de metros cúbicos para los pesqueros hasta cientos de miles de metros cúbicos para los cargueros de mayor tamaño (NRC, 1996).

Los tipos de embarcaciones, más usuales, dependiendo de la tasa de bombeo de lastre, se pueden clasificar, como se indica en la tabla de la siguiente página.

| LASTRE NECESARIO PARA: | TIPO DE EMBARCACIÓN | TASA DE BOMBEO ($m^3/h$) |
|---|---|---|
| **1. Reemplazar la carga.** Se requiere una cantidad importante de lastre, principalmente para el viaje de retorno. | Graneleros | 5.000-10.000 |
| | Cargueros | 10.000 |
| | Tanqueros | 5.000-20.000 |
| | Gaseros | 5.000-10.000 |
| | Petroleros | 10.000-15.000 |
| **2. Control del barco.** Se requiere para el control de la estabilidad cuando el barco está cargado | Buques porta-contenedores | 1.000-2.000 |
| | Transbordadores | 200-500 |
| | Buques de carga general | 1.000-2.000 |
| | Embarcaciones de pasajeros | 200-500 |
| | Buques *Roll-on*, *Roll-off* | 1.000-2.000 |
| | Pesqueros | 50 |
| | Buques-factoria | 500 |
| | Buques militares | 50-100 |
| **3. Operaciones de carga y descarga.** Se toma agua en una zona en grandes cantidades y se vierte en el mismo lugar | Buques *Float-on*, *Float-off* | 10.000-15.000 |
| | Buques de carga pesada | 5.000 |
| | Porta-barcazas | 1.000-2.000 |

**Tabla 2. Tipos de embarcaciones, funciones del lastre y tasas de bombeo.**
Fuente: National Research Council (NRC), 1996.

La tabla 2 muestra las tasas de bombeo de agua de lastre para cada tipo de embarcación.

### 1.3 Estado de las aguas de lastre en Chile

Nuestro país posee 4.700 Kilómetros de costa, lo que hace que Chile tenga una actividad marítima intensa. En sus costas se ubican distintos tipos de puertos, desde caletas artesanales hasta puertos con una alta tecnología y eficiencia como son los puertos comerciales. Por puerto comercial se entiende al conjunto de elementos físicos (infraestructura) y actividades que permiten una transferencia y almacenamiento de cargas de distinta naturaleza y procedencia, y la atención de pasajeros. Los puertos comerciales pueden ser de dos tipos: especializados o multipropósito. Los primeros, dependiendo de la carga que movilizan, se clasifican en; puertos graneleros, es decir, puertos que transportan carga a granel (carga que no se encuentra envasada, ejemplo, cereales, minerales); sitios especializados (para vehículos, contenedores); y puertos pesqueros, que están dedicados exclusivamente a la industria pesquera. El puerto multipropósito, por su parte, es un puerto comercial que tiene la capacidad de transportar una gran variedad de carga a granel y en contenedores (Herrera & Berasaluce, 2004).

Según los Boletines estadísticos Marítimos, correspondientes a los años 1991-2000, de la Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante (DIRECTEMAR), se desprende que más del 80% del comercio exterior chileno, se realiza por vía marítima.

Existe una directa relación entre la cantidad de agua de lastre y la carga que se embarca y ninguna relación entre el agua de lastre y la cantidad de naves que recalan o llegan a un puerto o su Tonelaje de Registro Grueso (T.R.G [2]) (OMI, 2004).

Las naves extranjeras que transportan carga a granel son las que aportan una mayor cantidad de agua de lastre, debido a que cuando parten de su lugar de origen lo hacen con los estanques llenos de agua para mantener un peso y una estabilidad adecuada de la nave durante la navegación. Al llegar a los puertos chilenos y embarcar la carga vacían el agua de lastre en nuestras costas.

[2] Es una medida del volumen interno de todos los espacios cerrados de la nave. [En línea]: http://nave(http://www.directemar.cl/reglamar/tm078/titulo_ii.htm.)

La cantidad de agua de lastre descargada en los terminales que embarcan carga a granel en Chile, bordea las 2 millones ochocientas mil toneladas anuales (Herrera & Berasaluce, 2004).

A medida que las toneladas de carga a granel exportada a nivel nacional disminuyen, también diminuye la cantidad de aguas de lastre que son descargadas en los puertos chilenos. Por este hecho se puede señalar que un país que es eminentemente exportador de cargas a granel por vía marítima, tiene mayores probabilidades de recibir una mayor cantidad de aguas de lastre para descargar en sus puertos, lo que aumenta el riesgo de introducción de especies exóticas por este medio (Herrera, Berasaluce & Marín, 2003).

Anualmente, en Chile se deslastran, aproximadamente entre 5 millones y medio a 7 millones de toneladas de agua de lastre, todas provenientes del extranjero. Este tonelaje indica la magnitud del problema que se debe enfrentar y la proporción de las medidas que se deben desarrollar, para evitar la introducción de especies exóticas o disminuir el riesgo que esta introducción no intencional en las aguas de jurisdicción nacional en las costas de Chile, representan para el país (Herrera & Berasaluce, 2004).

## 1.4 Principales especies introducidas a través del agua de lastre

### 1.4.1 Experiencias internacionales

Australia

Anualmente llegan a sus costas 60 millones de toneladas de aguas de lastre, por lo cual existe una diversidad de especies acuáticas que se han introducido. El Servicio de inspección de cuarentena (AQIS) en 1997 estimó que se habían introducido más de 170 especies en aguas australianas, la mayor parte a través del agua de lastre (OMI, 1998). Entre las especies más dañinas se encuentran los dinoflagelados tóxicos *Gymnodinium catenatum* y *Alexandrium tamarense* ; el primero, se estableció en aguas australianas después de llegar en el agua de lastre, y la especie ya se encontraba presente en las aguas de Argentina, Japón, España, Portugal, México, Venezuela y el Mediterráneo (OMI, 1998). Y la segunda especie ha plagado las costas de Melbourne.

Se reproducen por medio de esporas, las cuales pueden permanecer en estado de latencia por 20 a 30 años hasta que las condiciones les sean favorables para germinar, para adquirir forma nadadora con lo cual se introduce en los ciclos alimenticios de moluscos y crustáceos, convirtiéndose éstos en tóxicos para los seres humanos (OMI, 1998).

Los dinoflagelados tóxicos son una constante amenaza para los criaderos de mariscos de las costas de Tasmania, Victoria y Nueva Gales del Sur. También han causado problemas en China, India y Sudáfrica (OMI, 1998).

Los grandes lagos de Norteamérica

La introducción de especies foráneas se remonta probablemente a la apertura del canal del río San Lorenzo en 1959, cuando comenzó el flujo de los buques transoceánicos por los grandes lagos. En 1996 se identificaron 130 especies foráneas (OMI, 1998). Algunas de las especies son:

*Dreissena polymorpha* (mejillón cebra europeo), originario del mar Caspio y Negro, se cree que se introdujo en los grande lagos en 1980. Afecta la sobrevivencia de los peces nativos ya que compiten por el mismo alimento, el plancton. También ha causado problemas en las tomas de agua de centrales hidroeléctricas y de fábricas, obstruyendo sus cañerías (OMI, 1998).

*Neogobius melanostomus* (gobio redondo), pez nativo del mar Caspio y mar Negro. Introducidos a principios de los años 1990. Es un pez agresivo, posee un apetito devorador. Es una amenaza para los peces nativos ya que habita los mejores lugares para su reproducción y es capaz de alimentarse en la oscuridad (OMI, 1998).

*Gymnocephalus cernuus* (acerina), proveniente de Eurasia (Europa y Asia). Se introdujo en los grandes lagos en los años 1980 por medio del transporte de aguas de lastre. Este es un pez agresivo con las otras especies, posee una alta tasa de reproducción y buena adaptabilidad. Es considerado como una amenaza para la pesca comercial y deportiva (OMI, 1998).

Mar Mediterráneo

El alga verde tropical *Caulerpa taxifolia,* sustituye a las algas nativas tales como, la *Posidonia oceanica* (que solamente se encuentra en el Mediterráneo), y restringe el hábitat natural de peces e invertebrados (OMI, 1998).

Se registró por primera vez en 1984 frente a las costas de Mónaco con un área de cobertura de tan sólo un metro cuadrado. Luego se extendió descontroladamente, cubriendo 3 hectáreas en 1990, 30 hectáreas en 1991, 427 hectáreas en 1992, 1300 hectáreas en 1993, 1500 hectáreas en 1994 y más de 3000 hectáreas en 1996. Actualmente cubre millares de hectáreas en las costas de Francia, España, Italia y Croacia (OMI, 1998).

Río de la Plata

La principal especie invasora de esta cuenca es el molusco *Limnoperma fortunei* (mejillón dorado), originario de China y del Sudeste de Asia. Introducido por buques mercantes, se detectó por primera vez en 1991.Su principal daño lo causa a las tuberías de las centrales hidroeléctricas, depositándose en éstas disminuyendo el flujo de agua. Cada central afectada desembolsa aproximadamente US $10.000.000 por año para erradicarlos (Rondini, 2005). Se estima este molusco avanza 250 millones de kilómetros por año (Rondini, 2005).

1.4.2 Experiencias nacionales

De acuerdo a investigaciones realizadas (Oliva et al., 2001; Urra et al., 2001; Castilla et al., 2002) se han identificado en los ecosistemas marítimos de Chile tres especies de copépodos zooplanctónicos, *Oithona davisae, Centropages abdominales* y *Acaria omorii.* Y el urocordado *Pyura praeputialis.* Este último se encuentra exclusivamente dentro de la Bahía de Antofagasta a lo largo de aproximadamente 70 kilómetros de la línea costera intermareal y en ambientes submariales someros, al parecer sería la misma especie de urocordado que se encuentra en las costas de Australia. Así lo demuestra Castilla *et al*.

(2002), en su investigación basada en análisis efectuados con el Citocromo Oxidasa Mitocondrial I (COI), en el que indica que la especie *Pyura praeputialis* es muy similar a la especie *Pyura stolonifera praeputialis* situada en Australia.

Estos estudios no serían suficientes para señalar que la especie *Pyura praeputialis* haya sido introducida a las costas de Antofagasta mediante el transporte de agua de lastre, adherida a los cascos de alguna nave, o derivó de alguna especie común desde la época de separación de los continentes (Herrera, Berasaluce & Marín, 2003).

Existen numerosos estudios tanto nacionales como internacionales (Oliva *et al.*, 2001; Urra *et al.*, 2001; Castilla *et al.*, 2002; Gollasch, 1997; Hallegraeff, 1993; Carlton *et al.*, 1995.) sobre el transporte de macroorganismos en el agua de lastre (moluscos, crustáceos, peces, etc), pero casi nula investigación sobre el transporte de microorganismos. Por lo menos en Chile, el único estudio que existe al respecto, es el de Soto *et al* (2005) el cual se centra en la caracterización microbiológica de virus y bacterias en los tanques de lastre en Chile.

En Chile no existen estudios que cuantifiquen e identifiquen perfiles morfológicos de bacterias presentes en agua de lastre después de la aplicación de tratamiento de filtración, calor y radiación UV.

# 2. PROBLEMA

En el mundo globalizado actual es común observar el intercambio de productos que se realizan por vía marítima. Diariamente navegan por los océanos y mares cientos de embarcaciones las cuales arriban y retornan desde un puerto a otro. La mayoría de las naves llevan a bordo agua de lastre para mantener su estabilidad, lo que trae consigo, en algunas ocasiones, un intercambio y transferencia de organismos vivos de un lugar del mundo a otro.

Se ha estimado que son transportadas diariamente alrededor de 3.000 a 4.000 especies de las cuales solo 500 están identificadas (Gollash, 1997). Se pueden encontrar macroalgas y fitoplancton (diatomeas y dinoflagelados); Algunos científicos han señalado que el agua de lastre está relacionada con las floraciones de algas nocivas (FAN). Entre el zooplancton se encuentran los organismos planctónicos que viven en la columna de agua y larvas de invertebrados bentónicos y peces.

Los dinoflagelados poseen toxinas que al ser ingeridas por organismos filtradores, por ejemplo moluscos, son acumuladas, por lo cual al ser consumidas por el hombre puede causar graves intoxicaciones, incluso la muerte.
La introducción de especies mediante el agua de lastre ha causado daños económicos, ambientales y sociales.

El interés mundial que causa este tema se ve reflejado en la preocupación que demuestra las Naciones Unidas mediante su organismo dependiente, la Organización Marítima Internacional. Ésta ha redactado una serie de tratados y convenios para que sean acogidos por los principales países navieros del mundo. La versión más actual de estos convenios (2004) es el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques. Este Convenio contiene una serie de exigencias que los países miembros deberán cumplir.

El cumplimiento de las exigencias establecidas por el Convenio es una problemática real y actual para Chile, ya que no cuenta con los requerimientos determinados por el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques. Es más, las disposiciones que actualmente se aplican en Chile son; el

Reglamento para el control de la contaminación acuática (1992), una Resolución y una Directiva del año 1999 y 2002, respectivamente, las cuales permiten arrojar lastre a una distancia mínima de 12 millas de la costa y no incluyen la exigencia de tratamiento. Estas disposiciones no exigen la aplicación de un plan de gestión del agua de lastre y los sedimentos, no indican ningún sistema de tratamiento para las aguas de lastre ni los sedimentos, y no requiere caracterizar los organismos presentes, ni menos aún eliminarlos.

En el presente trabajo de titulación se espera evaluar experimentalmente la efectividad de algunos sistemas de tratamiento en tanques de lastre, en la eliminación de bacterias presentes en muestra de agua de lastre. Por otra parte, se analizan las regulaciones nacionales e internacionales relacionadas con la gestión del agua de lastre.

# 3. OBJETIVOS

## 3.1 Objetivo General

Evaluar experimentalmente los sistemas de tratamiento de filtración, calor y radiación UV en la eliminación de bacterias presentes en muestra de agua de lastre de la bahía de Valparaíso, y analizar el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques.

## 3.2 Objetivo Específico

1. Analizar el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques, las normativas internacionales y las normativas vigentes en Chile sobre las aguas de lastre.

2. Analizar los métodos de tratamiento del agua de lastre y seleccionar aquellos más apropiados para la realidad chilena.

3. Evaluar experimentalmente los sistemas de tratamiento de filtración, calor y radiación ultravioleta.

# 4. METODOLOGÍA GENERAL

## 4.1 OBJETIVO ESPECÍFICO Nº 1

**Analizar el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques, las normativas internacionales y las normativas vigentes en Chile sobre las aguas de lastre.**

Se acudió a bases de datos de biblioteca Técnica Marítima, perteneciente a DIRECTEMAR, sitios de Internet, e información facilitada por Mario Herrera Araya, asesor científico de DIRECTEMAR.

Se realizó un seguimiento histórico a las normativas aplicables al agua de lastre, tanto nacionales como internacionales, y una interpretación detallada del Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques, año 2004.

## 4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO Nº 2

**Analizar los métodos de tratamiento del agua de lastre y seleccionar aquellos más apropiados para la realidad chilena.**

Se realizó una revisión de los principales tratamientos del agua de lastre, en base a una exhaustiva recopilación bibliográfica, acudiendo a bases de datos de publicaciones científicas tanto nacionales como internacionales, universidades, sitios de Internet, tesis, trabajos y experiencias realizadas por los principales países involucrados en la gestión del agua de lastre, e información obtenida de entrevistas a profesionales relacionados con el tema.

Se construyeron dos tablas, la primera es una tabla comparativa de los distintos tratamientos seleccionados, con sus respectivas ventajas, desventajas, y la segunda indica los costos asociados a cada uno de los tratamientos. Y de acuerdo a la información obtenida a través de la exhaustiva recopilación bibliográfica, se seleccionaron los tratamientos.

## 4.3 OBJETIVO ESPECÍFICO Nº 3

**Evaluar experimentalmente los sistemas de tratamiento de filtración, calor y radiación ultravioleta.**

### 4.3.1 Materiales

#### 4.3.1.1 Reactivos

- Agua calidad Mili Q (desionizada, esterilizada, prefiltrada con diámetro de poro 0,2 µm, QUANTUM TM Ex Cartridge, Milipore , USA).
- Sybr Green I (Molecular Probes, USA).
- Ioduro de Propidio (SIGMA)

#### 4.3.1.2 Soluciones

- Buffer fosfato salino (PBS): NaCl 137 mM;KCl 2.7 Mm;$KH_2PO_4$ 1.5 Mm ; $Na_2$ $HPO_4$ 8 Mm.
- Solución de montaje: 990 µL de 50% glicerol y 50 % PBS y 10 µL de pfenilendiamina 10 %.

#### 4.3.1.3 Otros

- Cubre objetos de 25 mm de diámetro (Marienfield, Alemania).
- Filtros de membrana Anodisc de 0,20 µm de diámetro de poro (Whatman, Inglaterra).
- Porta objetos 76 x 26 x 1 mm (Marienfeld, Alemania)
- Placas petri de 55 mm de diámetro (Nunclon Surface, Brand Products, Dinamarca).
- Vasos precipitados de 100 ml
- Propipetas de 10, 200, 1000 µL (Wilson, USA).
- Tubos Eppendorf 1.5 ml (Eppendorf, Alemania).
- Cronómetro
- Termómetro de mercurio
- Bidones de 5 L de polietileno

#### 4.3.1.4 Equipos

- Bolsa Filtrante, de poliéster, 40 cm de largo y 200 µm de diámetro de poro (Knight Corp., Estados Unidos)
- Botella Niskin General Oceanics modelo 1010-1.2 TO 30L.
- Bomba de vacío. Motor Electromotors LTD (Ac Motor, Bs 5000-11).
- Cámara digital  Canon Power Shot G5.
- Lámpara UVC Philips, de 40 cm de longitud.
- Microscopio de epifluorescencia BX60 (Olympus, Japón).
- Refrigerador LG (GR-T382 SV)
- Vortex

### 4.3.2 Método y Análisis

#### 4.3.2.1 Muestreos

Se realizaron 2 muestreos el 25 de septiembre de 2006, en un tanque de lastre y en la bahía de Valparaíso (cercano a la succión del tanque), el procedimiento fue el siguiente:

Muestra del tanque de lastre:

- Se tomaron 15 l de muestra del tanque de lastre peak de proa de la nave PACSA II (Ver anexo 3) utilizando 3 bidones de polietileno de 5 l cada uno (Ver figura 3). El buque se encontraba a la gira en la bahía de Valparaíso (coordenadas de ubicación: 33º 02’ 23” S, 71º 36’ 68” W.)

**Figura 3. Toma de muestra en el tanque de lastre.** Las fotografías muestran la abertura del tanque de lastre (sin tapa de registro), izq. y el momento de la toma de muestra del tanque de lastre, der.

Muestra de la bahía:

- Se tomaron 5 l de muestra de la bahía de Valparaíso con una botella Niskin, a aproximadamente 100 metros de distancia del buque, y a 3 m de profundidad (coordenadas de ubicación: 33º 02’ 16” S, 71º 36’ 71” W.) (Ver figura 4).

**Figura 4. Toma de muestra de la bahía de Valparaíso.** Las fotografías muestran el sumergimiento de botella Niskin a la bahía, izq, y el vaciado de la muestra contenida en la botella, al bidón, der.

Las muestras fueron mantenidas en oscuridad a 4º C, hasta el momento de los análisis, tratamientos y observaciones.

#### 4.3.2.2 Preparación de las muestras

Los análisis de las muestras, se realizaron en el laboratorio de Bioquímica y Virología de la Universidad de Valparaíso. Dentro de los análisis de las muestras, se consideró la preparación:

Se prefiltraron 5 l de agua de lastre por un filtro de diámetro de poro de 200 µm.
Se trabajó con tres tipos de muestras de agua; agua del tanque de lastre sin prefiltrar (muestra control), agua de la bahía y agua del tanque de lastre prefiltrada.

#### 4.3.2.3 Tinción con Sybr Green I

- Se prepara la solución del fluoróforo [3] en una placa petri, mezclando 490 µL de agua Mili - Q y 10 µL de solución estándar de Sybr Green I.
- Muestras de la bahía y agua de lastre (prefiltrada y sin prefiltrar) de 200 µL son filtradas a través del filtro de membrana Anodisc, tamaño de poro 0,2 µm.
- El filtro se coloca cara arriba sobre la gota de tinción (Sybr Green) preparado en la placa petri, por 10 minutos, a temperatura ambiente y en oscuridad, posteriormente se lava 3 veces con agua Mili – Q, prefiltrada por 0,2 µm.
- El filtro es montado sobre un portaobjeto, al cual se le agrega 25 µl de solución montaje, sobre esto se deposita un cubreobjetos de 25mm de diámetro.
- Las muestras montadas se observan en el microscopio de epifluorescencia Olympus (modelo BX60) con aumento 1000 X (100 X / 1,40).Se fotografían los campos más representativos de la muestra, capturando con cámara digital Canon Power Shot G5, alrededor de 3 fotografías por muestra.

#### 4.3.2.4 Tinción con Ioduro de Propidio

- Se toma 1ml de muestra y se deposita en un tubo Ependorf.
- Al tubo Ependorf se le agrega 2 µl de yoduro de propidio.
- Se lleva al vortex, para homogeneizar la muestra.

[3] Es una molécula que al absorber energía pasa a un estado excitado, y al volver a su estado inicial emite el exceso de energía en forma de fluorescencia (Atlas & Bartha, 2002).

- Se extraen 200 µl de la muestra y se filtran a través del filtro de membrana Anodisc, tamaño de poro de 0,2 µm.
- El filtro es lavado con 2 ml de solución PBS
- El montaje y observación de la muestra se realiza , siguiendo el procedimiento indicado en los dos últimos puntos del apartado 4.3.2.3

#### 4.3.2.5 Tratamiento de las muestras

Tratamiento de calor

- Se depositan 80 ml de agua de lastre prefiltrada en vasos precipitados de 100 ml.
- Las muestras son expuestas a temperaturas de 25, 35, 45 y 55º C. Por tiempos de exposición de 30 segundos, 1,5 y 10 minutos (por triplicado).
- Se realizaron baños de vapor a cada muestra, hasta alcanzar la temperatura deseada por el período de tiempo establecido.

Tratamiento de radiación ultravioleta

- Se depositan 8 ml de agua de lastre prefiltrada, en 4 cápsulas petri, de 55 mm de diámetro.
- Las muestras son colocadas a una distancia de 5 cm de la lámpara de radiación UVC Philips, de 40 cm de longitud.
- Las cápsulas petri son expuestas a distintos tiempos de exposición; 30 segundos, 1,5 y 10 minutos (por triplicado).

### 4.3.3 Cuantificación de bacterias

Las fotografías digitales de bacterias teñidas con Sybr Green I (vivas y muertas) y Ioduro de Propidiol (muertas) se contabilizaron de manera manual. Se obtuvieron aproximadamente 3 fotografías por cada réplica, de éstas se sacó el valor promedio, el cual se utilizó para calcular en número de bacterias en 1 ml de muestra, mediante la siguiente fórmula.

Fórmula 1:

$$\textbf{NBM} = NBF \times \frac{13333\mu m^2}{AF} \times \frac{1000\ \mu l}{\mu l}$$

NBM, es el número de bacterias en 1 ml de muestra.

NBF, es el número promedio de bacterias contados en 3 fotografías.

13333 $\mu m^2$, es el área total del filtro (Osorio, 2004).

AF, parte del área del filtro utilizada.

µl, es el volumen de muestra filtrado (en microlitros).

### 4.3.4 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA), con el programa Statistica 6.0, para determinar el efecto de los tratamientos (filtración, calor y UV) en la concentración de bacterias

En las muestras analizadas, se detalló la probabilidad (P) y la variación entre los grupos (F).

Según MANOVA, los datos van a tener una variación significativa, cuando la probabilidad (P) tenga un valor menor a 0,05.

# 5. RESULTADOS

## 5.1 OBJETIVO ESPECÍFICO Nº 1:

**Analizar el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques y las normativas vigentes en Chile sobre las aguas de lastre.**

### 5.1.1 Evolución de la normativa Internacional

En un principio, la preocupación por el agua de lastre se manifestaba con la observación de la presencia o ausencia en el agua de hidrocarburos. Lo cual se ve reflejado con las primeras definiciones de agua de lastre que surgen en el Convenio Internacional para Prevenir la Contaminación por los Buques de 1973 y su protocolo de 1978, **Convenio MARPOL 73/78**, el cual en su anexo 1, regla 1, define:

"Lastre limpio*":* es aquel que llevado en un tanque, desde que se transportaron hidrocarburos en él por última vez, ha sido limpiado de tal manera que todo efluente del mismo, si fuera descargado por un buque estacionario en agua calmas y limpias en un día claro, no produciría rastros visibles de hidrocarburos en la superficie del agua, como tampoco a orillas de las costas próximas, ni ocasionarían depósitos de fangos o emulsiones bajo la superficie del agua o sobre dichas orillas.

*"*Lastre separado*"*: es el agua de lastre que se introduce en un tanque que está completamente separado de los servicios de carga de hidrocarburos y de combustible líquido para consumo y que está permanentemente destinado al transporte de lastre o cargamentos que no sean ni hidrocarburos ni sustancias nocivas.

La definición de lastre que hace este cuerpo legal está relacionada con el lastre como transporte de contaminación por hidrocarburos. Esto en la actualidad ya no se aplica, porque el lastre es incoloro, es un medio por el cual se transportan organismos, muchas veces invisibles a simple vista (Herrera, com.pers).

Es a principios de la década del 90 que comienza la preocupación por un posible transporte involuntario de especies en el agua de lastre. Diversos países, como Canadá, Australia y otros, denuncian ante la Organización Marítima Internacional (OMI) los graves daños que podría causar el transporte de especies perjudiciales a través del agua de lastre de los buques.

En 1992, la *Conferencia de las Naciones Unidas sobre Medio Ambiente y el Desarrollo* (Cumbre de Río de Janeiro) pide formalmente a la *Organización Marítima Internacional* (OMI) que se haga cargo del problema de las aguas de lastre. Este es el primer paso de la OMI orientado a estudiar la posibilidad de crear regulaciones al respecto (Herrera, com.pers).

Es así como en 1993 se crea la **Resolución A.774 (18)** ”Directrices para impedir la introducción de organismos acuáticos y agentes patógenos indeseados que pueda haber en el agua de lastre y los sedimentos descargados por los buques”. Ésta fue la primera “recomendación”**,** en virtud de la cual cada Estado decide si la hace obligatoria. Esta es la primera medida que toma la OMI en virtud de todos los problemas que se estaban produciendo en los grandes lagos con la introducción de un zooplancton que produjo y todavía produce consecuencias nefastas para la acuicultura en los lagos de Estados Unidos y Canadá, Michigan y Ontario, respectivamente (Herrera, com. pers).

Luego, en 1997 se crea la **Resolución A.868 (20)** “Directrices para el control y la gestión del agua de lastre de los buques a fin de reducir al mínimo la transferencia de organismos acuáticos perjudiciales y agentes patógenos”.

La Resolución A. 774(18) es precursora de la Resolución A. 868(20), por lo que ambas presentan algunos contenidos muy similares.

La Resolución A.868 (20) posee dos apéndices, en el primero, se encuentra un impreso de Notificación del agua de lastre, y en el segundo, contiene orientaciones sobre los aspectos relacionados con la seguridad del cambio de agua de lastre en el mar.

La regulación más actual, creada en el 2004, por la Organización Marítima Internacional es el **Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques**.

Este convenio tiene por objetivo prevenir, reducir y eliminar la transferencia de organismos acuáticos perjudiciales y agentes patógenos, de conformidad con las disposiciones que contiene, mediante el control y gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques. Su contenido se explica en detalle más adelante.

### 5.1.2 Evolución de la normativa Nacional

En Chile, en 1978 se promulga el primer cuerpo legal que contiene una regulación para el agua de lastre, la **Ley de Navegación Nº 2.222.** La cual en su Título IX "De la Contaminación", Párrafo1º.-Del Derrame de Hidrocarburos y otras Sustancias Nocivas. Artículo142º.-señala "*Se prohíbe absolutamente **arrojar lastre**, escombros o basuras y derramar petróleo o sus derivados o residuos, aguas de relave de minerales u otras materias nocivas o peligrosas, de cualquier especie, que ocasionen daños o perjuicios a las aguas sometidas a la jurisdicción nacional, y en puertos, ríos y lagos."*

En 1991 la *Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante* publica la **Resolución DGTM. Y MM. 12.600/1979**, la cual "Dispone medidas preventivas para evitar transmisión de especies perjudiciales y epidemias a través de agua de lastre".

En 1992 se promulga el **Reglamento para el Control de la Contaminación Acuática D.S (M) Nº 1**, en el cual, al igual que el Convenio MARPOL, también se define "lastre limpio" y "lastre separado".

En 1995, se promulga la Resolución **DGTM. y MM. 12.600/228**, la cual "Dispone medidas preventivas para evitar transmisión de especies perjudiciales y epidemias a través de agua de lastre". Esta resolución deja sin efecto la resolución anterior.

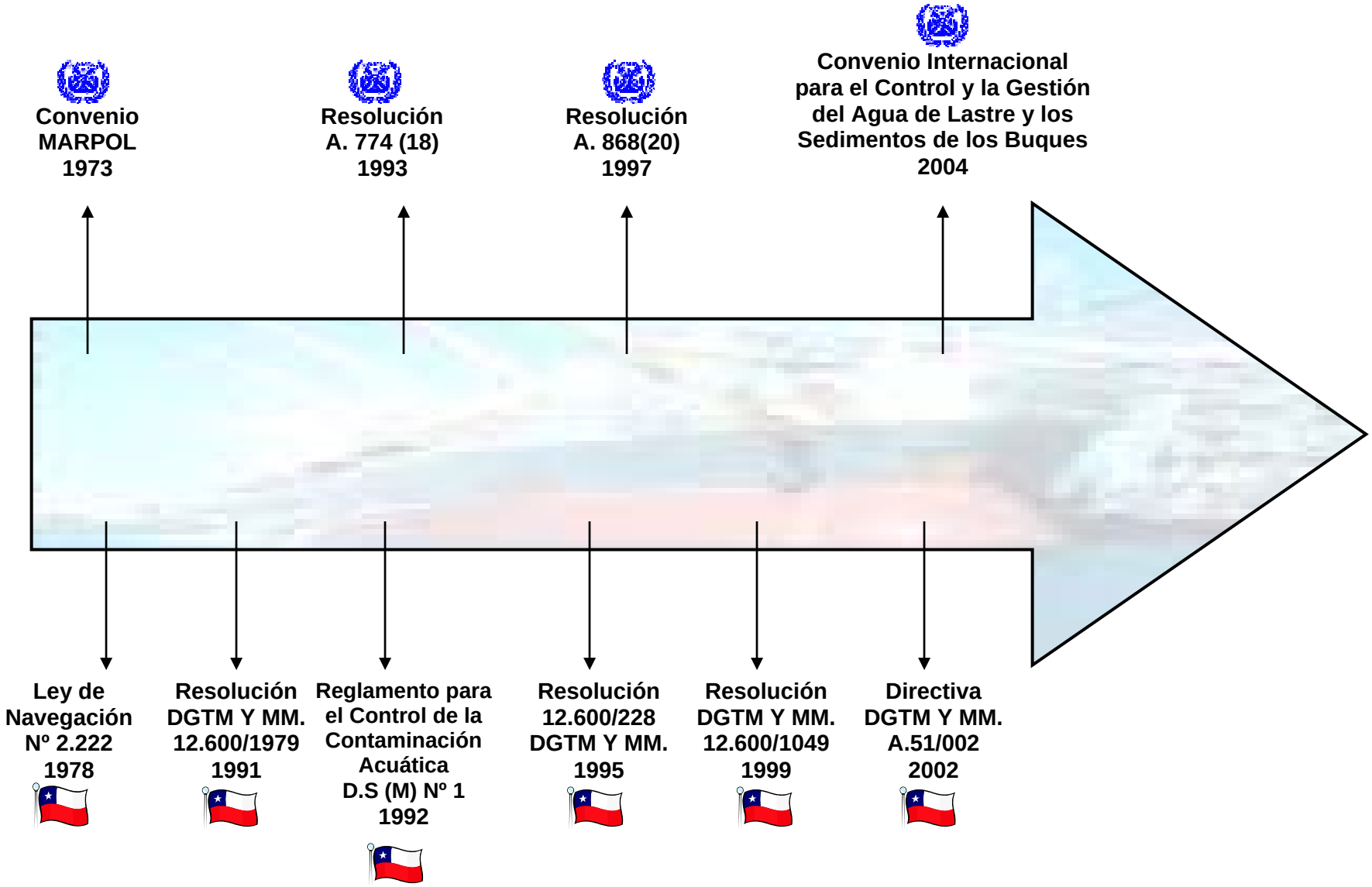
Posteriormente, en 1999 se publica la **Resolución DGTM. y MM. 12.600/1049**, la cual "Dispone medidas preventivas para evitar transmisión de organismos acuáticos

perjudiciales en el agua de lastre". Contiene como anexo el Formulario de Notificación del agua de lastre (Ver Anexo 4).

De ésta resolución deriva una Directiva, actualmente vigente, también creada por la *Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante*, en el 2002, llamada **Directiva DGTM. y MM. A.51/002**, la cual "Establece procedimientos y recomendaciones a seguir para la adopción de medidas preventivas a objeto de reducir al mínimo los riesgos de introducción de organismos acuáticos perjudiciales y agentes patógenos por los buques que ingresen a los puertos nacionales". Ésta Directiva es la primera en su tipo que incorpora el cabotaje, es decir, la navegación dentro de un mismo territorio (Enciclopedia General del Mar, 1958). Dentro de su contenido existen dos anexos; en el Anexo A se encuentra la Resolución A.868 (20) y el Anexo B corresponde a Procedimientos existentes de cambio de agua de lastre y las precauciones de seguridad que debe tenerse en consideración. Detalla las funciones, las labores de cada uno de los actores involucrados (capitán de la nave, tripulación, capitán de puerto, etc) (Herrera, com.pers).

La figura 5 muestra un esquema resumen, tanto de la normativa nacional como internacional.

**Figura 5. Normativa internacional y nacional aplicada al agua de lastre.**



### 5.1.3 Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques. 2004.

En un comienzo se pensaba crear un VI Anexo del Convenio MARPOL que tratara el tema del agua de lastre, sin embargo el Consejo de la Organización Marítima Internacional consideró que iba a ser un problema tener este tema en un anexo de un Convenio ya existente, toda vez que al colocar un anexo en virtud de un cuerpo central de un Convenio este debe ser modificado, lo que agrega una dificultad adicional. Por esta razón, se decidió crear un Convenio que tratara exclusivamente el tema del agua de lastre, surgiendo así el *Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques*. (Herrera, com.pers).

Fue aprobado durante la Conferencia Internacional sobre la Gestión del Agua de Lastre para Buques, efectuada en Londres entre el 9 al 13 de febrero de 2004.

El Convenio entrará en vigor, después de 12 meses en que sea ratificado por lo menos por 30 países que representen como mínimo el 35% de la flota naviera mundial.

Entre las exigencias que este instrumento posee se encuentran: (1) cada buque deberá tener y aplicar un plan de gestión del agua de lastre y los sedimentos, (2) cada puerto deberá contar con un sistema de tratamiento en tierra para las aguas de lastre y sedimentos, (3) los buques que efectúen el cambio de agua de lastre deberán poseer un proceso de depuración que elimine a lo menos el 95% de los organismos.

Está compuesto por 22 artículos y un supra anexo que contiene 5 secciones:

Sección A: Disposiciones generales
Sección B: Prescripciones de gestión y control aplicables a los buques
Sección C: Prescripciones especiales para ciertas zonas
Sección D: Normas para la gestión del agua de lastre
Sección E: Prescripciones sobre reconocimiento y certificación para la gestión del agua de lastre.

En las secciones se encuentran todos los aspectos técnicos, más lo que podría presentar modificaciones. Y en el cuerpo central del Convenio todo lo que dice relación con un típico convenio; definiciones, contrato de adhesión, entrada en vigor (Herrera, com.pers ).

También posee 2 apéndices: el Apéndice I, es un modelo de Certificado internacional de gestión del agua de lastre, y el Apéndice II, un modelo de Libro de registro del agua de lastre.

En la parte inferior se nombra cada parte de la sección B y D del Convenio Internacional, ya que éstas describen los lineamientos para la gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques.

La sección B "Prescripciones de gestión y control aplicables a los buques" posee 6 reglas.

- Regla B-1 Plan de gestión del agua de lastre
- Regla B-2 Libro de registro del agua de lastre
- Regla B-3 Gestión del agua de lastre para los buques
- Regla B-4 Cambio del agua de lastre
- Regla B-5 Gestión de los sedimentos de los buques
- Regla B-6 Funciones de los oficiales y tripulantes

La sección D "Normas para la gestión del agua de lastre" posee 5 reglas.

- Regla D-1 Norma para el cambio del agua de lastre
- Regla D-2 Norma de eficacia de la gestión del agua de lastre
- Regla D-3 Prescripciones relativas a la aprobación de los sistemas de gestión del agua de lastre
- Regla D-4 Prototipos de tecnologías de agua de lastre
- Regla D-5 Examen de normas por la Organización Marítima Internacional

De todas estas reglas, se seleccionaron las principales para ser descritas en forma detallada a continuación:

*Regla D-1  Norma para el cambio del agua de lastre*

Los buques que efectúen el cambio de agua de lastre de conformidad con la presente regla lo harán como mínimo con una eficacia del  95%, de cambio volumétrico del agua de lastre.

Para los buques que cambian el agua de lastre con el método de flujo continuo, se considerará conforme a la norma descrita en el párrafo superior (95 % de eficacia), el bombeo de 3 veces el volumen de cada tanque de agua de lastre. Se podrá aceptar un bombeo inferior a 3 veces dicho volumen,  siempre y cuando el buque pueda demostrar que se ha alcanzado el 95% de cambio volumétrico del agua de lastre.

*Regla D-2  Norma de eficacia de la gestión del agua de lastre*

Los buques que efectúen la gestión del agua de lastre conforme a lo dispuesto en la presente regla descargarán:

- Menos de 10 organismos viables por m3 cuyo tamaño mínimo sea igual o superior a 50 micras
- Menos de 10 organismos viables por ml cuyo tamaño mínimo sea menor a 50 micras y mayor a 10 micras

La descarga de los microbios indicadores no excederá de las concentraciones indicadas a continuación.

Los microbios indicadores de efectos en la salud de los seres humanos, serán los siguientes organismos:

a. *Vibrio cholerae* toxicógeno (O1 y O139): menos de 1 unidad formadora de colonias (ufc) por 100 ml o menos de 1 ufc por gramo de muestras (húmedas) de zooplancton.
b. *Escherichia coli*:: menos de 250 ufc por 100 ml.
c. Enterococos intestinales: menos de 100 ufc por 100ml

*Regla D-3  Prescripciones relativas a la aprobación de los sistemas de gestión del agua de lastre*

Los  sistemas de gestión del agua de lastre deberán estar aprobados por el gobierno del estado o país que tenga autoridad para operar el buque, sin embargo siempre ateniéndose a lo dispuesto  en las Directrices elaboradas por la OMI, excepto por lo mencionado en el  párrafo siguiente.

Los sistemas de gestión del agua de lastre que utilicen una o varias sustancias activas deberán ser aprobados por la OMI con el cumplimiento de un procedimiento elaborado por ésta misma. Este procedimiento deberá incluir: una aprobación de sustancias activas y revocación de ésta aprobación, y forma de aplicación.

Si se llegara a revocar alguna aprobación, el uso de la o las sustancias activas quedará prohibido en el plazo de 1 año a contar de la fecha de revocación.

Los sistemas de gestión del agua de lastre utilizados para el cumplimiento del presente Convenio deberán ser seguros para el buque, su equipo y tripulación.

*Regla D-4  Prototipos de tecnología de agua de lastre*

A los buques  que antes de la fecha de entrada en vigor para ellos de la regla D-2 participen en un programa aprobado por el estado rector de la nave (administración) para poner a prueba y evaluar tecnologías de tratamiento del agua de lastre prometedoras. No se les aplicará esta regla hasta que hayan pasado 5 años desde la fecha en la que tendría que haberla cumplido (es decir, en el caso en que no hubiesen participado en programas de tratamiento  del agua de lastre).

A los buques que, después  de entrada en vigor para ellos de la regla D-2, participen en un  programa aprobado por el estado rector de la nave (administración), teniendo en cuenta las Directrices de la OMI, para poner a prueba y evaluar tecnologías de tratamiento del agua de lastre prometedoras, y que tenga posibilidades de llegar ofrecer tecnologías de un nivel superior al de la norma descrita en la regla D-2, se les dejará de

aplicar esta norma durante 5 años, a contar desde la fecha de instalación de esta tecnología.

Para establecer y ejecutar cualquier programa de prueba y evaluación de tecnologías prometedoras de tratamiento del agua de lastre, las partes:

1. Tendrán en cuenta las Directrices de la OMI.

2. Permitirán participar sólo al número mínimo de buques necesarios para poner a prueba tales tecnologías.

3. Durante todo el período de prueba y evaluación, el sistema de tratamiento se utilizará de forma regular y dentro de lo proyectado

*Regla B-3 Gestión del agua de lastre para los buques*

1. Los buques construidos antes del año 2009:

1.1 Con capacidad agua de lastre entre 1.500 a 5.000 $m^3$

Realizarán una Gestión del agua de lastre que como mínimo cumpla con la norma descrita en la regla D-1(intercambio de agua de lastre con a lo menos el 95% de eficacia), o hasta el 2014 con la regla D-2.

Después del año 2014 habrá que cumplir como mínimo con la norma descrita en la regla D-2

1.2 Con capacidad agua de lastre menor a 1.500 $m^3$ o superior a 5.000 $m^3$

Deberán realizar una gestión del agua de lastre que cumpla como mínimo la norma descrita en la regla D-1, o hasta 2016 con la regla D-2.

Después de 2016 habrá que cumplir como mínimo con la norma descrita en la regla D-2.

2. Los buques en los que se aplique lo indicado precedentemente, cumplirán lo dispuesto a más tardar en el primer reconocimiento intermedio [4] o de renovación, si éste es anterior, tras la fecha de aniversario de la entrega del buque en el año de cumplimiento de la norma aplicable a dicho buque.

3. Los Buques construidos en el 2009 o después, con una capacidad de agua de lastre menor a 5.000 $m^3$ deberán llevar a cabo una gestión del agua de lastre que cumpla como mínimo con la norma descrita en la regla D-2.

4. Los buques construidos en el 2009 y antes de 2012 que tengan una capacidad de agua de lastre igual o mayor a 5.000 $m^3$. Deberán realizar una gestión del agua de lastre según se indica en el párrafo 1.2.

5. Los buques construidos en el 2012 o después, que tengan una capacidad de agua de lastre igual o mayor a 5.000 $m^3$ deberán realizar una gestión del agua de lastre que cumpla como mínimo con la regla D-2

6. Las prescripciones de la presente regla (Regla B-3) no son aplicables a los buques que descarguen el agua de lastre en instalaciones de recepción, construidas según Directrices de la OMI.

7. Se podrán aceptar otros métodos de gestión del agua de lastre, siempre y cuando, dichos métodos garanticen como mínimo el mismo grado de protección al medio ambiente, la salud de los seres humanos, los bienes o los recursos y cuente con la aprobación del Comité de Protección del Medio Marino de la O

[4] Aquel reconocimiento realizado en sustitución de uno de los reconocimientos anuales, consistentes en un reconocimiento minucioso de determinados elementos relacionados con el certificado a refrendar, a fin de garantizar que el buque o artefacto naval es idóneo para el servicio a que está destinado (Herrera. Com.pers.2006).

*Regla B-4  Cambio del agua de lastre*

Los buques que lleven a cabo la gestión del agua de lastre para cumplir la norma de la regla D-1, deberán:

1. Efectuar el cambio de agua de lastre a por lo menos 200 millas marinas de la tierra más próxima y en aguas de cómo mínimo 200 metros de profundidad, siempre considerando las Directrices elaboradas por la OMI.

2. En los casos en que el buque no pueda efectuar el cambio de agua de lastre mencionado en el párrafo anterior, el cambio de agua de lastre se deberá realizar por lo menos a 50 millas de la tierra más próxima y en aguas de 200 metros de profundidad como mínimo.

#### 5.1.3.1 Situación Internacional con respecto al Convenio

En el 2000 la *Organización Marítima Internacional* junto con el *Fondo para el Medio Ambiente Mundia*l (FMAM), sigla en inglés GEF, y el *Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo* (PNUD) crean el *Programa Global de Gestión del Agua de Lastre*, cuya sigla en inglés es GLOBALLAST.

La finalidad de este programa es ayudar a países en vía de desarrollo a poner en práctica medidas que tiendan a evitar o disminuir los efectos negativos producidos por la introducción de especies durante el transporte de agua de lastre de los buques al medio acuático.

El primer proyecto de éste programa, Proyecto GloBallast fase 1, tendría originalmente una duración de cuatro años, pero tuvo una extensión a cinco años. Se realizó en seis países entre los años 2000 y 2005. Los lugares fueron: (Ver figura 6)

1) Sepetiba, Brasil.
2) Dalian, China.
3) Bombay, India.
4) Isla Kharg, Irán.
5) Saldanha, África del Sur.
6) Odessa, Ucrania.

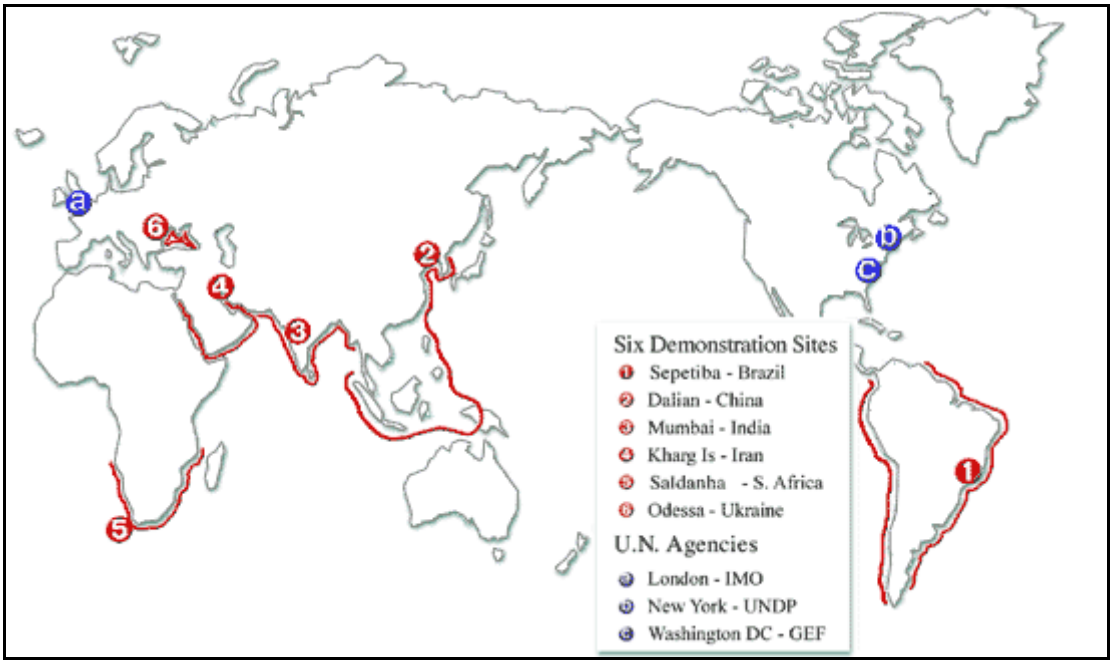



**Figura 6. Países participantes en la primera etapa del proyecto Globallast.**
Fuente: GloBallast

Su objetivo ha sido ayudar a los países en desarrollo a implementar las medidas de tipo voluntarias indicadas en la Resolución A.868 de la Organización Marítima Internacional, con el fin de disminuir al mínimo la transferencia de organismos acuáticos perjudiciales y agentes patógenos transportados por el agua de lastre. Para esto se utilizó un total de 10,2 millones de dólares, de los cuales 7,39 millones de dólares fueron aportados por el Fondo para el medio ambiente mundial y 2,8 millones de dólares por los países participantes (GloBallast, 2001).

En la actualidad la Organización Marítima Internacional se encuentra preparando el segundo proyecto GloBallast, Proyecto GloBallast fase 2, el que tendrá por nombre Asociaciones GloBallast, cuyo nombre completo será Asociaciones para ayudar a los países en desarrollo a reducir la transferencia de organismos acuáticos dañinos en el agua de lastre de los buques.

La preparación de este proyecto tiene una duración de 18 meses (desde el 1 de abril de 2005 hasta 1 de octubre de 2006).Con un presupuesto de 700.000 dólares aportados por el Fondo para el Medio Ambiente Mundial (Awad, 2005).

El Proyecto Asociaciones GloBallast tendrá una duración de 5 años, comenzando a funcionar en el 2006/2007. Contará con un presupuesto inicial de 17 millones de dólares, 10 de los cuales será aportado por los países participantes y otros socios interesados. Lo restante será donado por el GEF (Awad, 2005).

El principal objetivo del proyecto GloBallast fase 2, es contribuir a que regiones o países especialmente vulnerables realizan reformas y/o cambios legales para facilitar el cumplimiento del Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques.

Algunos países con el fin de implementar el Convenio, se encuentran realizando los trámites necesarios y analizando las implicancias para su implementación.

Los principales retos para los países que no están aplicando ningún tipo de control del agua de lastre están relacionados con los aspectos institucionales y legislativos. En los países donde se presenta una mayor cantidad de problemas en la gestión del agua de lastre, como son Australia y Estados Unidos, hay una mayor dificultad para implementar este Convenio, ya que este implicaría severos y drásticos cambios en el estado actual de sus normativas y regulaciones.

En Estados Unidos hay regiones en las cuales se está presionando al gobierno para que se aprueben y actualizan leyes que vayan más allá de las exigencias propuestas por el Convenio (Awad, 2004).

Hasta la fecha solo seis países han ratificado el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques; Maldivas, que fue el primer país en ratificarlo, Siria, España**,** San Kitts y Nevis, Tuvalu y Nigeria (Herrera,com. pers).

En la tabla 3 se muestra en orden cronológico los países que han firmado y ratificado el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques. Se observa que, hasta la fecha, solo son 6 los países que han ratificado el Convenio, España, Siria, Maldivas, San Kitts y Nevis, Nigeria y Tuvalu.

| País | Firma Convenio | Ratificación Convenio |
|---|---|---|
| España | 18 de enero 2005 | 14 de septiembre 2005 |
| Brasil | 25 de enero 2005 | No |
| Siria | 10 febrero 2005 | 2 de septiembre 2005 |
| Argentina | 17 de febrero 2005 | No |
| Maldivas | 14 de febrero 2004 | 22 junio 2005 |
| San Kitts y Nevis | 30 de agosto 2005 | Si |
| Nigeria | 13 de octubre 2005 | Si |
| Tuvalu | 2 de diciembre 2005 | Si |

**Tabla 3. Países que han firmado y ratificado el Convenio Internacional**

### 5.1.3.2 Situación Nacional con respecto al Convenio

Chile es uno de los países, que en general, ha presentado una mayor preocupación por la problemática en general de la contaminación al medio acuático; en este caso particular el problema causado por el transporte de organismos en el agua de lastre. Por lo anterior, existen regulaciones nacionales, mencionadas anteriormente, que controlan y gestionan el agua de lastre de las naves que llegan y zarpan de nuestras costas.

La normativa más reciente y actualmente vigente es la Directiva DGTM y MM A.51/002 del 2002.Ésta señala: el procedimiento a realizar para descargar el agua de lastre desde naves provenientes de puertos nacionales, internacionales, con el agua de lastre cambiada y sin cambiar. Cada nave que descargue agua de lastre deberá llenar un formulario de “Notificación del Agua de Lastre” en la cual se solicita información sobre el buque, el agua de lastre, los tanques y su historial (origen, cambio, destino)(Ver anexo 4)

Según la Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante, la implementación en Chile del Convenio Internacional para el Control y la Gestión del agua de lastre y los sedimentos de los buques no será compleja, ya que el cumplimiento de las exigencias impuestas por éste se realizarán en forma gradual, dependiendo del tipo de nave y su año de construcción.

## 5.2 OBJETIVO ESPECÍFICO Nº 2:

**"Analizar los métodos de tratamiento del agua de lastre y seleccionar aquellos más apropiados para la realidad chilena".**

Los tratamientos del agua de lastre se consideran como parte de los métodos de manejo junto con los métodos de intercambio y aislamiento (Karaminas, 2000),

La figura 7, muestra los métodos de manejo del agua de lastre

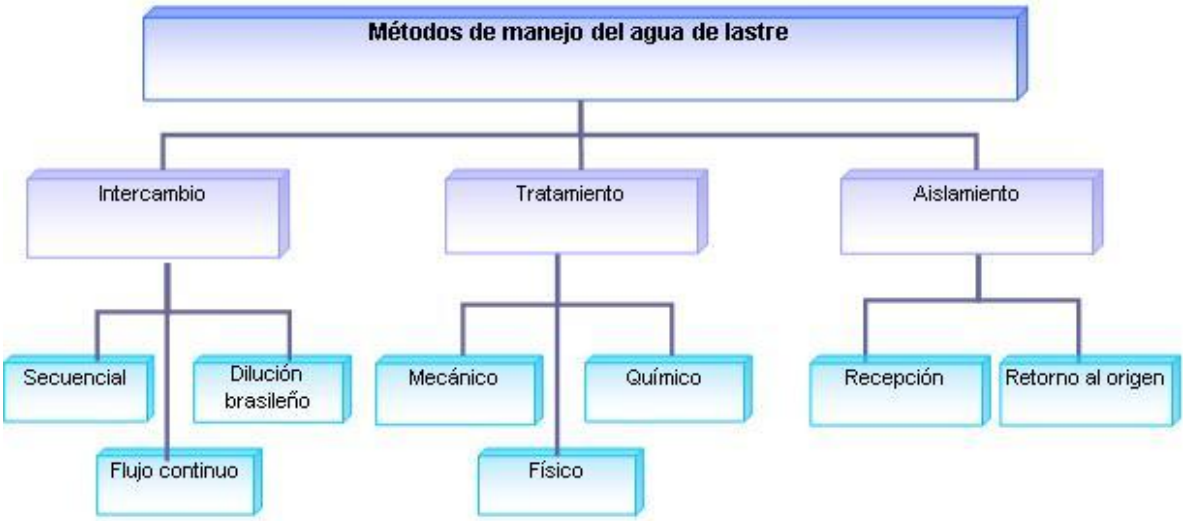



**Figura 7. Métodos de manejo del agua de lastre.** Adaptado de Karaminas (2000)

### 5.2.1 Métodos de intercambio

La Organización Marítima Internacional reconoce tres métodos de intercambio del agua de lastre, el método secuencial, método de flujo continuo y el método de dilución brasileño.

#### 5.2.1.1 Método secuencial

Este método consiste en vaciar completamente un estanque de lastre para ser posteriormente cargado con agua de mar; este método, si no es planificado cuidadosamente puede causar problemas con la estabilidad del buque. También se puede reducir el calado de popa (es decir, disminuye en la parte trasera del buque la zona que está bajo el agua), lo que aumenta la posibilidad de golpes de olas en la proa (parte delantera del buque). (Directiva A-51/002, 2002).

#### 5.2.1.2 Método de flujo continuo

El método se basa en la recirculación del agua dentro del estanque, se hace ingresar agua desde el exterior en forma secuencial hasta alcanzar un recambio de 3 veces el volumen del estanque (recomendación OMI), siempre se debe mantener el estanque sobre un 95% de capacidad ; este método posee un 95% de efectividad ( Directiva A-51/002, 2002). Si se realiza un intercambio de 4 veces el volumen del estanque la efectividad del método aumenta en un 98% (Karaminas, 2000).

#### 5.2.1.3 Método de dilución brasileño

Método de intercambio creado por la compañía multinacional de petróleo brasileño, PETROBRAS. Esta metodología permite un intercambio continuo de agua en tanques parcialmente llenos. Para realizar esto, es necesario instalar un sistema completamente nuevo de tuberías, que permite descargar el agua de los tanques mientras el otro sistema en forma paralela va cargando el agua (Gollash, 1997). Estudios de efectividad realizados a este método concluyen que éste es comparable al método de flujo continuo (Gollasch, 1997).

### 5.2.2 Métodos de tratamiento del agua de lastre

Existen diversos métodos de tratamiento del agua de lastre; se subdividen en mecánicos, físicos y químicos. La tabla 4 muestra los distintos métodos de tratamiento del agua de lastre.

| Sistemas de Tratamientos del Agua de Lastre | | |
|---|---|---|
| **Mecánico** | **Físico** | **Químico** |
| Filtración | Calor | Cloración |
| Separación ciclónica | Radiación UV | Cloramina ($NH_2Cl$) |
| | Ultrasonido | Otros halógenos(Br, I) |
| | Campo electromagnético | Ozono |
| | Campo eléctrico | Peróxido de hidrógeno ($H_2O_2$) |
| | | Químicos orgánicos |
| | | Iones metálicos (Cu, Cu / Ag) |
| | | Radiación de ionización |
| | | Fotoquímica |
| | | Privación de oxígeno |
| | | Variaciones de pH |
| | | Variaciones de salinidad |
| | | Pinturas biocidas en los tanques |
| | | Otros |

**Tabla 4. Sistemas de tratamientos del agua de lastre.** Fuente: Oemcke, 1999

5.2.2.1 Sistema de tratamiento mecánico

<u>Filtración</u>

El sistema de filtración, es muy usado en los tratamientos de aguas residuales para la remoción de sólidos y organismos, y para la clarificación y desinfección del agua (Metcalf & Eddy ,1995).

La figura 8 muestra la tecnología de filtración seleccionada según el tamaño del microorganismo.

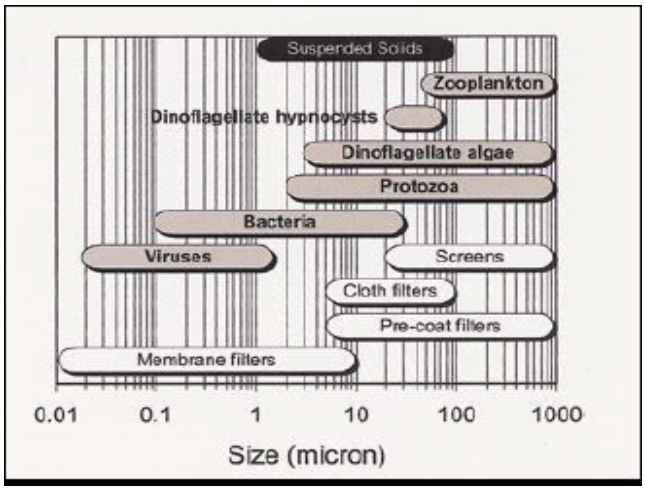



**Figura 8. Comparación de tamaños de microorganismos y la tecnología de filtración seleccionada.** Fuente: (Oemcke, 1999).

Separación ciclónica

Tratamiento mecánico que funciona de una manera relativamente simple y económica para remover partículas y organismos de mayor tamaño del agua de lastre (Gollasch, 1997).

Un separador ciclónico no tiene ninguna pieza móvil, consiste en un tubo con un hueco central con una geometría helicoidal y con un extremo tapado (Karaminas, 2000). (Ver Figura 9)

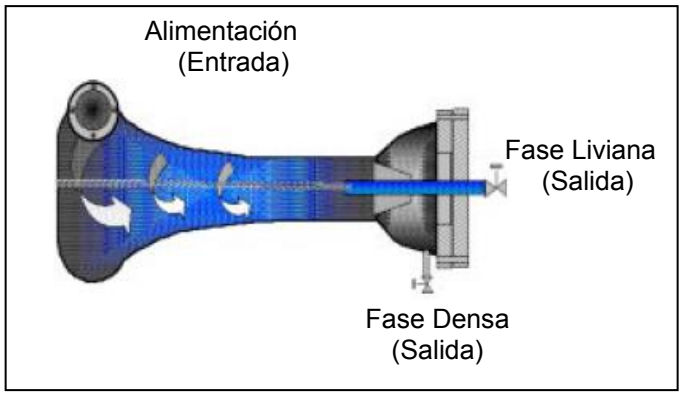



**Figura 9. Ilustración de un separador ciclónico, con sus principales características.**

La figura 9 muestra, las características y el funcionamiento de un separador ciclónico. Su funcionamiento consiste en hacer pasar el agua por el separador, éste gira en forma centrífuga, por lo cual las partículas más livianas tienden a irse a los extremos y las más pesadas a acumularse en el centro. Este sistema podría ser implementado a bordo de la nave pero tendría que ser incorporado al separador una conexión para hacer recircular el agua en el tanque de lastre (Gollasch, 1997).

5.2.2.2 Sistema de Tratamiento Físico

Calor

El tratamiento de calor utilizando el exceso de calor del motor o de la unidad de enfriamiento del motor, supone ser la opción más prometedora, pero sería irrealizable para buques con pesos superiores o iguales a 10.000 toneladas de agua de lastre (Gollasch, 1997).

La temperatura del agua de lastre se puede lograr: conectando el agua de lastre con el sistema de enfriamiento del motor, haciendo pasar varias veces el agua de lastre por el sistema de enfriamiento, o generando calor adicional. La primera opción requeriría un trabajo ingenieril de las tuberías para conectar el agua de lastre a la sala de motor, de modo que el agua de lastre se convierta en parte del sistema de enfriamiento del motor. El paso del agua por el sistema de enfriamiento puede no elevar suficientemente la temperatura del agua o mantenerla. En estos casos sería necesaria la utilización de fuentes de calor externas instaladas en el buque (Gollasch, 1997).

Existe poca información de la transferencia de calor en los recipientes que no están específicamente diseñados para el transporte de líquidos calientes. Los recipientes que están ubicados cerca de las paredes del casco pierden calor rápidamente. (Gollasch, 1997)

El agua no requiere ser bombeada de un tanque a otro para su tratamiento. A cada tanque se le puede aplicar calor en forma secuencial e individual; o bien, al agua de lastre se le puede hacer pasar por un intercambiador de calor a la entrada (lastrado) o a la

salida (deslastrado), se estima que este último sistema disminuye el consumo de energía térmica en un 5 a 10% (Gollasch, 1997).

En Australia se experimentó con un pequeño buque a granel, la temperatura del agua de lastre sin tratar era de 15ºC, ésta se precalentaba en la unidad de calefacción hasta alcanzar los 32ºC, el agua pasaba luego al intercambiador de calor del motor el cual calentaba el agua hasta una temperatura de 50ºC, ésta agua se mantuvo en tanques aislados para conservar la temperatura. Luego era devuelta al precalentador donde perdió el 50% de su temperatura (Gollasch, 1997).

El agua del lastre que contiene quistes algales muy resistentes se puede tratar solamente con temperaturas superiores a 50ºC (Gollasch, 1997).

También se ha precisado que se requiere más energía para alcanzar las temperaturas deseadas en el agua del lastre en aguas frías, tales como el Mar del Norte.

Radiación UV

La radiación ultravioleta es usada para la desinfección de agua potable, agua de procesos, agua de desechos y agua en la acuicultura. La radiación induce a cambios biológicos en las células de los microorganismos (rompimiento químico de las moléculas de ADN, ARN y proteínas) (MARTOB, 2003).

El sistema de radiación UV está compuesto por lámparas de mercurio que contienen vapor de mercurio. Para producir energía UV, la lámpara se carga por contacto con un arco eléctrico. La emisión de rayos ultravioletas se produce por la excitación del vapor de mercurio que se encuentra en la lámpara (Metcalf & Eddy, 1998).

Existen 3 tipos de radiación ultravioleta; UV-A cuya longitud de onda se encuentra entre 320-400 nm, UV-B entre 280-320 nm, y UV-C entre 200 y 280 nm. Mientras más corta sea la longitud de onda mayor energía tiene la radiación.

La sensibilidad de los microorganismos a la radiación UV-C depende de la longitud de onda; los microorganismos son sensibles a la radiación UV entre 210 y 320 nm, con un pic de 265 nm (MARTOB, 2003).

Es necesario realizar una mayor cantidad de pruebas de laboratorio utilizando radiación UV con una mayor diversidad de organismos del agua de lastre. Y experimentar con pruebas a escala piloto en condiciones extremas (floraciones de algas y plancton) y en condiciones que representen la realidad que se vive en los tanques de lastre (Oemcke, 1999).

Ultrasonido

Es una tecnología relativamente nueva en el tratamiento del agua de lastre. El ultrasonido es generado por un transductor, el cual convierte la energía mecánica o eléctrica en vibraciones de alta frecuencia. El efecto del ultrasonido está basado en cambios físicos y químicos, destrucción de organismos y ruptura de la membrana celular, resultado de la cavitación. Ésta última, es influenciada por la frecuencia, poder de densidad, tiempo de exposición y propiedades del agua tratada (MARTOB, 2003).

Campo electromagnético

El agua pasa por un campo electromagnético generado por un dispositivo electromagnético. Este método de tratamiento ha sido utilizado bajo condiciones de laboratorio para eliminar bivalvos del agua (Gollash, 1997). También es utilizado para el control de bacterias en el combustible (Oemcke, 1999).

Campo eléctrico

Dentro de esta tecnología de tratamiento se encuentra el pulso de campo eléctrico y el pulso de plasma. Se conoce que tienen una exitosa aplicación en la muerte de organismos en el agua, pero su eficacia en la muerte de especies no deseadas en el agua

de mar aún es desconocida; por lo que se está estudiando e investigando más detalladamente. (Prince William Sound Regional Citizen Advisory Council, 2005).

En la tecnología de pulso de campo eléctrico el agua se hace pasar por dos electrodos metálicos que someten al agua a cortas explosiones de energía a muy alta densidad y presión, la energía transferida al agua electrocuta a los organismos.

La tecnología de plasma funciona de una manera similar entregando un impulso de alta energía al medio, teniendo un plasma altamente ionizado y presurizado, que transfiere energía al agua por disociación, excitación e ionización. Esta energía destruye a los organismos. (Prince William Sound Regional Citizen Advisory Council, 2005)

5.2.2.3 Sistema de Tratamiento Químico

Cloración

Comúnmente utilizado en el tratamiento de las aguas. Los compuestos de cloro más frecuentemente utilizados en las plantas de tratamiento de agua residual son el cloro ($Cl_2$), el dióxido de cloro ($ClO_2$), el hipoclorito de sodio (NaOCl) y el hipoclorito de calcio [$Ca(OCl)_2$] (Metcalf & Eddy, 1998).

El cloro se suministra en estado líquido o gaseoso. Se debe tener extremo cuidado en su manipulación y almacenamiento, ya que es muy corrosivo, por lo que es muy importante tener controladas alguna variables como la temperatura, la aireación, superficies de contacto, entre otras (Metcalf & Eddy, 1998).

El dióxido de cloro posee un poder de desinfección igual o superior al del cloro, y que se ha comprobado es más efectivo que el cloro en la inhibición e inactivación de virus (Metcalf & Eddy, 1998).

El hipoclorito de calcio se encuentra en forma seca o líquida. En forma seca existe en gránulos o en polvo, tabletas comprimidas, o en pastillas. Los gránulos y pastillas de hipoclorito de calcio se disuelven fácilmente en agua y, bajo condiciones de

almacenamiento adecuadas, son relativamente estables. Su transporte, almacenamiento y distribución es más seguro que el cloro líquido (Metcalf & Eddy, 1998).

El hipoclorito de sodio se presenta en forma seca. Su manipulación requiere mucho cuidado debido al alto poder corrosivo y a la emanación de vapores de cloro. Su costo varía entre 150 y 200 veces el costo del cloro líquido (Metcalf & Eddy, 1998).

En la normativa nacional se indica que los buques que no han realizado cambio de agua de lastre se les debe agregar a sus tanques de lastre 11 gramos de hipoclorito de sodio en polvo o 14 gramos de hipoclorito de calcio en polvo por tonelada de agua de lastre.

Cloramina ($NH_2Cl$)

Compuesto químico, también llamado monocloramina. La tasa de relación del amoníaco y cloro está generalmente en el rango de 1:3 a 1:4 y tiene que ser controlada para prevenir la formación de di y de tri cloraminas. En valores de pH altos (8.5-9.0) tendrían un poder desinfectante más alto que el cloro libre (Gollasch, 1997). Según estudios de laboratorio las cloraminas inorgánicas serían menos efectivas en la desinfección que el cloro libre.

Tratamiento menos costoso que el ozono y el dióxido de cloro. La cloramina residual es más persistente que el cloro libre (Gollasch, 1997)

Otros halógenos

Dentro de este grupo de desinfectantes se encuentran el Bromo y el Yodo.

El bromo, es un desinfectante que ha sido aplicado a tratamientos secundarios de agua donde es más efectivo que el cloro a alto pH (Oemcke, 1999). El bromo residual es menos tóxico que el cloro residual (Metcalf & Eddy, 1998). Su efectividad contra diversos organismos presentes en las aguas de lastre está siendo estudiada (Prince William Sound Regional Citizen Advisory Council, 2005).

El Yodo, puede ser efectivo para pH superiores a 8. No reacciona con bromo o amonio. Dependiendo de los niveles de pH puede variar considerablemente su efectividad, pero es efectivo para la remoción de bacterias, esporas de bacterias, virus y cistos de protozoos. Es muy poco probable que sea efectivo, comparado con otros halógenos, para aplicaciones a gran escala (Oemcke, 1999).

Ozono

Es un desinfectante de gran alcance pero inestable, es un agente oxidante que rápidamente destruye virus, bacterias, inclusive esporas. Biocida más efectivo que el cloro, se ha incrementado su uso en lugar del cloro para el tratamiento de las aguas domésticas e industriales (MARTOB, 2003).

Entre las aplicaciones marinas del ozono se encuentra el control de la contaminación microbiológica en la acuicultura, control del biofouling en los sistemas de agua, entre otros (MARTOB, 2003).

Peróxido de Hidrógeno ($H_2O_2$)

El tratamiento se basa en la transformación química del oxígeno a peróxido de hidrógeno. Es un compuesto altamente oxidativo que destruye el plancton y microorganismos que se encuentran en el agua de lastre (MARTOB, 2003).
Investigaciones demuestran que el peróxido de hidrógeno es efectivo para destruir cistos del dinoflagelado *Gymnodinium catenatum.*

Químicos orgánicos

En este grupo están el glutaraldehído, ácido glicólico, ácido paracético y formaldehído.

Glutaraldeído, es exitosamente utilizado como desinfectante en laboratorios y hospitales. Es un potente esporocida. Su eficacia aumenta en ambientes de temperatura y pH altos

(Oemcke, 1999). Es efectivo incluso en bajas concentraciones (5-25 g/L)(Gollasch, 1997). Investigaciones indican que podría ser más efectivo para el tratamiento de tanques pequeños. Su uso para tanques de gran tamaño estaría restringido (Prince William Sound Regional Citizen Advisory Council, 2005).

Se ha propuesto como tratamiento para buques sin lastre que entran en los grandes lagos con tanques llamados"NOBOB" (en inglés, no ballast on board), para controlar los organismos residuales en sus tanques (Gollash, 1997).

Acido glicólico, también fue propuesto para el uso en tanques NOBOB que entran a los grandes lagos (Gollasch, 1997)

Acido paracético se produce de la reacción entre el peróxido de hidrógeno y el ácido acético.
Es efectivo en bajas concentraciones (0.1-2 g/L). Adecuado para eliminar bacterias y esporas de éstas. No produce tóxicos conocidos (Gollasch, 1997)

Formaldehído, de amplio espectro microbiano. Las típicas concentraciones utilizadas para tratamientos cortos (de 2 a 3 horas) son del 1%. Es un tratamiento de bajo costo (Gollasch, 1997)

Es muy importante que cuando se utilicen los ácidos orgánicos se tomen todas las medidas de precaución adecuadas, ya que son compuestos tóxicos y poseen efectos secundarios adversos sobre la salud de las personas (Oemcke, 1999).

Iones metálicos

Dentro de ésta categoría están los iones cúpricos (Cu) y sistemas de cobre / plata (Cu+ Ag)

El cobre, es un alguicida tóxico para bacterias heterotróficas en ambientes acuáticos. Ha sido usado para el control del poliovirus. En presencia de fosfatos insolubles se forma cobre fosfato y esto a su vez forma complejos y quelatos con amoníaco, ácido húmico y

otros compuestos orgánicos, que reducen su biodisponibilidad. La química sugiere que es difícil de utilizar para el tratamiento del agua de lastre (Oemcke, 1999)

Sistema cobre/plata, funciona mediante un sistema de electrodos. Se hace pasar el agua de lastre por pilas electrolíticas, se deben tener una aleación de electrodos cobre / plata en una relación de 1:10 (Gollasch, 1997).

Concentraciones excesivas son tóxicas para la mayoría de los organismos (Gollasch, 1997).

La capacidades de desinfección del cobre y de la plata dependen del tipo de organismo a tratar, organismos celulares simples son más sensibles que organismos en etapas más avanzadas de vida, las condiciones ambientales, como pH y la susceptibilidad viral de los iones metálicos, podrían también influir en la efectividad de esto iones.

Existen pocos datos de los efectos colaterales de la plata, pero su toxicidad solo es superada por el mercurio (Gollasch, 1997).

Aspectos ambientales sobre la descarga de cobre y plata a las aguas y la dispersión de sus iones en los tanques de lastre necesitan ser estudiados con mayor detalle (Gollasch, 1997).

Radiación de ionización

Radiación gama, se utilizan como fuente de rayos gama el Cesio 137 o Cobalto 60. Posee un alto grado de penetración (Gollasch, 1997). Su aplicación es relativamente nueva y fue desarrollada para aguas residuales de la pasteurización, se considera como una posible técnica de tratamiento para el agua de lastre (Gollasch, 1997). Es uno de los tratamientos más costosos (Oemcke, 1999)

Radiación de electrón de alta energía, es producida por un acelerador que emite electrones de alta energía en el agua a tratar (Oemcke, 1999).Este tipo de tratamiento

puede ser efectivo para la remoción de aglomeraciones de virus o adsorbidos por partículas de arcilla; Metcalf, 1998).

La eficacia de la radiación aumenta con la presencia de cloruros y floculantes en el agua (Metcalf, 1998)

Los sistemas actuales van a depender de la irradiación en películas finas de agua, lo que significa que se requerirán instalaciones de gran tamaño para tratar altos flujos, como es el caso del agua de lastre. El diseño de instalaciones actuales de las embarcaciones y su alto costo indicarían que es un método inadecuado para el tratamiento del agua de lastre (Oemcke, 1999).

Fotoquímica

Se utiliza luz solar o luz fluorescente para producir radicales de oxígeno altamente reactivos, utilizando azul de metileno o dióxido de titanio como intermediarios a altos niveles de pH (Oemcke, 1999).

Requiere tiempos largos de contacto y tiene bajas tasas de inactivación comparado con otros desinfectantes y no sería adecuado para el tratamiento del agua de lastre (Oemcke, 1999).

Privación de oxígeno

En este método se le adicionan nutrientes al agua de lastre para que así proliferen los organismos, lo que produciría un agotamiento del oxígeno, formándose un medio anóxico (MARTOB, 2003). También para alcanzar las condiciones anaerobias se le puede agregar al agua dióxido de sulfuro o sulfito de sodio (Gollasch, 1997). Con lo cual las organismos que necesiten de una fuente constante de oxígeno morirán (MARTOB, 2003).

La desoxigenación completa sería difícil de alcanzar en tanque que no están completamente sellados (Gollasch, 1997).

Variaciones de pH

Algunos organismos son sensibles a los cambios de pH, especialmente a grandes variaciones en cortos períodos de tiempo (Gollasch, 1997). El valor del pH se podría ajustar con la adición de cal (AQIS, 1993; Gollasch, 1997).

Bajos niveles de pH son indeseables debido a los problemas de corrosión. El aumento temporal de pH a alrededor de 12 por la adición de algún compuesto alcalino ha sido sugerido como una alternativa; sin embargo, altas condiciones de pH podrían resultar en un ataque alcalino a tuberías, tanques de lastre y las capas de éstos (Gollasch, 1997).

La descarga del agua de lastre con altos o bajos niveles de pH podría causar un gran impacto en el medio ambiente (Gollasch, 1997)

Existen pocos datos con respecto la eficiencia y efectividad de las variaciones de pH (Gollasch, 1997).La inactivación de virus por el aumento de pH ha sido demostrada. Cistos del dinoflagelado *Gymnodinium catenatum* a un rango de pH entre 2 a 10 son capaces de sobrevivir.

Hay que considerar los aspectos de salud y seguridad que implicaría almacenar y manejar en el buque ácidos y bases para disminuir y aumentar el pH, respectivamente. Por este motivo las variaciones de pH tendrían poca probabilidad de ser adecuados para el tratamiento del agua de lastre a bordo del buque. (Gollasch, 1997)

Variaciones de salinidad

En los casos más simples de éste método, se le agrega agua dulce al agua salada y viceversa, para afectar los procesos osmoregulatorios de los organismos que viven en agua salada o agua dulce y que están presentes en el agua de lastre. Se sabe que este método no afecta a todos los tipos de organismos (Gollasch, 1997).

Pinturas biocidas en los tanques

Consiste en agregar capas de pintura anti-incrustantes (antifouling) a los tanques de lastre (Oemcke, 1999).

El movimiento del agua dentro del tanque de lastre aumenta la efectividad de la pintura antifouling, por el contrario, las aguas tranquilas y los tanques de lastre completamente llenos disminuirían el efecto de la pintura (Gollasch, 1997).

Las capas de pintura tienen que ser aplicadas cada dos a tres años. Es posible que algunos organismos que se encuentran dentro del tanque de lastre tengan como su fuente de reproducción el tanque y la pintura anti-incrustante no tendría efecto, por lo cual la efectividad de la pintura para controlar la reproducción dentro del tanque es cuestionable (Oemcke, 1999).

Otros

La literatura describe algunos desinfectantes que no han sido ampliamente utilizados; como son el permanganato de potasio, sinergismo entre cobre y cloro, radiación microondas, etc. (Oemcke, 1999).

### 5.2.3 Métodos de aislamiento del agua de lastre

Dentro de los métodos de aislamiento se encuentran: las facilidades de recepción en puerto y el retorno al origen del agua de lastre.

Para buques de pasajeros, el método de intercambio secuencial no debería presentar problemas, estos buques a menudo tienen una limitada capacidad de lastre, ya que utilizan su espacio para cargar artículos de consumo. Estos buques deberían retener el lastre a bordo y redistribuirlo internamente o intercambiarlo, durante o en el término del viaje, si la navegación es realizada fuera de la Zona Económica Exclusiva (ZEE) (Karaminas, 2000)

Los tanques que utilizan el concepto de Descarga de Balance Hidrostático poseen restricciones en el cambio de orientación y calado. En ciertas condiciones de carga del cargamento, donde el lastre está dentro del buque, éste debería permanecer a bordo y ser intercambiado durante el trayecto del viaje o, si es posible, descargarlo en instalaciones de recepción (Karaminas, 2000).

#### 5.2.3.1 Facilidad de recepción

Consiste en la recepción de las descargas de agua de lastre en puertos. Este método podría evitar los problemas de los métodos de intercambio. Pero también podría obligar a la mayoría de las naves a pasar más tiempo en puerto, lo que aumentaría los costos económicos de ésta, así como también, el trabajo que tendrían que realizar el sistema de tuberías y bombeo del buque (Karaminas, 2000).

Solo se conoce que existen instalaciones de recepción en el Puerto de Vancouver, Canadá. Consistente en un conteiner con capacidad para tratar 1000 $m^3/h$ de agua de lastre. En Noruega, se está considerando la posibilidad de adaptar una barcaza para el tratamiento del agua de lastre (Karaminas, 2000).

#### 5.2.3.2 Retorno al origen

Consiste en descargar el agua de lastre en el mismo lugar en que fue tomada. En la mayoría de los casos es impracticable. Este método podría aumentar el tiempo del buque en el océano.(Karaminas, 2000).

En la siguiente página se muestra una tabla resumen con todos los métodos de manejo de agua de lastre y sus respectivas ventajas y desventajas

| | | Métodos de manejo del agua de lastre | Ventajas | Desventajas |
|---|---|---|---|---|
| Método de Intercambio | | Método secuencial | Bajo costo<br>No tóxico<br>No corrosivo | Puede causar daño en la estructura del buque<br>Depende de las condiciones climáticas |
| | | Flujo continuo | Bajo costo<br>Teóricamente tiene un 95% de efectividad<br>Se realiza mientras buque navega<br>No tóxico<br>No corrosivo | Depende de las condiciones climáticas |
| | | Dilución brasileño | Se puede realizar con tanques parcialmente llenos<br>No tiene efectos negativos en la estructura del buque (8)<br>No tóxico<br>No corrosivo | Depende de las condiciones climáticas |
| Sistemas de Tratamiento | Mecánico | Filtración | Se complementa con otros tratamientos<br>No tóxico<br>No corrosivo | Efectividad depende de tamaño de poro |
| | | Separación ciclónica | Efectivo para remover partículas con densidades mayores o iguales que el agua<br>No tóxico<br>No corrosivo | No es efectivo para la separación de organismos con gravedad específica menor que el agua de mar (1) |
| | Físico | Calor | Elimina la mayoría de los organismos, incluso los más resistentes<br>No genera residuos tóxicos<br>Reciclado del agua<br>No tóxico<br>No corrosivo | Posibles problemas en la estructura del buque<br>Se necesitan temperaturas muy altas para eliminar organismos termofílicos |
| | | Radiación UV | Efectivo en la eliminación de fitoplancton, zooplancton, bacterias y virus (8)<br>No tóxico<br>No corrosivo | Sólidos suspendidos disminuyen efectividad |
| | | Ultrasonido | No deja residuos químicos (8)<br>No tóxico<br>No corrosivo | Diseñado para bajas tasas de flujo de agua |
| | | Campo electromagnético | No requiere compuestos químicos adicionales<br>No genera residuos<br>Bajo grado de corrosión<br>No tóxico | Existen pocos estudios de sus efectos en el medio marino. |
| | | Campo eléctrico (pulso eléctrico y plasma) | Pulso eléctrico posee un 95 a 99% de efectividad (5)<br>No produce residuos químicos<br>Bajo grado de corrosión<br>No tóxico | Sólidos suspendidos disminuyen efectividad |
| | Químico | Cloración | Amplio poder desinfectante<br>Económico | Cuidados en su manipulación<br>Descloración del agua antes de la descarga<br>Alta corrosividad<br>Alta toxicidad |
| | | Cloramina | No reacciona con compuestos orgánicos (2) | Persistencia en el ambiente más alta que cloro (2) |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | Dificultad en la mantención de la relación amoníaco-cloro, a bordo de un buque<br>Alta corrosividad<br>Alta toxicidad |
| | | Otros halógenos (Br, I) | Menos tóxico que el cloro residual | Alto grado de contaminación<br>Alta toxicidad |
| | | Ozono | Puede ser generado in- situ (8) ,<br>No requiere de tratamientos adicionales (por la rápida descomposición del $O_3$ )<br>No necesita de alimentación química (4) | Altamente inestable<br>Puede ser tóxico a altas concentraciones<br>Alta corrosividad<br>Alta toxicidad (en altas concentraciones) |
| | | Peróxido de hidrógeno | Elimina organismos resistentes (esporas, cistos de dinoflagelados)<br>Descomposición de residuos a $H_2O$ y $O_2$ (2) | Tiempo de tratamiento (mínimo 24 hrs)(3),<br>Altos costos<br>Alta corrosividad (3)<br>Alta toxicidad (3) |
| | | Químicos orgánicos | Formaldehído : bajo costo | La gran mayoría poseen efectos secundarios tóxicos (6)<br>Alta corrosividad<br>Alta toxicidad |
| | | Iones metálicos (Cu, Ag) | Efectivos alguicidas | Bioacumulación en organismos marinos<br>Alta toxicidad |
| | | Radiación de ionización | Efectivo para la eliminación de aglomerados virales | Alto costo |
| | | Fotoquímica | No tiene | Largos tiempos de contacto<br>Baja tasa de eliminación, en comparación a otros tratamientos |
| | | Privación de oxígeno | Se realiza in situ (3) | Sobreviven bacterias anóxicas (3)<br>Alta corrosividad, producida por bacterias anaerobias (6)<br>Tóxico, por la generación de $H_2S$ |
| | | Variación de pH | No tiene | Un alto pH causa un alto grado de corrosión (2).<br>Pocos datos relacionados con efectividad |
| | | Variación de salinidad | No tiene | Se utilizan grandes cantidades de NaCl (buques pequeños utilizan 210 ton) (2)<br>No afecta a todos los organismos<br>Alta corrosividad |
| | | | Fácil aplicación<br>Efectivo para cascos de las embarcaciones | Algunos organismos pueden reproducirse dentro del tanque, no teniendo efecto las pinturas |
| **Método de aislamiento** | | Recepción | Efectividad en la eliminación de organismos<br>No corrosivo | Tiempo de la nave en puerto |
| | | Retorno al origen | El agua vuelve a su lugar de origen<br>No tóxico<br>No corrosivo | Aumento en el tiempo de navegación |

(1)AQIS, 1993 ; (2)Gollasch, 1997; (3) MARTOB, 2003 ; (4) Metcalf & Eddy, 1998; (5) NRC, 1996; (6) Oemcke, 1999; (7)Rigby & Taylor, 2001; (8) Voon, 2002.

**Tabla 5. Ventajas y desventajas de los distintos métodos de manejo del agua de lastre.**

En la tabla anterior, se aprecia los distintos métodos de intercambio, tratamiento e aislamiento del agua de lastre.

Según la tabla 5, los tratamientos que presentan una mayor cantidad de ventajas (efectividad, baja toxicidad, bajo grado de corrosión, seguridad), son los métodos de: filtración, calor y radiación UV.

Un factor importante a considerar en la elección de los métodos de manejo del agua de lastre, son los costos asociados a cada uno de los tratamientos.

En la tabla de la siguiente página se observa la diferencia en los costos de los métodos de manejo del agua de lastre, los que van a depender de la tecnología o reactivos que se utilicen.

| Métodos de Manejo del agua de lastre | Costos Asociados (USD)* |
|---|---|
| Método secuencial | 0,021 USD / $m^3$ (5) |
| Flujo contínuo | 21.540 USD (para buque con capacidad de 55.000 $m^3$),53.973 USD(para buque con capacidad1.000 $m^3$)(7) |
| Dilución brasileño | El 1% del valor de buques nuevos (por instalación), y 3% del valor de buques antiguos( por reestructuración)(8) |
| Filtración | 0,06-0,17 USD/ $m^3$ (7) |
| Separación ciclónica | Entre 0.06-0.25 USD/$m^3$ para buques con capacidad de 1.000 a 55.000 $m^3$ (2) |
| Calor | 0,73 USD/ $m^3$ (3)<br>50.000 USD (Para modificar el sistema de tuberías de un buque de 147.000 ton) (2) |
| Radiación UV | 0,14 USD/$m^3$ (3) |
| Ultrasonido | 0,37 USD/$m^3$ (3) |
| Campo electromagnético | Para flujos de 12 $m^3$ /h (a escala piloto) 10.000 USD (8) |
| Campo eléctrico (pulso eléctrico y plasma) | Pulso eléctrico 350.000 USD/25.000 $m^3$<br>Pulso plasma 100.000-200.000 USD / $m^3$ |
| Cloración | Para concentraciones de 5mg/l :<br>4,9 USD /1000 $m^3$ de agua |
| Cloramina | No se identificó el costo exacto, pero su valor sería menor al del ozono. (2) |
| Otros halógenos (Br, I) | Costos no están bien definidos. |
| Ozono | 0,29 USD/$m^3$ (3) |
| Peróxido de hidrógeno | 3,12 USD/$m^3$ (3) |
| Químicos orgánicos (Formaldehído, ác. paracético, glutaraldehído, ac.glicólico) | Tratamiento que aún esta siendo estudiado, por lo cual costos no están bien definidos |
| Iones metálicos (Cu, Ag) | 100.000 USD/20.000 $m^3$ de agua (2) |
| Radiación de ionización | Costos serían muy elevados. Aún están siendo estudiados |
| Fotoquímica | No determinado en literatura |
| Privación de oxígeno | 0,13 USD/$m^3$ (3) |
| Variación de pH | 0,62USD/ $m^3$ |
| Variación de salinidad | Tiempo que demora el buque en cargar y almacenar el NaCl, en caso que se utilice este compuesto.(2) |
| Pinturas biocidas | Depende del tamaño del buque y la cantidad de pintura que se utilice, costo aproximado de un galón de pintura es de 75 USD. |
| Recepción | 500-900 USD /1000$m^3$ de agua de lastre (1) |
| Retorno al origen | Costos asociados a combustible y un sobre trabajo de la embarcación |

(1) AQIS, 1993 ; (2) Gollasch, 1997; (3) MARTOB, 2003 ; (4) Metcalf & Eddy, 1998; (5) NRC, 1996; (6) Oemcke, 1999; (7) Rigby & Taylor, 2001; (8) Voon, 2002. * Dólar Americano

**Tabla 6. Costos asociados a los métodos de manejo del agua de lastre.**

### 5.2.4 Selección de tratamientos

Para seleccionar los métodos a desarrollar de manera experimental, se revisó y estudio en la literatura relacionada con el tema, las ventajas y desventajas, los impactos ambientales, los aspectos económicos, la seguridad y los riesgos asociados a cada uno de los sistemas de tratamiento. Los métodos seleccionados son: filtración, calor, radiación UV.

#### 5.2.4.1 Filtración

Pueden ser usados como desinfectantes de forma individual o combinado con otros métodos (Oemcke, 1999).

Se seleccionó por el hecho de ser el método complementario más utilizado y efectivo. En la mayoría de los casos la filtración va acompañada de otro tipo de tratamiento como puede ser, la radiación UV, el ozono, el ultrasonido, etc. (MARTOB, 2003)

La filtración, previa a la exposición a radiación ultravioleta, mejora la eficacia del tratamiento UV. (Oemcke, 1999)

La tabla 7 muestra el tamaño que poseen diversos organismos que pueden estar presentes en el agua de lastre.

| Organismo | Tamaño | Referencia |
|---|---|---|
| **Virus** | | |
| IHN, VHS, IPN (a) | 55-200 nm | Wolf (1998) |
| **Bacteria** | | |
| típica | 0.5-5.0 µm (<0.1-10 x 33µm)( f ) | Starr & Schmidt (1981) |
| *Vibrio cholerae* 01(b) | 0.38 x 1.5 µm vegetativo<br>0.2-0.4 µm cocoide latente | Colwell & Spira (1992)<br>Colwell & Spira (1992) |
| *Vibrio* sp | 0.5-0.8 x 1.4-2.6 µm | Holt *et al*. (1994) |
| *Aeromonas salmonicida (a)* | 0.6 x 1.0 µm | Gilles (1984) |
| *Renibacterium Salmoninarum* (a) | 0.3-1.0 x 1.0-1.5 µm | Holt *et al*. (1994) |
| *Yersinia* spp (a) | 0.5-1.0 x 1-2 µm | Buchanan & Gibbons (1975) |
| **Protozoos marinos** | | |
| seleccionado (a,c) | esporas 2.6-12 µm, plasmodium 4-30µm | Bower (1995) |
| *Perkinsus marinus (a)* | zoosporas 2-3 x4-6 µm<br>tropozoides 2 a 20 µm<br>esporangium 15-100 µm | Bower (1995)<br>Bower (1995)<br>Bower (1995) |
| **Diatomeas marinas** (d) | | |
| Células vegetativas y esporas | 3-115 µm de diámetro | Hargraves & French (1983) |
| Auxosporas | 3-40 µm diámetro | |
| **Alga dinoflagelada** | | |
| típica | 20-200 µm( 2(g) a 2 (h) mm)( f ) | Taylor (1987) |
| *Pfiesteria piscicida ( e )* | zoosporas & gametos malos 5-8 µm, planocigoto 25-60 µm, amebas < 5-250 µm cistos > 10 µm | Steidinger *et al*.(1996) |

(a) Identificado por Munday et al (1992) presenta potencial para la translocación del agua de lastre(IHN:Virus Infeccioso Necrótico Hematopoyiético;VHS:Virus Hemorrágico Septicemia Viral; IPN:Virus Infeccioso Necrosis Pancreática;
(b) Identificado en el lastre(Mc Carthy & Khambaty, 1994);(c) *Bonamia ostreae*, *Haplosporidium costale,H.nelsoni, Marteilia refringes* y *Mikrocytos mackini*;(d) *Leptocylindrus danicus*, *Chaetoceros diadema*, *Stephanopyxis palmeriana* y *Stephanopyxis turris*;( e ) Burkholder et al. (1995); (f) tamaños extremos; (h) *Noctiluca*

**Tabla 7. Tamaño de los microorganismos que pueden estar presentes en el agua de lastre.** Fuente: (Oemcke, 1999).

5.2.4.2 Calor

La exposición al tratamiento térmico de alta temperatura por cortos períodos (menos de 10 segundos) sería suficiente para causar la desnaturalización de todos los organismos en el agua de lastre. (MARTOB, 2003)

En la Universidad de Newcastle, Inglaterra, como parte de un proyecto denominado MARTOB, perteneciente a la Comunidad Europea, se realizaron pruebas bajo condiciones de laboratorio para probar los efectos de las altas temperaturas (entre 35º y 65º C, utilizando rangos de 5º C) en 3 especies de zooplancton (*Acartia tonsa, Nereis virens, Tisbe battagliai*) y en 2 especies de fitoplancton (la diatomea *Thalassiosira pseudonana* y el dinoflagelado *Alexandrium tamarense)*. Para el zooplancton se obtuvo una correlación entre la tasa de muerte y la temperatura. Para las especies de fitoplancton se detectó una disminución de la clorofila a con todas las temperaturas utilizadas. Según MARTOB (2003) la temperatura óptima para el tratamiento térmico (para fitoplancton y zooplancton) sería de 55º C.

Bajas temperaturas (menores a 45º) podrían no ser efectivas en organismos patógenos (Oemcke, 1999).

Para el tratamiento térmico no se registró ningún riesgo del aumento de la corrosión (MARTOB, 2003).

En un estudio de laboratorio, Bolch & Hallegraeff (1993) demostraron que tiempos de exposición cortos (30 a 90 segundos) a temperaturas sobre los 40º C serían efectivas para eliminar cistos del dinoflagelado *Gymnodinium catenatum* y *Alexandrium tamarense.*

5.2.4.3 Radiación UV

Según pruebas que se realizaron en los dinoflagelados *Amphidinium sp* y *Gymnodinium catenatum*, se encontró que; para *Amphidinium sp* se usaron dosis de radiación UV de 100 mWs/cm$^2$ , la prefiltración en 20 um mejoró la eficiencia de la radiación UV. Para

*Gymnodinium catenatum* se necesitaron dosis de 50 mWs/cm$^{2,}$ para una inactivación mayor al 99,98%, se necesitó una filtración de 25 um. (Oemcke, 1999).
La sensibilidad de los microorganismos a la radiación UV depende de la longitud de onda; los microorganismos son sensibles a la radiación UV entre 210 y 320 nm, con un pic de 265 nm (MARTOB, 2003).

Es necesario realizar una mayor cantidad de pruebas de laboratorio utilizando radiación UV con una mayor diversidad de organismos del agua de lastre. Y experimentar con pruebas a escala piloto en condiciones extremas (floraciones de algas y plancton) y en condiciones que representen la realidad que se vive en los tanques de lastre (Oemcke, 1999).

La tabla 8 muestra las dosis requeridas para inactivar determinados organismos

| Organismo | Dosis (mWs/cm2) | Remoción log * | Referencia |
|---|---|---|---|
| **AGUA DULCE** | | | |
| **Virus** | | | |
| Adenovirus 40 | 30,124 | 1, 4 | Meng & Gerba (1996) |
| MS-2 Colifago | 14, 65.2 | 1, 4 | Meng & Gerba (1996) |
| Poliovirus 1 | 4 a 6 | 1 | Meng & Gerba (1996), Harris et al. (1987) |
| | 22-31 | 4 | Meng & Gerba (1996), Harris et al. (1987) |
| Reovirus | 16, 45 | 1, 3 | Harris et al. ( 1987) |
| f2 Virus bacterial | 61-73 | 2 | Severin *et al*. (1983) |
| **Bacteria** | | | |
| *E.coli* | 3 a 12 | 2 a 3 | Jarroll (1988), Sobsey (1989), Severin *et al*(1983) |
| esporas *Bacilus subtilis* | 24-60 | 3 | Sommer *et al*.( 1995), Sobsey (1989) |
| **Levadura** | | | |
| *Candida parapsilosis* | 28-31 | 2 | Severin *et al*. (1983) |
| **Cianobacteria** | | | |
| *Anabaena* spp | 100 | 3.2 -3.7 | Levine & Thiel (1987) |
| **Protozoo** | | | |
| *Giardia lamblia* | 43-63 | 0.8 | Jarroll (1988) |
| *Acanthamoeba castellanii* | 100 | 3 | Sobsey (1989) |
| *Cryptosporidium parvum* | 80, 120 | 1 , 2 | Campbell *et al*.(1995) |
| **AGUA DE MAR** | | | |
| **Virus** | | | |
| IPN ** | 122-200 | 3 | Litved *et al*. (1995) |
| Baculovirosis | > 460 | 1 | Chang *et al*. (1998) |
| **Bacteria** | | | |
| *Streptococcus* sp | 21.1 | 4.43 | Sugita *et al*. (1992) |
| *Vibrio anguillarum* | 22 | 6.8 | Sugita *et al*. (1992) |
| *Pasteurella piscicida* | 10.8 | > 6.5 | Sugita *et al*. (1992) |
| *Vibrio salmonicida* | 1.8 | 5 | Litved *et al*. (1995) |

*log 1 es la reducción de organismos en un 90%, log 2 en un 99%, log 3 en un 99.9% y log 4 en un 99.99% de reducción.

** Virus Infeccioso Necrosis Pancreática

**Tabla 8. Datos de la inactivación de organismos por radiación UV.** Fuente: (Oemcke, 1999).

## 5.3 OBJETIVO ESPECÍFICO Nº 3:

**“Evaluar experimentalmente los sistemas de tratamiento de filtración, calor y radiación ultravioleta”.**

### 5.3.1 Análisis de las muestras de la bahía, tanque de lastre y agua de lastre prefiltrada

Se realizó una comparación cuantitativa de la cantidad de bacterias presentes en la bahía, tanque de lastre y agua de lastre prefiltrada. Las muestras fueron marcadas con reactivos fluorescentes, Sybr Green I y Ioduro de Propidio, el primero actúa intercalándose en la doble cadena de DNA, tanto de organismos vivos y muertos, y el segundo, se fija al DNA de organismos muertos.

#### 5.3.1.1 Bahía

La muestra de agua proveniente de la bahía de Valparaíso, posee una gran cantidad de bacterias vivas y una baja cantidad de bacterias muertas. Se observa que las bacterias vivas alcanzan una concentración de $4{,}99 \times 10^{6}$ bacterias· $ml^{-1}$ y las bacterias muertas, $1{,}11 \times 10^{6}$ bacterias· $ml^{-1}$ .

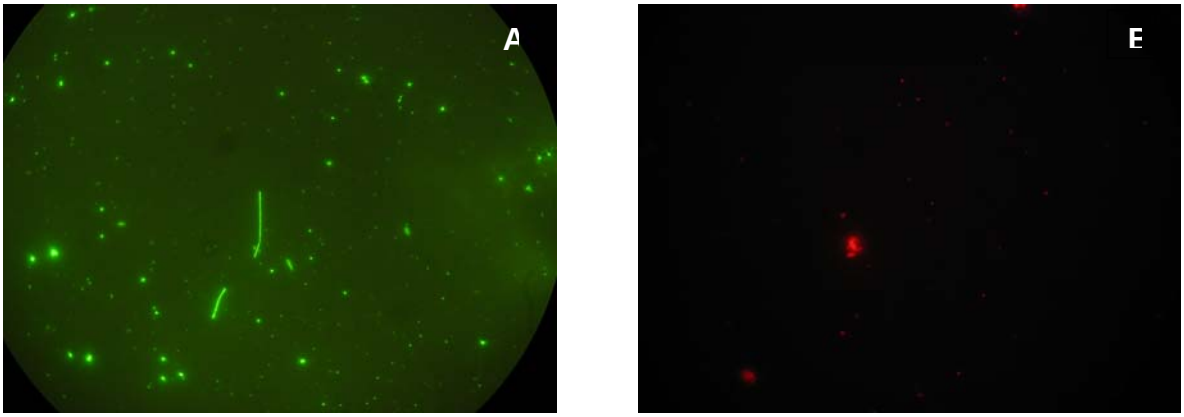



**Figura 10. Comparación en la cantidad de bacterias totales y bacterias muertas en muestra de la bahía.** Muestras de agua de la bahía fueron teñidas con Sybr Green I (protocolo 4.3.2.3) , Ioduro de Propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes corresponden a muestras cuantificadas del total de bacterias (vivas y muertas) (A), y bacterias muertas (B). Aumento 1000 x.

En la figura 10, se muestran imágenes de la cantidad de bacterias totales y muertas, presentes en muestra de la bahía de Valparaíso.

### 5.3.1.2 Tanque de lastre (muestra control)

La muestra control, obtenida en el tanque de lastre, en comparación al agua de la bahía, presenta una mayor concentración de bacterias muertas que vivas. La concentración de bacterias vivas es de 5,86 $x10^6$ bacterias· $ml^{-1}$ . ,y la concentración de bacterias muertas es de 3,0$x10^6$ bacterias· $ml^{-1}$

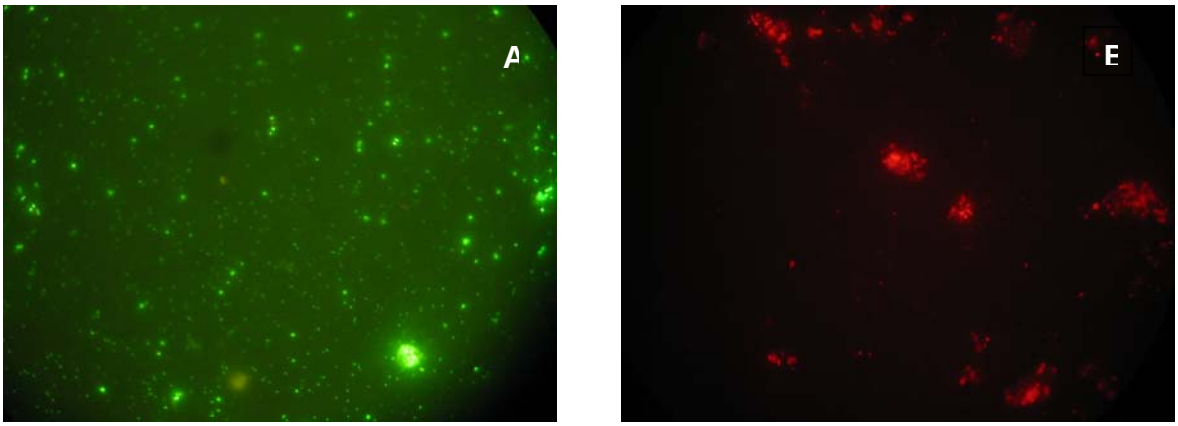



**Figura 11. Comparación en la cantidad de bacterias totales y bacterias muertas en muestra de tanque de lastre.** Muestras del tanque de lastre fueron teñidas con Sybr Green I (protocolo 4.3.2.3), Ioduro de Propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran la comparación entre el total bacterias (vivas y muertas) (A), y bacterias muertas (B). Aumento 1000 x.

En la figura 11 se observa la cantidad de bacterias totales y bacterias muertas presentes en muestra de tanque de lastre.

### 5.3.1.3 Agua de lastre prefiltrada

El agua de lastre prefiltrada por un filtro de 200 µm, presenta aglomeraciones bacterianas (Ver figura 12). La concentración de bacterias vivas es de $6{,}50 \times 10^5$ bacterias · $ml^{-1}$ y la concentración de bacterias muertas es de $5{,}60 \times 10^6$ bacterias · $ml^{-1}$ .

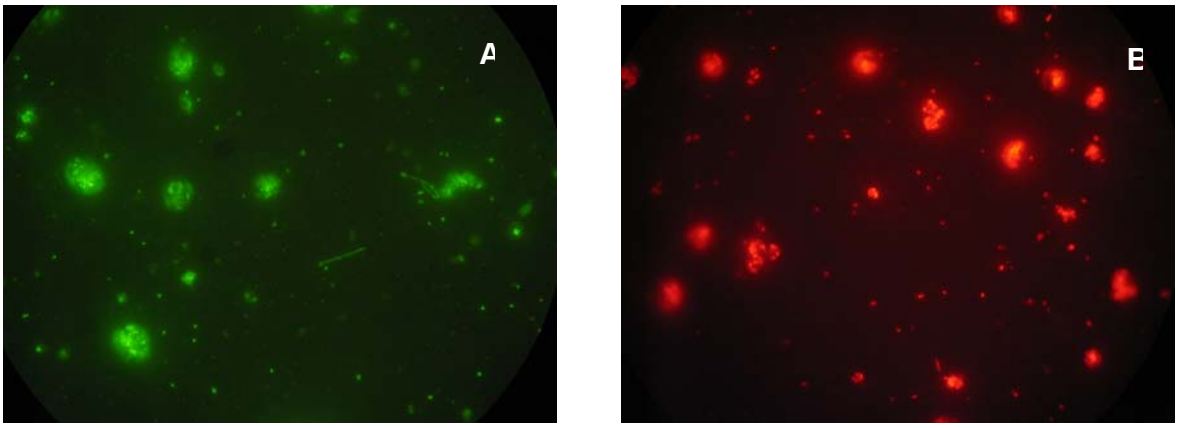



**Figura 12. Comparación en la cantidad de bacterias totales y bacterias muertas en el agua de lastre prefiltrada.** Muestras de agua de lastre prefiltrada fueron teñidas con Sybr Green I (A) (protocolo 4.3.2.3), Ioduro de propidio (B) (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las fotografías muestran las aglomeraciones bacterianas y la diferencia en la cantidad de bacterias muertas (B) en relación a las bacterias totales (A). Aumento 1000 x.

En la figura 12 se aprecian las aglomeraciones de bacterias totales y muertas, presentes en muestra de agua de lastre después de la filtración.

Para visualizar claramente las diferencias en las concentraciones de bacterias presentes en las muestras, se graficó la concentración de bacterias vivas y muertas en cada una de las muestras.

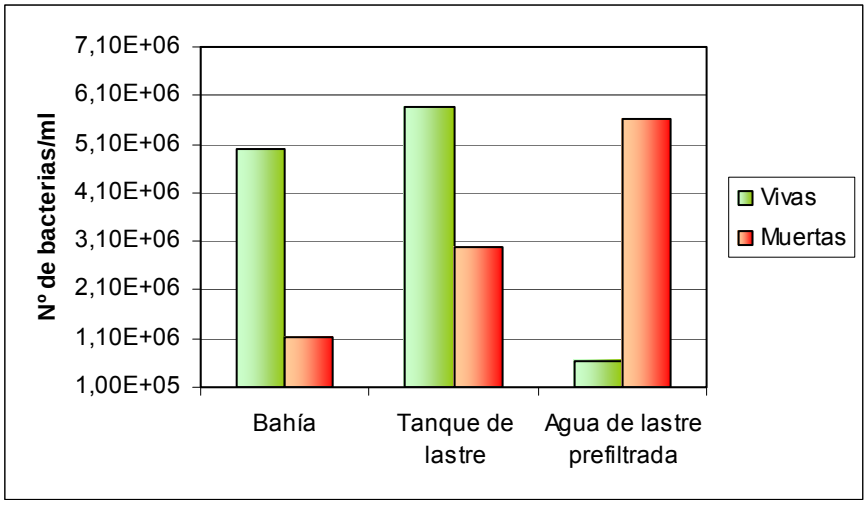



**Figura 13. Concentración de bacterias vivas y muertas en las muestras de bahía de Valparaíso, tanque de lastre y agua de lastre prefiltrada.**

La figura 13 muestra, la diferencia que existe en las concentraciones de bacterias vivas y muertas entre las muestras. En la bahía se destaca claramente la gran cantidad de bacterias vivas y la poca cantidad de bacterias muertas. El tanque de lastre posee cantidades más homogéneas de bacterias vivas y muertas (en comparación a las otras 2 muestras). La mayor diferencia en la cantidad de bacterias vivas y muertas se encuentra en la muestra de agua de lastre prefiltrada, ya que la gran mayoría de las bacterias mueren al pasar por el filtro.

Además de la marcada diferencia en la cantidad de bacterias, entre las muestras, se aprecian 2 tipos de formas bacterianas, claramente distinguibles, bacterias con forma de cocos y bacilos. En la figura 14 y figura 15 se observan los morfotipos bacterianos de bacilos y cocos, respectivamente.

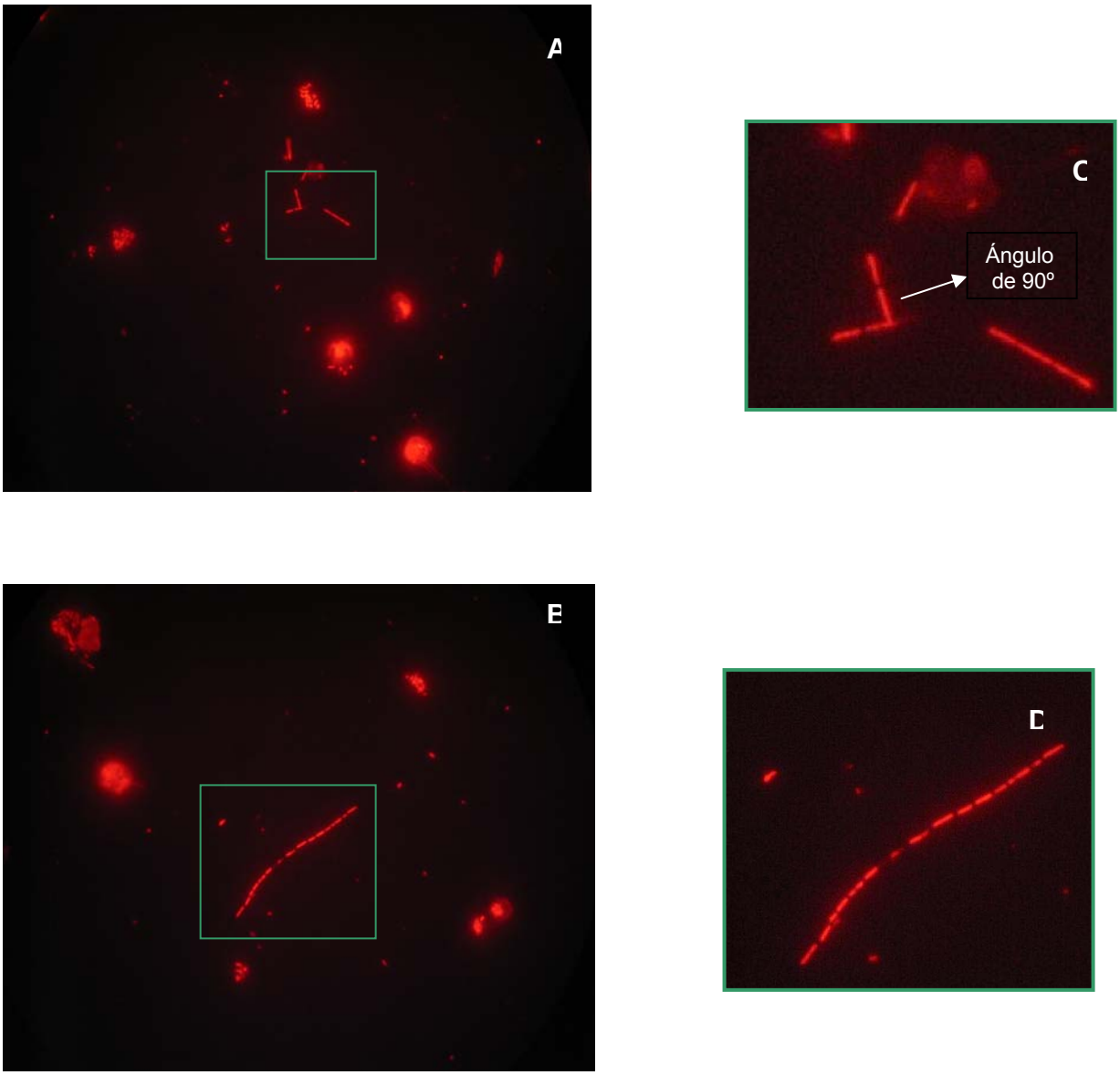



**Figura 14. Bacterias con forma de bacilos en muestra de agua de lastre**. Muestras de agua de lastre fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4), y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran bacterias en forma de bacilos presentes en la muestra de agua de lastre del buque PACSA II. Se observan bacterias bacilares formando un ángulo de 90º (A), y estreptobacilos (B). Las imágenes C y D corresponden a campos ópticos ampliados. Aumento 1000 x.

Se identificaron bacterias en forma de bacilos en muestra del tanque de lastre y de la bahía. Alcanzando diámetros mayores a 0,5 µm y tamaños de entre 1,2 a 1,5 µm de largo. En la mayoría de las muestras los bacilos se encuentran formando largas cadenas (estreptobacilos), en algunas ocasiones hasta de 30 células.

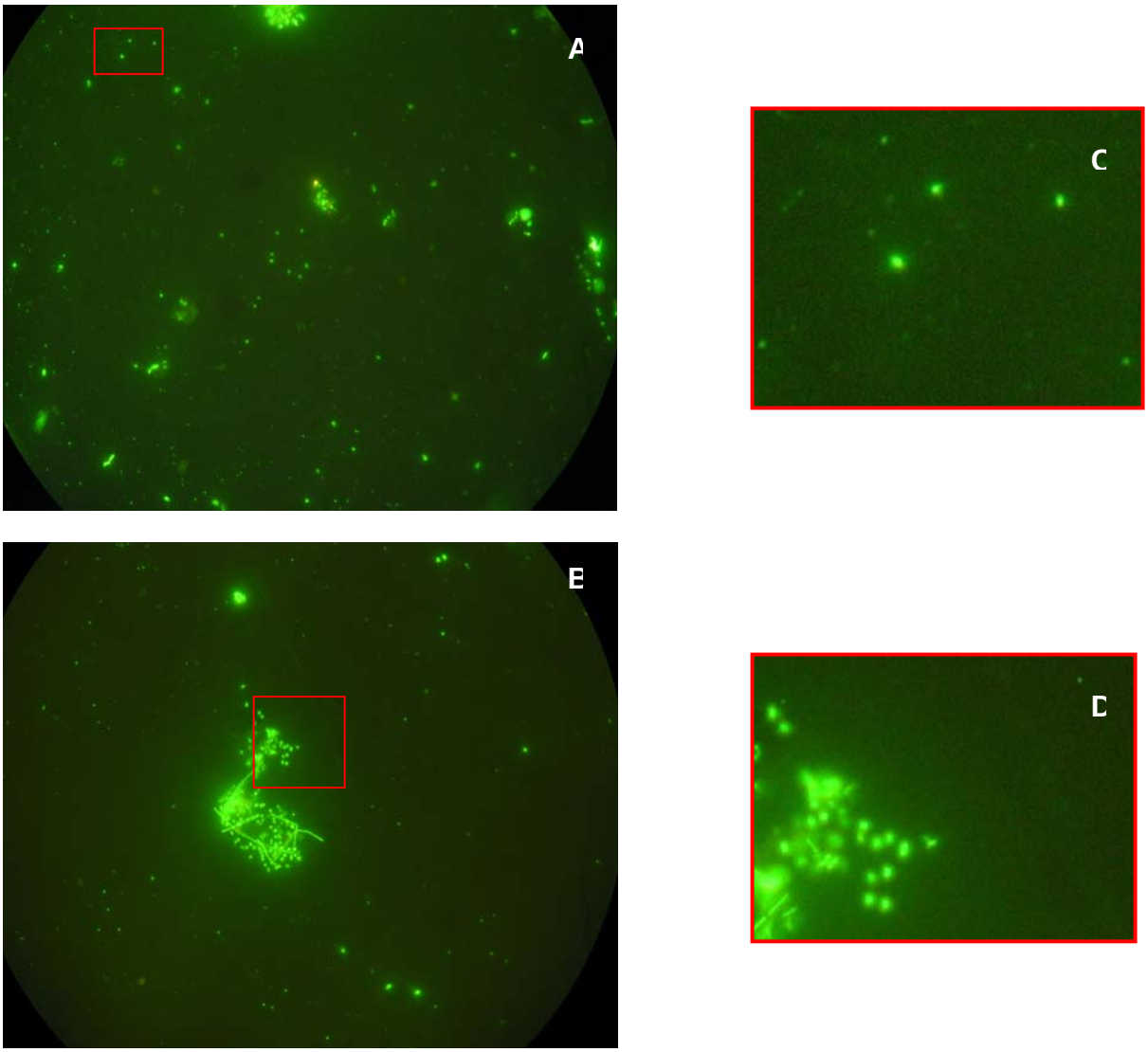



**Figura 15. Bacterias con forma de cocos en muestras de agua de lastre y de la bahía.** Muestras de agua de lastre y de la bahía fueron teñidas con Sybr Green I (protocolo 4.3.2.3), y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes corresponden a bacterias con forma de cocos presentes en muestras de agua de lastre y de la bahía, A y B, respectivamente Las imágenes C y D corresponden a campos ópticos ampliados. Aumento 1000 x.

En las bacterias cocoides se observaron diámetros superiores a 0,5 µm.

En general, en las muestras del agua de lastre y de la bahía, se identificaron bacterias con forma de bacilos, en menor cantidad largas cadenas de bacilos (estreptobacilos ) y bacterias con forma de cocos. En la mayoría de las muestras las formas de cocos y bacilos se encontraban en proporciones similares.

### 5.3.2 Tratamiento de calor

#### 5.3.2.1 Temperatura de 25º C

El agua de lastre prefiltrada expuesta a 25º C, (promediando los tiempos de exposición), posee una concentración de $3{,}1x10^6$ bacterias muertas·$ml^{-1}$, en comparación a la muestra control (agua de lastre sin prefiltrar), $3{,}0x10^6$ bacterias muertas·$ml^{-1}$. (Ver figura 23-A)

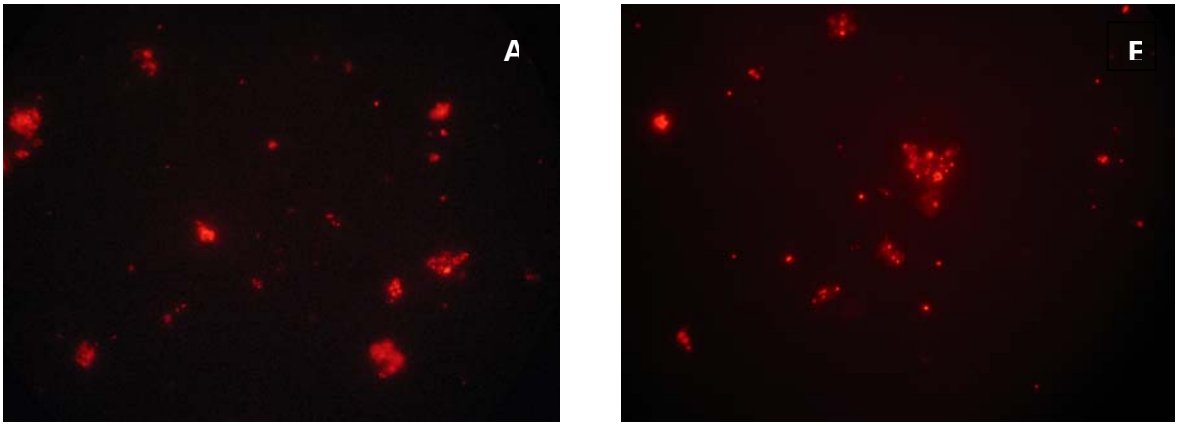



**Figura 16. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 25ºC por 5 minutos, y muestra control.** Muestras fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4), y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran la diferencia en el número de bacterias muertas ·$ml^{-1}$, entre muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a 25ºC durante 5 minutos (A), y muestra control (B). Aumento 1000 x.

Como se aprecia en la figura 16 y figura 23-A, la diferencia en la cantidad de bacterias muertas entre la muestra de agua de lastre expuesta a 25ºC y la muestra control, es casi despreciable, 100 mil bacterias muertas ·$ml^{-1}$ , considerando la gran cantidad de bacterias presentes.

El análisis de varianza multivariado (MANOVA), con un intervalo de confianza de 95%, reveló que no existen diferencias significativas en el número de bacterias muertas, entre las muestras expuestas a 25ºC y la muestra control (F=0,75 ; P=0,395).(Ver figura 27)

### 5.3.2.2 Temperatura de 35º C

El mayor número de bacterias muertas en el agua de lastre prefiltrada expuesta a 35ºC de temperatura, fue a los 5 minutos de exposición, duplicando la cantidad de bacterias muertas de la muestra control. (Ver figura 23-B)

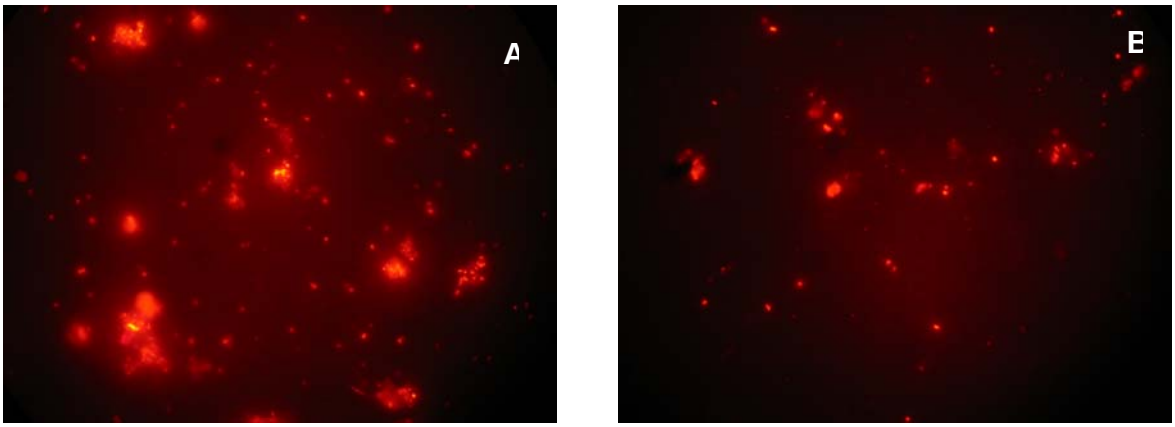



**Figura 17. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 35ºC por 5 minutos, y muestra control.** Muestras fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran la diferencia en el número de bacterias muertas, entre muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a 35ºC durante 5 minutos (A), y muestra control (B). Aumento 1000 x.

En la figura superior, se aprecia la diferencia que existe en la cantidad de bacterias muertas, entre la muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a 35ºC por 5 minutos y la muestra del tanque de lastre sin tratamiento (muestra control), con concentraciones de, $6{,}15 \times 10^6$ bacterias $\cdot ml^{-1}$ y $3{,}0 \times 10^6$ bacterias $\cdot ml^{-1}$, respectivamente.

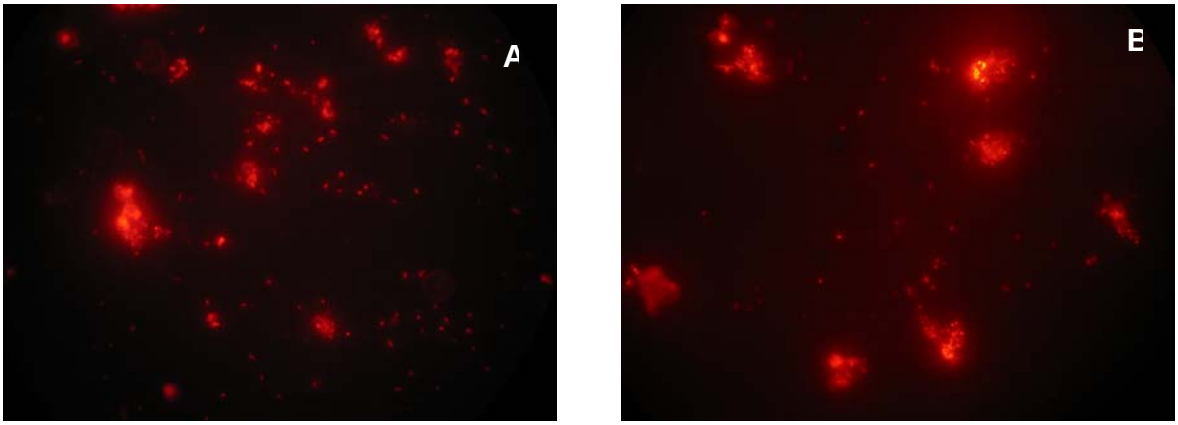



**Figura 18. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, posterior a la aplicación de 35ºC de temperatura.** Muestras de agua de lastre prefiltrada fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran el agua de lastre expuesta a 35ºC, por 1minuto (A) y 10 minutos (B). Aumento 1000 x.

Como se aprecia en la figura 18, las bacterias expuestas a 35ºC por 1 y 10 minutos, formaron aglomeraciones, para 1 minuto de exposición eran más pequeñas y menos abundantes, que a los 10 minutos.

El análisis de varianza multivariado (MANOVA), con un intervalo de confianza de 95%, reveló que no existen diferencias significativas en el número de bacterias muertas, entre las muestras expuestas a 35ºC y la muestra control (F=0,18 ; P=0,674).(Ver figura 27)

### 5.3.2.3 Temperatura de 45º C

El agua de lastre expuesta a una temperatura de 45ºC, por diferentes períodos de tiempo, presenta una considerable diferencia en el número de bacterias muertas, en comparación con la muestra control. La mayor cantidad de bacterias muertas, se obtuvo a los 30 segundos de exposición, $11{,}1 \times 10^{6}$ bacterias $\cdot ml^{-1}$. (Ver figura 23-C)

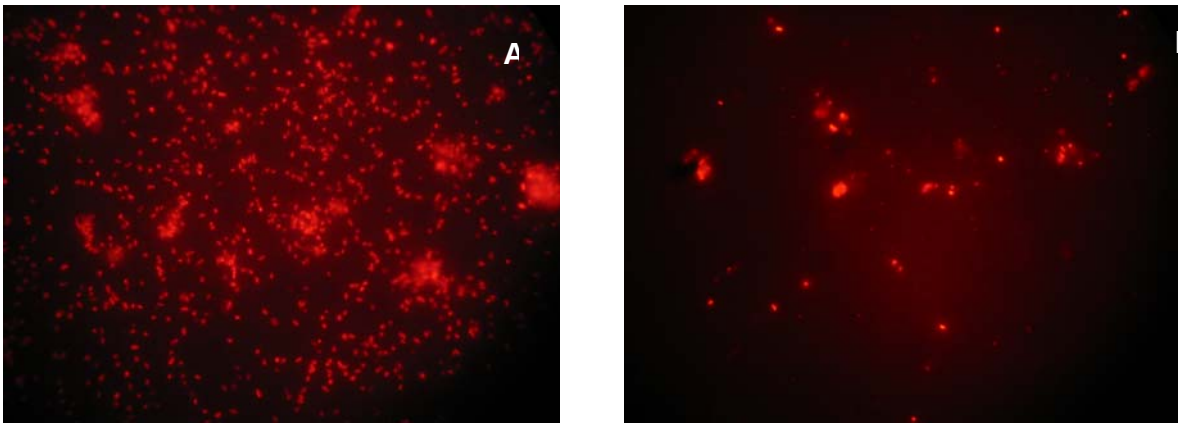



**Figura 19. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 45ºC por 30 segundos, y muestra control.** Muestras fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. En las imágenes se distingue la diferencia en el número de bacterias muertas , entre muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a 45ºC por 30 segundos (A), y muestra control (B). Aumento 1000 x.

En la figura anterior, se aprecia la marcada diferencia en la cantidad de bacterias muertas $\cdot ml^{-1}$ , con respecto a la muestra control.

Entre los tiempos de exposición de 1 y 10 minutos, existe una cantidad similar de bacterias muertas $\cdot ml^{-1}$. (Ver figura 23-C)

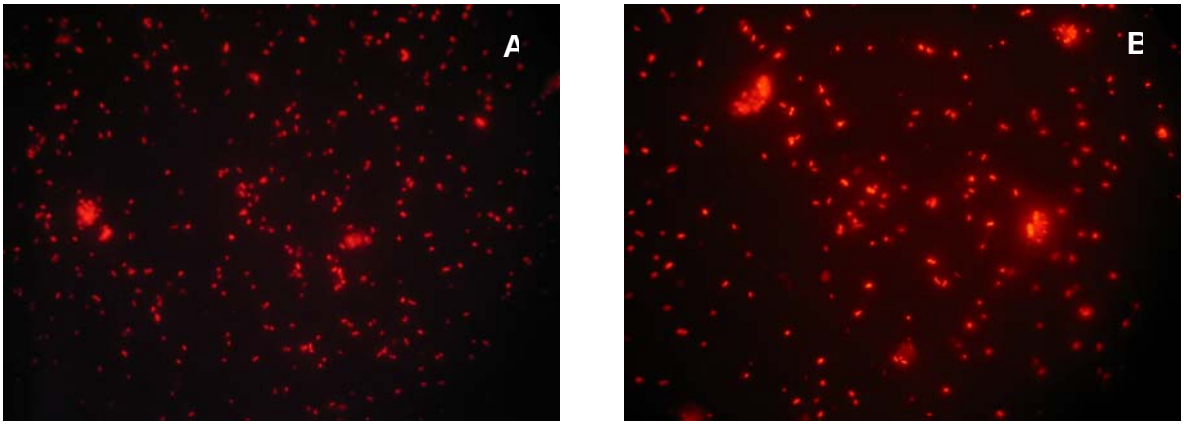



**Figura 20. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, posterior a la aplicación de 45ºC de temperatura.** Muestras de agua de lastre prefiltrada fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran el agua de lastre expuesta a 45ºC, por 1(A) y 10 minutos (B). Aumento 1000 x.

El número de bacterias muertas a 1 minuto de exposición por 45ºC, es de 9,1 x$10^6$ bacterias ·$ml^-$1, y a 10 minutos de exposición, 9,2 x$10^6$ bacterias ·$ml^{-1}$

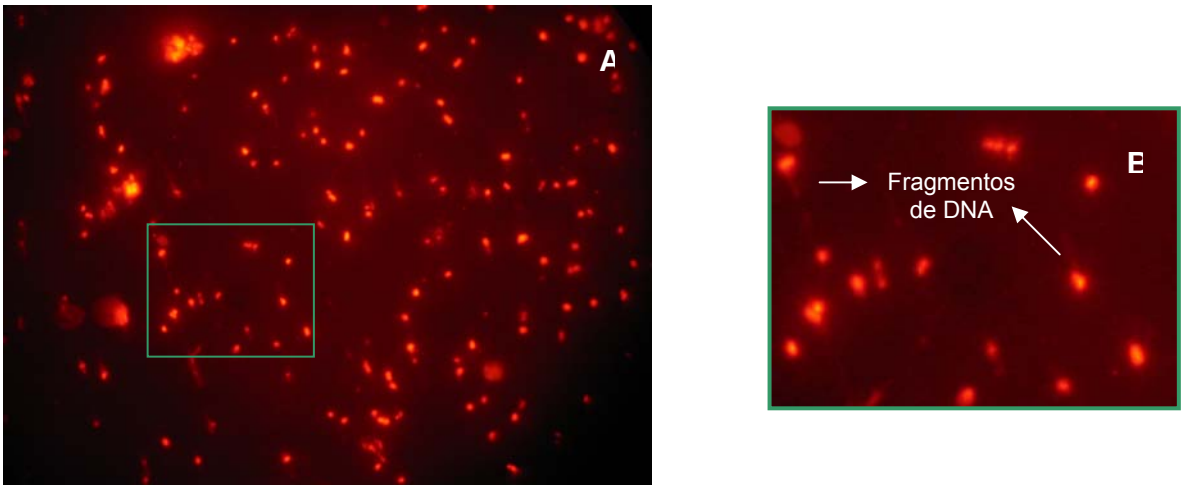



**Figura 21. Fragmentos de DNA de bacterias en muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a 45ºC durante 5 minutos.** Muestras de agua de lastre prefiltrada fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. La figura muestra fragmentos de DNA bacteriano. La imagen B corresponde a campo óptico ampliado. Aumento 1000 x.

En la figura 21, se observan filamentos de DNA bacteriano, después de la aplicación de 45ºC, por un tiempo de exposición de 5 minutos. La presencia de los fragmentos de DNA, se debe a la destrucción de las membranas de las bacterias, al alcanzar esta temperatura.

El análisis de varianza multivariado (MANOVA), con un intervalo de confianza de 95%, reveló que existen diferencias significativas en el número de bacterias muertas, entre las muestras expuestas a 45ºC y la muestra control (F=117,38 ; P=0,00001).(Ver figura 27)

### 5.3.2.4 Temperatura de 55º C

El agua de lastre prefiltrada expuesta a 55ºC por 10 minutos, presenta la mayor cantidad de bacterias muertas ( 5,8 x$10^6$ bacterias ·$ml^{-1}$ ). (Ver figura 23-D)

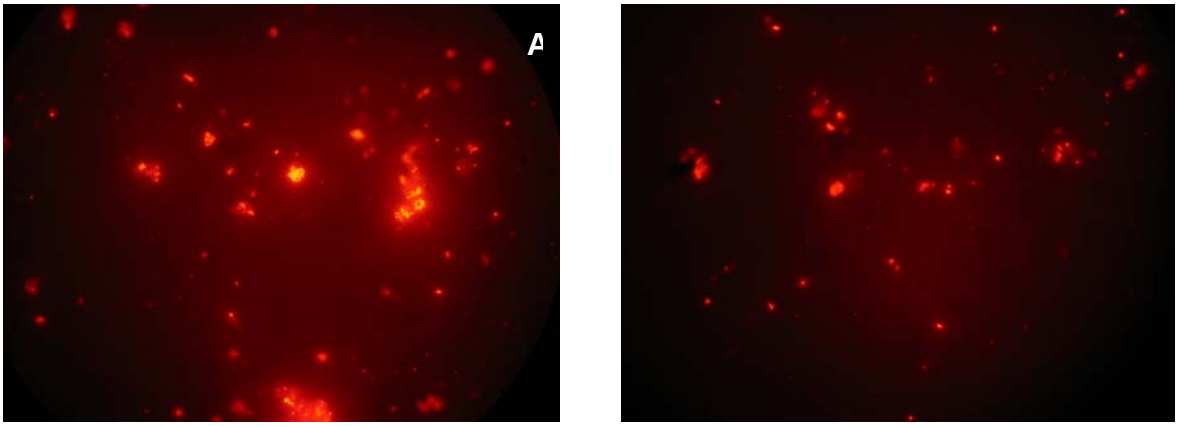


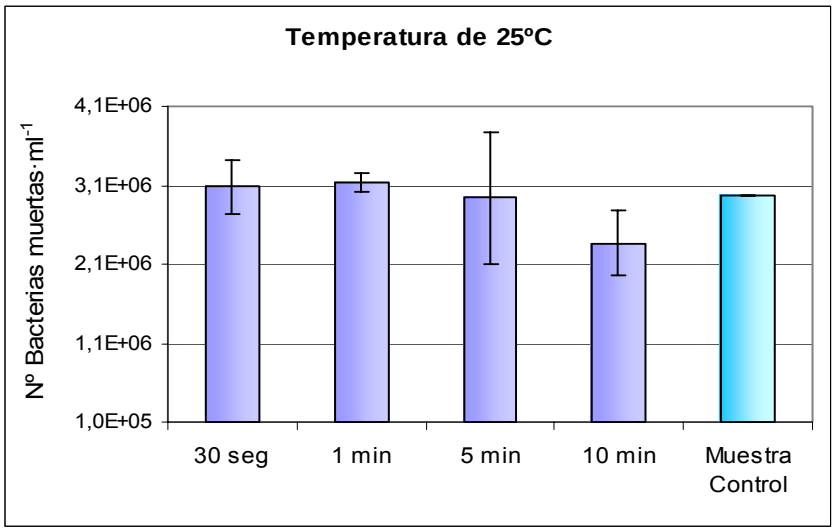

**Figura 22. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, expuesta a 55ºC por 10 minutos, y muestra control.** Muestras fueron teñidas con Ioduro de propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran al agua de lastre expuesta a 55ºC, por 10 minutos (A) y muestra control (B). Aumento 1000 x.

En la figura 22, se aprecia la diferencia en la cantidad de bacterias muertas entre el agua de lastre prefiltrada expuesta a 55º C durante 10 minutos, y la muestra control. También se distinguen aglomeraciones bacterianas, después de 10 minutos de exposición a 35 ºC.

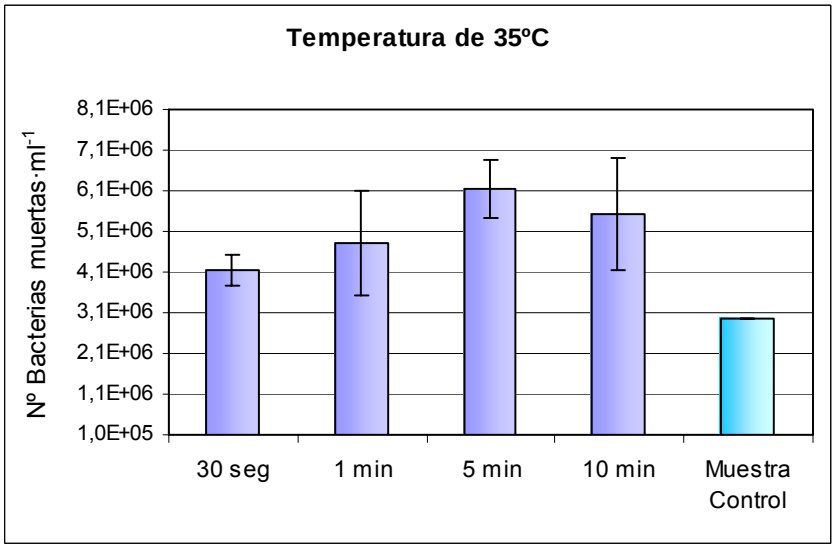
La cantidad de bacterias muertas·$ml^{-1}$, a los restantes tiempos de exposición son: 4,1 x$10^6$ bacterias a los 30 segundos, 3,6 x$10^6$ bacterias a 1 minuto y 4,4 x$10^6$ bacterias a 5 minutos de exposición. (Ver figura 23-D)

El análisis de varianza multivariado (MANOVA), con un intervalo de confianza de 95%, reveló que existen diferencias significativas en el número de bacterias muertas, entre las muestras expuestas a 55ºC y la muestra control (F=15,94 ; P=0,00061).(Ver figura 27)

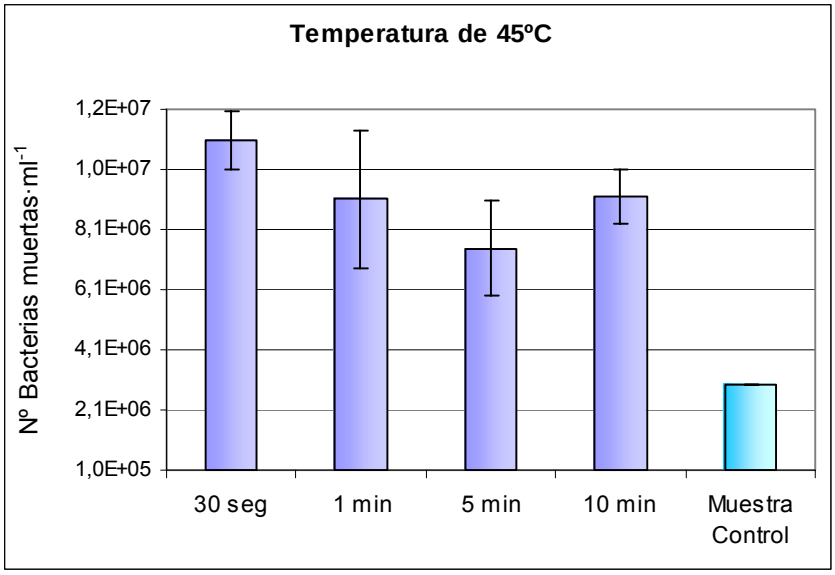
En la siguiente figura se muestran los gráficos de las concentraciones de bacterias expuestas distintas temperaturas y tiempos de exposición.




A




B



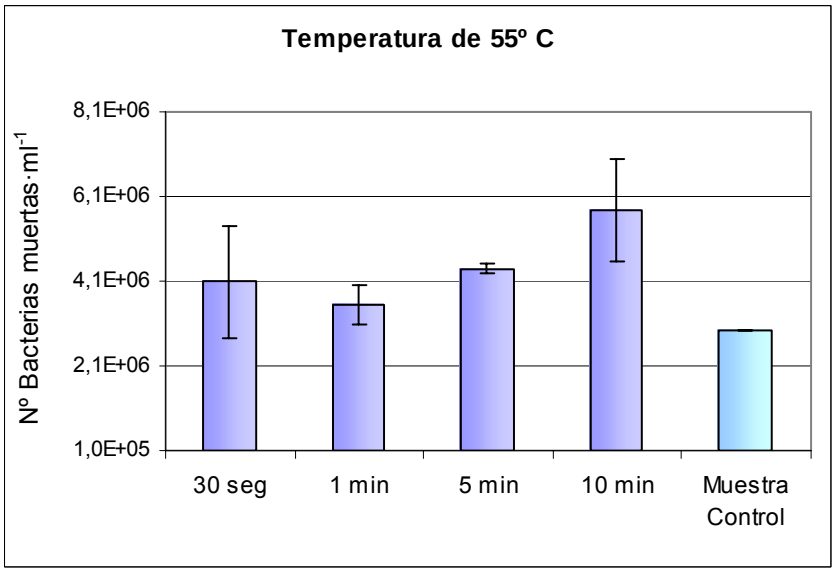




**Figura 23. Concentración de bacterias expuestas a distintas temperaturas y tiempos de exposición.** Se presentan las concentraciones de bacterias muertas $\cdot ml^{-1}$ en la muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a temperaturas de 25º, 35º, 45º y 55ºC (A, B, C, y D, respectivamente) por determinados períodos de tiempo, con sus respectivas desviaciones estándar, y la concentración de bacterias muertas $\cdot ml^{-1}$ en el agua de lastre del tanque, sin prefiltrar, (muestra control).

### 5.3.3 Tratamiento de radiación UV

La aplicación de radiación ultravioleta al agua de lastre, se realizó utilizando tiempos de exposición de 30 segundos, 1,5 y 10 minutos. (Ver figura 26)

Las muestras de agua de lastre expuestas a radiación ultravioleta durante 1 minuto, presentan un mayor número de bacterias muertas**,** $6{,}5 \times 10^{6}$ bacterias · $ml^{-1}$ , en comparación a la muestra control, $3{,}0 \times 10^{6}$ bacterias muertas · $ml^{-1}$ .

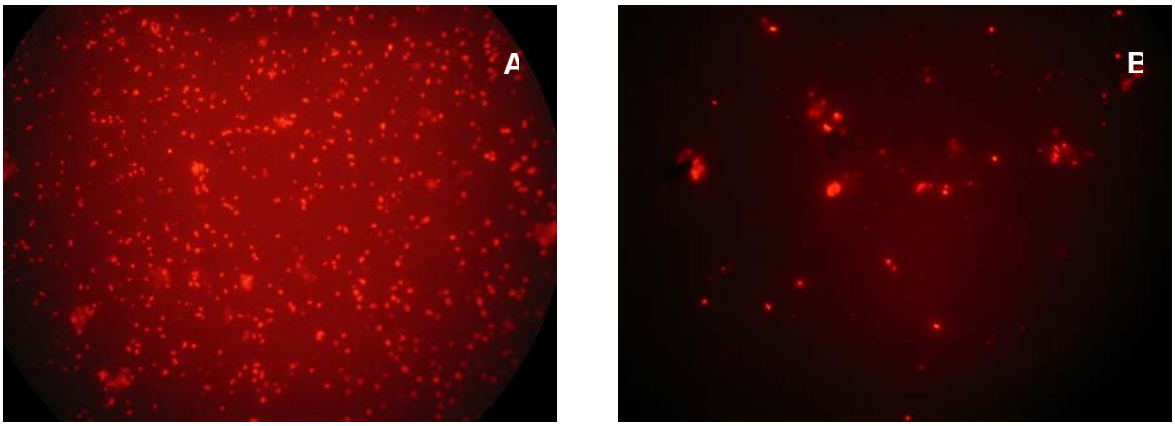



**Figura 24. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada expuesta a radiación UV y muestra control.** Muestras fueron teñidas con Ioduro de Propidio (protocolo 4.3.2.4.) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran la cantidad de bacterias muertas a 1 minuto de exposición a la radiación UV (A), y muestra control (B). Aumento 1000 x.

En la figura 24, se aprecia la marcada diferencia en la cantidad de bacterias muertas entre el agua de lastre prefiltrada expuesta durante 1 minuto a radiación ultravioleta, y la muestra de agua de lastre sin tratar (muestra control).

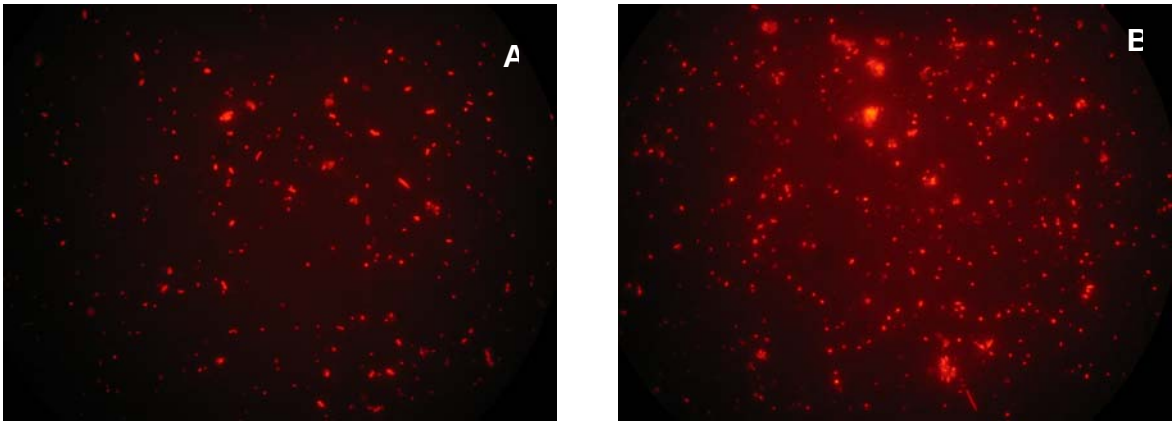



**Figura 25. Comparación en la cantidad de bacterias muertas en muestra de agua de lastre prefiltrada, posterior a la aplicación de radiación UV.** Muestras fueron teñidas con loduro de propidio (protocolo 4.3.2.4) y observadas en microscopio de epifluorescencia. Las imágenes muestran el agua de lastre expuesta a radiación ultravioleta durante 5 minutos (A) y 10 minutos (B). Aumento 1000 x.

En la figura 25, se observa la cantidad de bacterias muertas, entre muestras de agua de lastre expuestas durante 5 y 10 minutos a radiación ultravioleta. A los 10 minutos de exposición, el número de bacterias muertas fue de 5,3 x$10^6$ bacterias · $ml^{-1}$ , y a los 5 minutos de exposición, 4,8 x$10^6$ bacterias · $ml^{-1}$ .

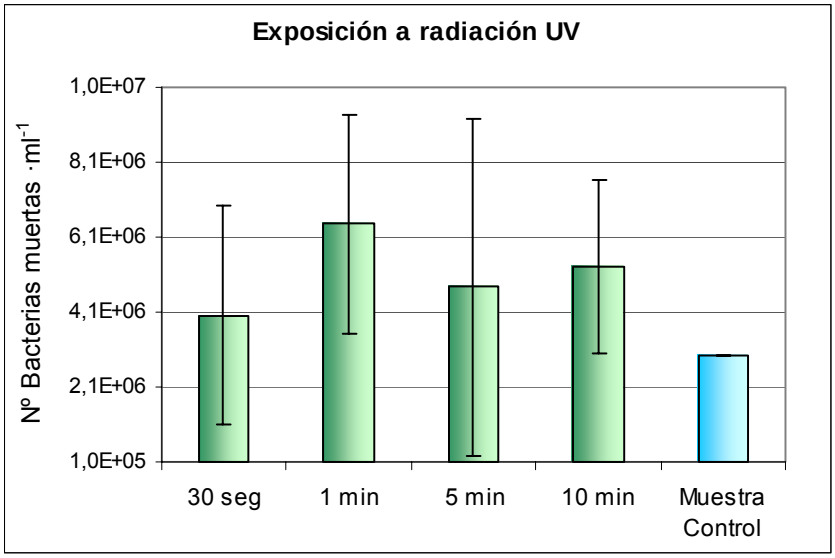



**Figura 26. Concentración de bacterias muertas en agua de lastre expuesta a radiación UV.** La imagen muestra el promedio (de tres réplicas) de bacterias muertas · $ml^{-1}$, según los tiempos de exposición a la radiación UV, y sus respectivas desviaciones estándar. Los valores son comparados con muestra control.

Como se puede apreciar en la figura 26, existe una marcada diferencia en el número de bacterias muertas entre cada uno de los tiempos de exposición, siendo a 1 minuto de radiación UV, el tiempo de exposición que presenta la mayor mortandad de bacterias.

El análisis de varianza multivariado (MANOVA), con un intervalo de confianza de 95%, reveló que existen diferencias significativas en el número de bacterias muertas, entre las muestras expuestas a radiación UV y la muestra control (F=5,93 ; P=0,023).(Ver figura 27)

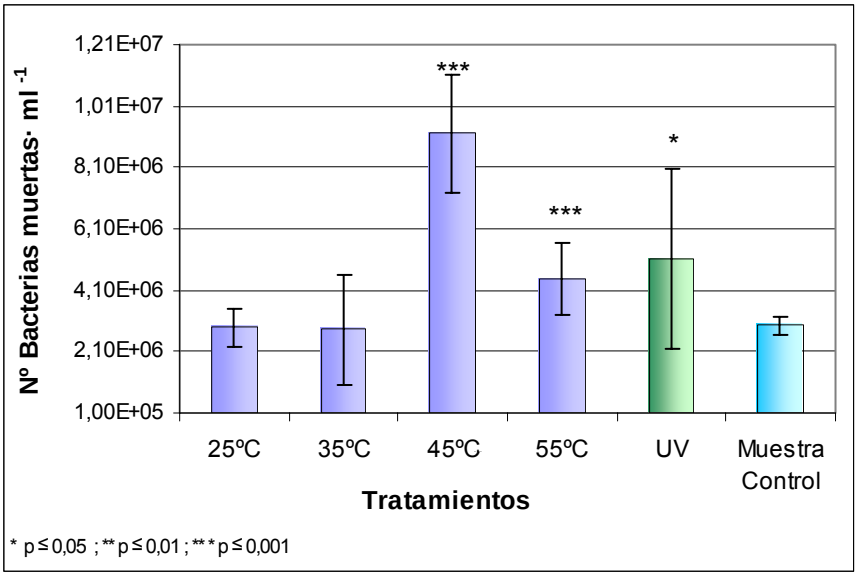



**Figura 27. Concentración de bacterias muertas en muestra de agua de lastre después de la aplicación de tratamientos, en comparación con muestra control**. La imagen muestra las diferentes concentraciones de bacterias muertas en muestra de agua de lastre, con sus respectivas desviaciones estándar, posterior a la aplicación de tratamiento de calor y radiación UV, en comparación a la concentración de bacterias muertas en la muestra control.

En la figura 27, se presenta un esquema general de las concentraciones de bacterias muertas en muestra de agua de lastre después de la aplicación de tratamiento de calor y radiación UV, en comparación a muestra control. A las muestras se les realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA), con un intervalo de confianza de 95%, el cual reveló que las muestras de agua de lastre a las que se le aplicó 25º y 35º C, no poseen diferencias significativas en el número de bacterias muertas, en comparación a la muestra control. En cambio, las muestras expuestas a 45ºC, 55ºC y radiación UV, presentaron diferencias significativas en la cantidad de bacterias muertas, en comparación con la

muestra control, las barras que tienen asteriscos son las que presentan las diferencias significativas.

# 6. DISCUSIÓN

El Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques, en su sección D, regla D-2, exige concentraciones máximas de descarga de organismos, alude a organismos con tamaños entre 10 y 50 µm y mayores a 50 µm, para el primero se exige una concentración de 10 organismos viables/ml y para el segundo 10 organismos viables/$m^3$.

Los tamaños de los organismos se refieren a microalgas, algunos protozoos, en general, a organismos de mayor tamaño, por lo que cual dentro de estos rangos no se consideran las bacterias, ya que los tamaños que alcanzan éstas van desde 0,2 µm hasta aproximadamente 10 µm.

También la regla D-2, es la única sección del Convenio en la que se hace mención a concentraciones de bacterias, específicamente a bacterias indicadoras en la salud de las personas, como son, *Vibrio cholerae, Escherichia coli* y enterococos intestinales. Estas bacterias son mencionadas en el Convenio, a mi juicio, debido a que, son consideradas indicadoras del grado de salubridad, y contaminantes de las aguas, ya que no se encuentran en forma natural en el medio marino, por esto mismo son fáciles de cultivar en laboratorio, cosa que para las bacterias marinas es casi imposible. Según Atlas & Bartha (2002), el 99% de las bacterias marinas no son cultivables. Por esta razón, se hace necesario buscar otros métodos o técnicas con los cuales se pueda cuantificar los microorganismos en muestras de agua. Una de éstas técnicas es la microscopia de fluorescencia, la cual se basa en la utilización de reactivos fluorescentes, los cuales se introducen en el DNA de los microorganismos. Estos reactivos son capaces de diferenciar las células metabólicamente activas y las muertas.

Como lo indica Soto, *et al.* (2005), la microscopía de epifluorescencia, permite realizar análisis cuantitativos y cualitativos en forma rápida en muestras de agua de lastre. No es un método masivo aún, porque es relativamente nuevo, que ha experimentado avances con el advenimiento de nuevos fluoróforos.

Sería una excelente opción para cuantificar la concentración de bacterias en muestras de agua, para el caso particular de este trabajo, aplicado al agua de lastre. Sobre todo, porque el Convenio exigirá que se conozca en plenitud el contenido biológico del agua en el tanque de lastre, tales como virus, bacterias, etc.

Como una forma de comparar las exigencia que tiene el Convenio con la normativa vigente en Chile, con respecto a las descargas de concentraciones de la bacteria *Escherichia coli*: (*Vibrio cholerae* no se compara porque en Chile no existe normativa que regule las concentraciones de esta bacteria), se comparó el DS Nº 90, normativa que regula la emisión de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales, el cual señala que el límite máximo permitido de coliformes fecales ( *Escherichia coli*: ) en cuerpos de agua marinos dentro de la zona de protección litoral es de 1000 NMP/100ml (o 1000 células/100 ml),y el Convenio exige una concentración menor a 250 ufc/100ml. Ambas concentraciones, en las unidades que están no son comparables ya que la primera es un cultivo en medio líquido que se mide en células, y la segunda en medio sólido que se mide en células vivas capaces de formar colonia, pero suponiendo las ufc como células, la concentración que exige la normativa chilena estaría muy por encima de lo indicado en el Convenio (está casi a una concentración de 750 células/ml sobre lo que exige el Convenio).

El Convenio, también señala que el intercambio de agua de lastre se tiene que realizar, como rango mínimo de distancia, a 50 millas marinas de la tierra más próxima (esto en caso que el buque no pueda hacerlo a las 200 millas, como primera opción), en cambio, la Directiva chilena A-51/002 indica que el intercambio de agua de lastre se tiene que realizar a más de 12 millas marinas.

Las diferencias en las exigencias, entre el Convenio y las normativas nacionales hacen pensar que Chile, con las condiciones actuales de regulación, no estaría preparado para una implementación inmediata del Convenio. Para esto tendría que modificar sus regulaciones, lo que es una tarea compleja, que tiene que ser realizada en forma gradualista y realista.

Existen muchos tratamientos para eliminar organismos presentes en el agua de lastre, cada uno de los cuales poseen ventajas, desventajas y diferentes costos. Dentro de las

ventajas y desventajas, se consideró el nivel de toxicidad, corrosión y seguridad para la tripulación y la embarcación, ya que son factores preponderantes al momento de seleccionar el método adecuado.

De los tratamientos recopilados en el presente trabajo, existen algunos que considerando las características mencionadas en el párrafo anterior, no serían adecuados para tratar grandes cantidades de agua de lastre en los buques, según Oemcke (1999) estos son el Iodo, glutaraldehído, iones metálicos, radiación de ionización, fotoquímica, variaciones de pH. Pero de todas formas fueron considerados en el análisis, debido a que se pretendió describir la mayor cantidad de tratamientos descritos en la literatura.

Al observar las muestras a través del microscopio de epifluorescencia, se distinguían claramente las bacterias, y no así los virus, debido a que se utilizó un filtro de tamaño de poro de 0,2 µm, el cual deja pasar los virus y retiene las bacterias. Por este motivo, se realizó un conteo manual de las bacterias presentes en las muestras de agua.

El agua del tanque de lastre tiene una mayor concentración de bacterias vivas y muertas, en comparación al agua de la bahía. La gran cantidad de bacterias muertas en el tanque se podría deber a una mortalidad asociada al proceso de succión del agua de la bahía al buque. El aumento en el número de bacterias vivas presentes en el tanque se explicaría por la proliferación de bacterias debido a las condiciones ambientales favorables del tanque (oscuridad y confinamiento).

Después de prefiltrar el agua del tanque de lastre, se observó un aumento en el número de bacterias muertas, las cuales formaban aglomeraciones, lo que podría ser causado por el rompimiento de las membranas celulares de las bacterias, que al pasar a través del filtro se destruyen.

El principio que llevó a la elección de las temperaturas y los tiempos de exposición, fue su real aplicación en un buque. Se trabajó con temperaturas entre los 25º y 55ºC, con intervalos de 10º, ya que éstas, representan rangos diferenciados de temperatura (temperaturas altas y bajas). En proyecto MARTOB (2003), se experimentó con temperaturas de 35º a 65º C y tiempos de exposición cortos, segundos (al igual que otros estudios, como Bolch & Hallegraeff, 1993) y se concluyó que la temperatura de 55ºC

eliminaba una mayor cantidad de fitoplancton y zooplancton, por este motivo en este trabajo se eligió ésta como la temperatura máxima de experimentación, ya que temperaturas mayores y largos tiempos de exposición, como horas y días, serían poco aplicables en la realidad, primero porque sería muy difícil alcanzarlas, y segundo, podrían causar daños en la estructura y funcionamiento del buque.

Las bacterias presentes en muestras de agua de lastre expuestas a todas las temperaturas y durante los tiempos de exposición más largos (5 y 10 minutos), presentaron una desintegración de su DNA, lo que sería causado por la destrucción de sus membranas al estar expuestas a calor por períodos de tiempo prolongados (Ver figura 21).

Al exponer el agua de lastre a 45 y 55 º C por 5 y 10 minutos, se formaron partículas de color café, lo que podría ser causado por una precipitación de partículas de óxido, ya que el tanque de lastre del cual provenían las muestras presentaba un avanzado estado de corrosión.

A pesar que a simple vista se observan diferencias en el número de bacterias muertas a los 25º y 35º C entre los distintos tiempos de exposición en comparación a muestra control (leve diferencia a los 25º y marcada diferencia a los 35º) (Ver figura 23-A y 23-B), estadísticamente no hay diferencias significativas entre el número de bacterias muertas y la muestra control, es decir, es indiferente exponer el agua de lastre a 30 segundos, 1 ,5 y 10 minutos a estas temperaturas.

Al observar la figura 22-C, pareciera que la temperatura de 45ºC fuera la más efectiva para eliminar bacterias. Pero observando en forma detallada, se desprende que el número de bacterias muertas a los 45ºC (casi todas sobre los 8 $x10^6$ bacterias muertas muertas/$ml^{-1}$, incluso el valor máximo de bacterias muertas alcanza los $1,1x10^7$ bacterias ), es mayor que el número de bacterias totales en la muestra control ($5,86x10^6$ bacterias), lo que podría ser debido a que ésta temperatura provocaría una multiplicación celular al comienzo de la exposición al calor, cuando se produce el shock (los primeros segundos). Esto concuerda con lo señalado por Dobbs (2001), el cual indica que el calor podría causar una multiplicación de los microorganismos.

La suposición de que las bacterias se hayan multiplicado en el momento del muestreo o en el transcurso de tiempo en que se realizaron los ensayos, queda descartada, ya que las muestras siempre se mantuvieron a 4ºC (temperatura a la cual no existiría actividad metabólica) y en oscuridad.

En un comienzo, se pensaba trabajar con dosis de radiación UV, ya que la mayoría de las investigaciones realizadas en este tipo de tratamiento, medían la radiación de esta forma. Pero debido a la inexistencia en la región, de un espectrofotómetro que midiera radiación ultravioleta en la longitud de onda UVC (200-280 nm), se optó por trabajar en función de tiempos de exposición, área de incidencia de la radiación y una distancia determinada de la lámpara de radiación UVC.

Las réplicas de la muestra de agua de lastre que se expusieron durante 5 minutos a la radiación UV, presentaron una dispersión de los datos del número de bacterias muertas, por esta razón se observa una desviación estándar mayor que las otras réplicas.

La medición de las concentraciones de bacterias en el medio marino, es de suma importancia, ya que son indicadoras del estado ambiental de éste. La presencia de bacterias va en directa relación con la cantidad de virus y microalgas. Juntos forman una compleja e importante red de interacción, en la cual leves variaciones en el medio ambiente pueden provocar un desequilibrio en sus concentraciones.

Sería muy interesante continuar la experimentación con una combinación de los tratamientos utilizados en este trabajo (filtración, calor y UV, o filtración, UV y calor), ya que según lo señalado por Globallast no existe un único método de tratamiento de agua de lastre, si no que serían efectivas una combinación de métodos.

El presente trabajo de titulación, pretende ser el inicio de futuros estudios e investigaciones realizadas a mayor escala, es decir, en un mayor número de tanques, pertenecientes a buques de distintos tipos y procedencias. Para evaluar la efectividad de tratamientos en el agua de lastre, integrando también a otros tipos de microorganismos, como son, virus y microalgas.

# 7. CONCLUSIONES

- Las exigencias que impone el Convenio Internacional para el Control y la Gestión del Agua de Lastre y los Sedimentos de los Buques, distan de las regulaciones que se aplican actualmente en Chile.

- Existen muchos sistemas de tratamientos. Pero considerando las ventajas, desventajas y costos, el tratamiento de filtración, calor y radiación UV son los más adecuados para tratar el agua de lastre.

- El proceso de succión de agua desde la bahía a los tanques de lastre del buque, produce una mortalidad en las bacterias.

- Temperaturas de 25º y 35ºC no provocan la mortalidad de las bacterias presentes en el agua de lastre.

- La temperatura en la que se obtuvo un mayor número de bacterias muertas fue a los 45ºC, pero con una multiplicación de éstas.

- La radiación UV a 1 minuto de exposición eliminó un mayor número de bacterias, que los otros tiempos de exposición utilizados.

- Los tratamientos que eliminan un mayor número de bacterias son el tratamiento de calor a los 45ºC de temperatura y la radiación UV.

# 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 8.1 Referencias Citadas


ALEGRIA, A., ARROYO, P., BERASALUCE, J. 1998. Desarrollo metodológico para el análisis del agua de lastre y generación de la norma de control. Diplomado en Gestión Ambiental y Manejo Ambiental de Recursos. Universidad Católica del Norte. 23p

AWAD, A. 2004. Gispnews. < www.gisp.org > (Consulta: 18 noviembre 2005).

AWAD, A. 2005. Gispnews. < www.gisp.org > (Consulta: 18 noviembre 2005).

BOLCH, C., HALLEGRAEFF, G. 1993. Chemical and physical treatment options to kill toxic dinoflagellate cysts in ship's ballast water. Journal of Marine Environmental. Engineering. 1: 23-29.

CASTILLA, J., COLLINS, A., MEYER, C., GUIÑEZ, R. & LINDBERG. 2002. Recent introduction of the dominant tunicate, Pyura praeputialis (Urochordata, Pyuridae) to Antofagasta, Chile. Molecular Ecology 11: 1579-1584.

CARLTON, J., REID, D y VAN LEEUWEN, H. 1995. Shipping study. The role of shipping in the introduction of non-indigenous organisms to the coastal waters of the United States(other than the Great Lakes) and an analysis of control options. Grant Coll. Pro. /Ct. Sea Grant Proj.R/ES6, USA, 213.

CAWTHRON Institute. 1997. Cawthron's ballast water research programme. Final Report 1996 1997. Cawthron Report Nº417.

CONVENIO INTERNACIONAL PARA EL CONTROL Y LA GESTIÓN DEL AGUA DE LASTRE Y LOS SEDIMENTOS DE LOS BUQUES. 16 de febrero de 2004. 38p.

DOBBS, F. 2001. Polizones microscópicos en las aguas de lastre de los navíos

GLOBAL BALLAST WATER MANAGEMENT PROGRAMME. 2001. Una iniciativa de cooperación mundial para el medio ambiente de las naciones unidas y la organización marítima internacional (OMI), folletos y apuntes de “Stopping the ballast water stowaways”.

GOLLASCH, S. 1997. Removal of barriers to the effective implementation of ballast water control and management measures in developing countries.

Chile. Ministerio de Defensa. 1978. LEY DE NAVEGACIÓN D .L Nº 2.222. Diario oficial. 21 de mayo de 1978.

Chile. Ministerio de Defensa Nacional, Subsecretaría de Marina.1992. REGLAMENTO PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN ACUÁTICA D.S (M) Nº 1. Diario oficial.18 de noviembre de 1992.

HERRERA, M., BERASALUCE J. & MARÍN, M. 2003. Introducción de especies exóticas en Chile, a través del agua de lastre. En II Reunión de expertos sobre el impacto de la introducción de especies exóticas en el Pacifico Sudeste: Problema de las aguas de lastre de los buques, desarrollada en ciudad de Panamá, República de Panamá, desde 9 al 11 de julio de 2003.

HERRERA, M. & BERASALUCE, J. 2004. El Desarrollo de la regulación internacional aplicada a las aguas de lastre de los buques y su experiencia normativa en Chile. Tomo II de Derecho de aguas. Bogotá, Colombia. Ed. Universidad Externado de Colombia.

HILLMANS, S., HOEDT, F., SCHNEIDER, P. 2004. The Australian pilot project for the treatment of ships‘ ballast water. 33p.

KARAMINAS, L. 2000. An investigation of ballast water management methods with particular emphasis on the risks of the sequential method. Lloyd’s Register of Shipping.

MARTOB. 2003. On board treatment of ballast water (technologies development and applications) and application of low-sulphur marine fuel. 68p.

METCALF & EDDY, INC. 1998. Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. Tercera edición. Madrid. Ed. Mc Graw Hill. Volumen I.

NRC. 1996. Stemming the Tide: Controlling Introductions of Nonindigenous Species by Ships' Ballast Water. National Research Council, National Academy Press.

OEMCKE, D. 1999. The Treatment Ships' Ballast Water. 101 p

OLIVA, D., et al. 2001. Diseño e implementación de un programa de capacitación en especies hidrobiológicas exóticas: determinación de especies acuáticas exóticas potencialmente dañinas de los ecosistemas acuáticos chilenos: etapa I. Contrato Nº 25-22-003/2001. 170 p.

Organización marítima internacional. 2004. Proyecto global de manejo del agua de lastre (resumen). Iniciativas de asociación voluntarias derivadas de la cumbre mundial 2002 sobre el desarrollo sostenible y los pequeños estados insulares en desarrollo. Nº 2004-01

Organización marítima internacional. 1998. Hay que impedir que los organismos foráneos se desplacen aprovechando el agua de lastre. [En línea]. OMI al día. <http://www.imo.org/includes/blastDataOnly.asp/data_id%3D2320/Ballastspanish.pdf> (consulta: 22 febrero 2006).

OSORIO, M., Cuantificación y visualización simultánea del virus de la necrosis pancreática infecciosa mediante microscopía de epifluorescencia. Tesis de Bioquímica. Valparaíso. Chile. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Ciencias químicas y matemáticas. 2004. 60p.

Prince William Sound Regional Citizen Advisory Council. 2005. Ballast Water Treatment. [En línea]. < http://www.pwsrcac.org/search/ > (Consulta: 03 junio 2006).

RONDINI G. 2005. Especies invasoras: "Gestión del agua de lastre". En: Taller de gestión de residuos en los puertos: 31, 1 y 2 de septiembre 2005, Valparaíso.

SOTO, K., DURAN, R., KUZNAR, J. 2005. Rapid examination of microorganisms in ballast waters. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 40(1):77-82.

URRA, A., OLIVA, D., DURAN, R. 2001. Guía práctica: Principales especies hidrobiológicas introducidas por transporte marítimo. Contrato Nº 25-22-003/2001. 83p.

WAITE, et al. 2003. Removal of natural populations of marine plankton by a large – scale ballast water treatment system. Marine Ecology Progress Series. 258: 51-63.

**8.2 Referencias Complementarias**

ALVAREZ, J. 2005. Clasificación de Buques I.
< http://www.modelismonaval.com/magazine/buques/buques.htm > (Consulta: 18 octubre 2005)

AQIS, 1993. Australian Quarantine & Inspection Service. Ballast Water Management. Ballast Water Research Series Report Nº 4 AGPS. Canberra

ATLAS, R., BARTHA R. Ecología microbiana y microbiología ambiental. 4ª edición. Madrid. Pearson Educación S.A. 2002. 696p.

BURGOS, F. Plan director de gestión y mitigación de la introducción de especies exóticas potencialmente dañinas en los ecosistemas acuáticos chilenos. Tesis ingeniería ambiental. Valparaíso, Chile. Universidad de Valparaíso, Facultad de Ciencias, 2002. 134 p.

DIRECTEMAR. 1991-2001. Boletín Estadístico Marítimo. < www.directemar.cl > (Consulta: 19 noviembre 2005).

DIRECTEMAR, 2006. [En línea] <http://www.directemar.cl/reglamar/tm078/titulo_ii.htm > (Consulta : 18 junio 2006).

DEVIA, F. 2005. Mares más seguros, mares más limpios. ECOAMERICA. (49):46-49.

DIRECTEMAR. 2005. El Consejo de la OMI. < www.directemar.cl > (Consulta: 23 octubre 2005).

DIRECTRICES PARA EL CONTROL Y LA GESTIÓN DEL AGUA DE LASTRE DE LOS BUQUES A FIN DE REDUCIR AL MÍNIMO LA TRANSFERENCIA DE ORGANISMOS ACUÁTICOS PERJUDICIALES Y AGENTES PATÓGENOS. Resolución A.868 (20) ,1997.

ENCICLOPEDIA GENERAL DEL MAR. 1958. 4º Volumen. Ediciones Garriga, S.A. Madrid.

Global Ballast Water (Globallast). < http://globallast.imo.org/ >

HALLEGRAEFF, G. 1993. A review of harmful algal blooms an their apparent global increase. Phycologia, 32: 79-99.

Maritime & Port Information System. 2005. Convenio internacional para prevenir la contaminación del mar por buques MARPOL 73/78. < www.mapis.com > (Consulta: 04 septiembre 2005).

Organización marítima internacional. 2005. Estados miembros de la OMI.
< www.imo.org > (Consulta: 23 octubre 2005).

RIGBY, G., TAYLOR, A. 2001. Ballast Water Treatment to Minimise the Risk of Introducing Nonindigenous Marine Organisms into Australian Ports. Ballast Water Report Series No.13. Research Advisory Group Ballast Water Research Program. Department of Agriculture Fisheries and Forestry. Australia. 88 pp.

SOTO, K., Microscopia de epifluorescencia como tecnología para ambientes acuícolas marinos. Tesis de Biología marina. Valparaíso, Chile. Universidad de Valparaíso, Facultad de Ciencias del Mar. 2002. 127p.

THOMSON, F., CHOI, K., DOBBS, F. 2001. Can bacterial data be used to verify ballast-water exchange?. En: Proceedings of the Second International Conference on Marine Bioinvasions: 9-11 de abril, 2001, New Orleans.

VOON, CH. A screening assessment of dissolved air flotation for control of nonindigenous invasive species transported in shipping ballast water. Thesis Master of Science in Civil Engineering. Louisiana, United States. Faculty of the Louisiana State University, and Agricultural and Mechanical College, the Department of Civil and Environmental Engineering. 2002. 181 p.

# ANEXOS

## ANEXO 1

## Glosario de abreviaturas (siglas)

AQIS: Servicio de inspección de cuarentena de Australia

DGTM: Dirección General del Territorio Marítimo

FAN: Floración de algas nocivas

FMAM: Fondo para el Medio Ambiente Mundial (sigla en inglés, GEF)

GISP: The Global Invasive Species Programme

GLOBALLAST: Programa Global de Gestión del Agua de Lastre

MEPC: Comité de Protección del Medio Marino

MM: Marina Mercante

OMI: Organización Marítima Internacional

PNUD: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

SIDS: (En español) Estados Insulares en Desarrollo

TM: Toneladas métricas

T.R.G: Toneladas de registro grueso

T.P.M: Toneladas en peso muerto (sigla en inglés, DWT)

## ANEXO 2

### 2.1 Estados Miembros de la Organización Marítima Internacional y su año de ingreso

| País | Año |
|---|---|
| Albania | 1993 |
| Alemania | 1959 |
| Angola | 1977 |
| Antigua y Barbuda | 1986 |
| Arabia Saudita | 1969 |
| Argelia | 1963 |
| Argentina | 1953 |
| Australia | 1952 |
| Austria | 1975 |
| Azarbaijan | 1995 |
| Bahamas | 1976 |
| Bahrain | 1976 |
| Bangladesh | 1976 |
| Barbados | 1970 |
| Bélgica | 1951 |
| Bélice | 1990 |
| Benin | 1980 |
| Bolivia | 1987 |
| Bosnia y Herzegovina | 1993 |
| Brasil | 1963 |
| Brunei Durasalam | 1984 |
| Bulgaria | 1960 |
| Camboya | 1961 |
| Camerún | 1961 |
| Canadá | 1948 |
| Capo Verde | 1976 |
| Chile | 1972 |
| China | 1973 |
| Chipre | 1973 |
| Colombia | 1974 |
| Congo | 1975 |
| Costa Rica | 1981 |
| Côte d'Ivoire | 1960 |
| Croacia | 1992 |
| Cuba | 1966 |
| Dinamarca | 1959 |
| Djibouti | 1979 |
| Dominica | 1979 |
| Ecuador | 1956 |
| Egipto | 1958 |
| El Salvador | 1981 |
| Eritrea | 1993 |

| País | Año |
|---|---|
| España | 1962 |
| Estados Unidos de América | 1950 |
| Estonia | 1992 |
| Etiopía | 1975 |
| Federación Rusa | 1958 |
| Fiji | 1983 |
| Filipinas | 1964 |
| Finlandia | 1959 |
| Francia | 1952 |
| Gabón | 1976 |
| Gambia | 1979 |
| Georgia | 1993 |
| Ghana | 1959 |
| Granada | 1998 |
| Grecia | 1958 |
| Guatemala | 1983 |
| Guinea | 1975 |
| Guinea Bissau | 1977 |
| Guinea Ecuatorial | 1972 |
| Guyana | 1980 |
| Haití | 1953 |
| Honduras | 1954 |
| Hungría | 1970 |
| India | 1959 |
| Indonesia | 1961 |
| Irak | 1973 |
| Irán | 1958 |
| Irlanda | 1951 |
| Islandia | 1960 |
| Islas Marshall | 1998 |
| Israel | 1952 |
| Italia | 1957 |
| Jamaica | 1976 |
| Japón | 1958 |
| Jordania | 1973 |
| Kazakaztán | 1994 |
| Kenia | 1973 |
| Kiribati | 2003 |
| Kuwait | 1960 |
| Latvia | 1993 |
| Líbano | 1966 |
| Libano Arabia Jamahiriya | 1970 |
| Liberia | 1959 |
| Lituania | 1995 |
| Luxemburgo | 1991 |
| Madagascar | 1961 |
| Malasia | 1971 |

| País | Año |
|---|---|
| Malawi | 1989 |
| Malta | 1966 |
| Marruecos | 1962 |
| Mauricio | 1978 |
| Mauritania | 1961 |
| México | 1954 |
| Mónaco | 1989 |
| Mongolia | 1996 |
| Mozambique | 1979 |
| Myanmar | 1951 |
| Namibia | 1994 |
| Nepal | 1979 |
| Nicaragua | 1982 |
| Nigeria | 1962 |
| Noruega | 1958 |
| Nueva Zelandia | 1960 |
| Omán | 1974 |
| Países Bajos | 1949 |
| Pakistán | 1958 |
| Panamá | 1958 |
| Papua Nueva Guinea | 1976 |
| Paraguay | 1993 |
| Perú | 1968 |
| Polonia | 1960 |
| Portugal | 1976 |
| Qatar | 1977 |
| Reino Unido | 1949 |
| Rep. De Korea | 1962 |
| Rep. De Moldoya | 2001 |
| Rep. Democrática de Korea | 1986 |
| Rep. Democrática del Congo | 1973 |
| Rep. Yugoslava de Macedonia | 1993 |
| Rep.Arábica Siria | 1963 |
| Rep.Dominicana | 1953 |
| República Checa | 1993 |
| República Unida de Tanzania | 1974 |
| Rumania | 1965 |
| San Kitts y Nevis | 2001 |
| San Marino | 2002 |
| San Vicente y las Granadinas | 1981 |
| Santa Lucía | 1980 |
| Sao Tome y Principe | 1990 |
| Sarnoa | 1996 |
| Senegal | 1960 |

| País | Año |
|---|---|
| Serbia y Montenegro | 2000 |
| Seychelles | 1978 |
| Sierra Leone | 1973 |
| Singapur | 1966 |
| Slovakia | 1993 |
| Slovenia | 1993 |
| Solomon Islas | 1988 |
| Somalía | 1978 |
| Sri Lanka | 1972 |
| Sudafrica | 1995 |
| Sudán | 1974 |
| Suecia | 1959 |
| Suiza | 1955 |
| Suriname | 1976 |
| Tailandia | 1973 |
| Timor-Leste | 2005 |
| Togo | 1983 |
| Tonga | 2000 |
| Trinidad y Tobago | 1965 |
| Tunisia | 1963 |
| Turkmenistán | 1993 |
| Turquía | 1958 |
| Tuvalu | 2004 |
| Ucrania | 1994 |
| Unión de Comores | 2001 |
| Unión Emiratos Arabes | 1980 |
| Uruguay | 1968 |
| Vanuatu | 1986 |
| Venezuela | 1975 |
| Viet Nam | 1984 |
| Yemen | 1979 |
| Zimbawe | 2005 |
| **Estados Asociados** | |
| Hon Kong, China | 1967 |
| Islas Faroe, Dinamarca | 2002 |
| Macao, China | 1990 |

Fuente: OMI, 2005

**2.2. Países Miembros del Consejo de la Organización Marítima Internacional (Convenio Constitutivo Art. 17).**

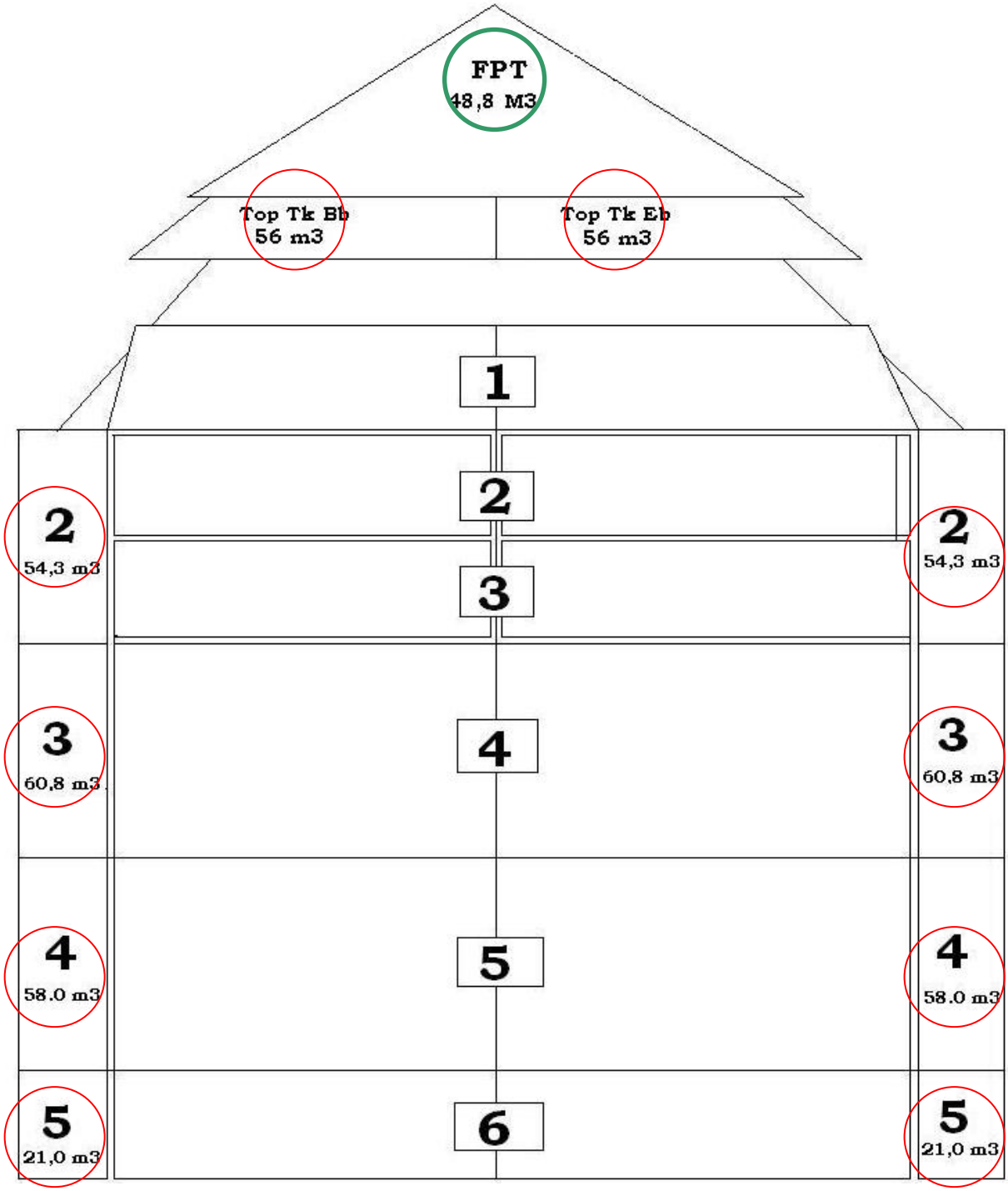
| (Art. 17,a) | (Art. 17,b) | (Art. 17,c) |
|---|---|---|
| CHINA | ARGENTINA | AUSTRALIA |
| GRECIA | BRASIL | BAHAMAS |
| ITALIA | CANADA | CHIPRE |
| JAPON | FRANCIA | EGIPTO |
| NORUEGA | ALEMANIA | INDONESIA |
| FEDERACION RUSA | INDIA | MALTA |
| REINO UNIDO | HOLANDA | MEXICO |
| ESTADOS UNIDOS | SUECIA | PANAMA |
| - | BANGLADESH | FILIPINAS |
| - | - | REPUBLICA DE COREA |
| - | - | SINGAPUR |
| - | - | SUDAFRICA |
| - | - | ESPAÑA |
| - | - | TURQUIA |
| - | - | POLONIA |
| - | - | NIGERIA |
| | | CHILE |
| | | DINAMARCA |
| | | GHANA |
| | | HONDURAS |
| | | KENYA |
| | | EL LIBANO |
| | | VENEZUELA |

Fuente: DIRECTEMAR

**(Art.17.a):** Diez serán Estados con los mayores intereses en la provisión de los servicios marítimos internacionales.
**(Art.17.b):** Diez serán otros Estados con los mayores intereses en el comercio marítimo internacional.
**(Art.17.c):** Veinte serán Estados no elegidos a título de los párrafos anteriores y que tengan intereses particulares en el transporte marítimo o en la navegación y cuya elección al Consejo garantice la representación de todas las grandes regiones geográficas del mundo.

## ANEXO 3

### 3.1 Distribución de los tanques de lastre del buque PACSA II.




: Ubicación tanque de lastre

: Tanque de lastre muestreado (peak de proa).

### 3.2 Datos del buque PACSA II

Nombre: PACSA II.

Clase de nave: buque tanque.

Eslora: 76,45 m.

Manga: 13 m.

Puntal: 8,71 m.

TRG: 2140

Nº registro OMI: 7382653.

Velocidad: 12 nudos.

Nombre armador: Naviera Ventanas S. A.

Bandera: chilena.

Matrícula: 3015.

Distintivo llamada: CBPC.

Dotación: 11 personas.

Capitán: Leonardo Enrique Lambarri Arias.

Clase de navegación: cabotaje.

Puerto matrícula: Valparaíso.

Año de construcción: 1975

Lugar de construcción: Noruega.

# ANEXO 4

## 4.1 Formulario de notificación del agua de lastre

**ANEXO "A"**

NOTIFICACIÓN DEL AGUA DE LASTRE
**(BALLAST WATER REPORTING FORM)**

**1 INFORMACIÓN SOBRE EL BUQUE** — **2 AGUA DE LASTRE**

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nombre del buque: | Tipo: | N° IMO: | Especifique las unidades:$m^3$, MT, LT,ST |
| Propietario: | Arqueo bruto: | Distintivo de llamada: | Cantidad total de agua de lastre a bordo: |
| Pabellón: | Fecha de llegada: | Agente: | |
| Último puerto y país: | | Puerto de llegada: | Capacidad total de agua de lastre: |
| Próximo puerto y país: | | | |

**3 TANQUES DE AGUA DE LASTRE** ¿Hay un plan de gestión de lastre a bordo? SÍ___ NO___ ¿Se ha implantado? SÍ___ NO___

N° TOTAL DE TANQUES A BORDO_____ N° DE TANQUES EN LASTRE_____**SI NINGUNO DE LOS TANQUES VA EN LASTRE PÁSESE AL N°5**

N° TOTAL DE TANQUES EN LOS QUE SE HA HECHO EL CAMBIO_____

N° TOTAL DE TANQUES EN LOS QUE NO SE HA HECHO EL CAMBIO_____

**4 HISTORIAL DEL AGUA DE LASTRE: INDÍQUENSE TODOS LOS TANQUES QUE SE DESLUSTRARÁN EN EL ESTADO DEL PUERTO DE LLEGADA; SI NO SE VA A DESLASTRAR NINGUNO PÁSESE AL N°5**

| **Tanque/ BodegaE** numé-rense las fuentes/ tanques múltiples por separado | ORIGEN DEL AGUA DE LASTRE | | | | CAMBIO DEL AGUA DE LASTRE Rodéese el que corresponda: vaciado/rellenado o lavado con flujo continuo | | | | | DESCARGA DEL AGUA DE LASTRE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FECHA **Día mes año** | PUERTO o **Latitud longitud** | VOLUMEN **(unidades)** | TEMPERA -TURA **(unidades)** | FECHA **Día mes año** | DESTINO FINAL **latitud longitud** | VOLUMEN **(unidades)** | % del **cambio** | OLEAJE **Altura(m)** | FECHA **Día mes año** | PUERTO o **latitud longitud** | VOLUMEN **(unidades)** | SALINIDAD **(unidades)** |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |

**Códigos para los tanques de agua de lastre: Pique de Proa=FP, Pique de popa=AP, Doble fondo=DB, Lateral= WT, Alto=TS, Bodega de carga=CH, Otros=O**

SI NO SE LLEVÓ A CABO EL CAMBIO DEL AGUA DE LASTRE, INDÍQUESE QUÉ OTRAS MEDIDAS DE CONTROL SE HAN TOMADO:_____

SI NO SE HA TOMADO NINGUNA, INDÍQUESE EL MOTIVO:_____

**5 ¿SE LLEVAN A BORDO LAS DIRECTRICES DE LA OMI SOBRE AGUA DE LASTRE(RES. A20/868)? SÍ_____ NO_____**

NOMBRE Y CARGI DEL OFICIAL RESPONSABLE(IMPRESOS) Y FIRMA_____