

Protocolo para las pruebas de validación de sistemas de Inactivación y retención de *Alexandrium catenella* en plantas de Proceso.

Objetivo:

Evaluar la efectividad de los sistemas de inactivación y/o retención de *Alexandrium catenella* en plantas que reciban descargas positivas directas desde naves tipo wellboat.

Marco normativo:

- D.S N°345/05, Reglamento de Plagas Hidrobiológicas (REPLA).
- Res 529/2009 y sus modificaciones, Programa de Vigilancia, detección y control de *Alexandrium catenella*

Alcance:

Plantas de proceso con sistemas de inactivación y retención de la especie plaga *Alexandrium catenella*.

Materiales sistemas de inactivación:

- 2 baldes plásticos de 10 lts o 20 lts para obtención de la muestra de agua.
- Tamiz para muestreo de fitoplancton con tramado de 20- 25 μm .
- Tamiz para muestreo de fitoplancton con tramado de 60 μm .
- Guantes plásticos.
- Matraz Erlenmeyer esterilizado
- Medio de cultivo.
- Etiquetas, marcador indeleble, pipeta.
- Cooler y icepack

Materiales sistemas de retención:

- 1 balde plástico de 10 lts para obtención de la muestra de agua.
- Red de fitoplancton de 20- 25 μm y diámetro de 20-30 cm.
- Frascos plásticos de 250 ml (doble tapa)
- Lugol, etiquetas, marcador indeleble, pipeta.



Acciones generales:

La prueba de terreno, para la autorización deberá realizarse de manera programada, validando tanto el sistema de inactivación-retención principal como el sistema de contingencia propuesto, debiendo el titular de la planta de proceso coordinar con una embarcación tipo wellboat, con la cual tenga acople validado, el traslado de agua con niveles elevados de *A. catenella* hacia la planta, de acuerdo a las siguientes instrucciones:

- a) Enviar la solicitud de validación a Sernapesca a través del correo monitoreofan@sernapesca.cl y realizar los pagos correspondientes a CERAM.
- b) El solicitante deberá embarcar un certificador y luego la embarcación deberá dirigirse a un sector seleccionado con una concentración sobre 10 cél/ml de *A. catenella* en una muestra sin filtrar.
- c) El certificador determinará la concentración en el sector seleccionado, mediante la toma de agua, desde la válvula de la tubería de entrada de agua a la embarcación, o eventualmente con balde desde la superficie. Luego homogenizará la muestra, tomará una alícuota de 1ml, que pondrá en una cámara de conteo Sedgewick Rafter, dejará decantar y realizará el recuento.

Si la concentración en el medio se encuentra sobre 10 cél/ml de *A. catenella*, la embarcación deberá cargar agua en este sector y cerrar compuertas.

- d) El certificador verificará la concentración de al menos 10 cél/ml de *A. catenella* en las aguas de la bodega de la embarcación. Si esta concentración no se alcanza en las bodegas, la embarcación deberá volver a cargar agua. Una vez alcanzada la concentración de *A. catenella* en las bodegas, la embarcación deberá navegar con las compuertas completamente cerradas directamente hacia la planta de proceso.
- e) Parte de la carga deberá utilizarse para validar el sistema principal y otra para el sistema de contingencia, de manera tal de poder validar ambos sistemas.
- f) Las plantas de proceso podrán validar tres dosis diferentes para cada sistema, siendo la planta responsable de calcular la cantidad de agua necesaria para las pruebas.
- g) Sólo para el proceso de validación el agua utilizada deberá ser tratada y enviada de vuelta a la embarcación, o a la opción aprobada por Sernapesca. En caso que el agua sea devuelta al wellboat, la embarcación deberá volver al sur del paralelo 43°34'53" con las compuertas cerradas. En caso de envío a la planta de riles, toda el agua deberá ser tratada por el sistema principal o de contingencia y luego enviada a la planta de riles.
- h) Sernapesca tomará las muestras de los efluentes tratados por el sistema principal y por el sistema de contingencia, tanto para análisis de microscopía como para cultivo celular de acuerdo al procedimiento establecido y las entregará selladas con cinta oficial a la planta de proceso.
- i) La planta será responsable de hacer llegar las muestras al laboratorio CERAM, adjuntando el formulario de envío emitido por personal de Sernapesca con las especificaciones de cada muestra y en las condiciones de transporte señaladas a continuación.

Muestreo sistemas de inactivación (principal y de contingencia):

Funcionarios del Servicio serán los encargados de realizar el muestreo durante la descarga programada de acuerdo a lo indicado en el presente procedimiento.

- 1) A la recalada, en el wellboat, antes de comenzar con la descarga, personal de Sernapesca y/o el certificador tomará y cuantificará una muestra sin filtrar desde las bodegas, para obtener la muestra control del bioensayo.
 - Se tomará una muestra de 60 litros para el control, con balde, desde la bodega de la embarcación.
 - Se volverá a cuantificar el número de células por ml con cámara de conteo Sedgewick Rafter y registrarlo en el formulario.
 - La mitad de la muestra, 30 litros de agua proveniente de la bodega, se deberá filtrar por un tamiz de 60 μm y uno de 20 μm , lo que queda retenido en el tamiz de 20 μm , se deberá pasar con medio de cultivo a un matraz Erlenmeyer y se afora con 100 ml de medio de cultivo, esta acción debe repetirse con los otros 30 L para obtener las dos réplicas. Estas dos muestras constituyen la muestra control.
- 2) En la planta de proceso, toma de muestras sistema principal y de contingencia, en dos ocasiones, comenzando 5 minutos después de iniciada la descarga, se filtrarán 60 litros de agua desde el efluente ya tratado.
 - A partir de los 60 litros, se obtendrán 2 réplicas cada vez. Para ello se deben filtrar 30 litros de agua tratada, por un tamiz de 60 μm y uno de 20 μm , lo que queda retenido en el tamiz de 20 μm , se pasa con medio de cultivo a un matraz Erlenmeyer y se afora con 100 mL de medio de cultivo. Esta acción debe repetirse una segunda vez para obtener la segunda réplica.
 - Cada matraz se debe rotular con el nombre de la planta de proceso, fecha y hora de muestreo, dosis, número de la muestra y completar el formulario.
 - Antes de tomar las muestras con la nueva dosis se deben lavar los tamices con agua dulce.
 - Luego, se debe aumentar la dosis al menos en un 10% y posteriormente realizar el siguiente muestreo de la misma forma descrita previamente.
 - Una vez terminado el muestreo para el sistema principal se debe realizar el muestreo para el sistema de contingencia de la misma forma.
- 3) Los matraces deben ser sellados con cinta o sellos oficiales y guardados en un cooler con gelpack para su envío a Puerto Montt, el traslado será responsabilidad del titular de la planta de proceso. En caso que el horario de término de las pruebas no permitiera la llegada de las muestras a Puerto Montt antes de las 22 horas, las muestras deberán ser refrigeradas y enviadas a primera hora a CERAM.

Personal de Sernapesca coordinará la recepción de las muestras en CERAM, por parte del laboratorio y de un funcionario Sernapesca.

Muestreo sistemas de retención:

1. Se filtrarán 30 litros de agua desde el efluente ya tratado, cada 1 hora a lo largo de toda la descarga, comenzando 5 minutos después del inicio y la última muestra 10 minutos antes del fin de la descarga.
 - Filtrar 30 litros de agua tratada con una red de fitoplancton de 20 μm , vaciar a un frasco plástico de 250 ml y Fijar con lugol.
 - Ajustar los intervalos de muestreo para repetir al menos 6 veces a lo largo de la descarga.
 - Se debe lavar con agua dulce entre cada muestreo para evitar el traspaso de fitoplancton entre muestras.
 - Cada frasco se rotula con la fecha y hora de muestreo, numerándolas correlativamente.

Formularios:

- Personal de Sernapesca completará el formulario de despacho y entregará las muestras selladas en una caja en las mismas condiciones, junto con 2 copias del formulario al responsable de la planta de proceso.

Condiciones de transporte:

- Las matraces deberán ser transportados en un cooler con gelpack
- Antes de salir de la planta se debe coordinar la recepción de las muestras con el CERAM a los teléfonos 65-2264596 en horario de oficina o al 9-78991449 los fines de semana.

Anexo 1: Sistemas Autorizados

a) Sistemas de inactivación validados en condiciones controladas de laboratorio:

| | Tipo | Dosis | Tiempo | Solidos Suspendidos Totales | Transmitancia |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------|-----------------------------|---------------|
| Luz ultravioleta | Lámparas de baja intensidad | 180 mJ/cm ² | - | < 25 mg/L | > 95%. |
| | Lámparas de mediana intensidad | 160.3 mJ/cm ² | - | < 25 mg/L | > 95%. |

| | Tipo | Dosis | Tiempo de contacto | Dosis residual | Solidos Suspendidos Totales |
|-------------------------------|--|----------------------|--------------------|----------------|-----------------------------|
| Dióxido de Cloro | Dióxido de Cloro generado in situ con el Sistema Closure | 10 ppm | 5 minutos | 4 ppm | <200mg/L. |
| | Clorodos plus (dióxido de cloro estabilizado al 5%) activado con activador clorodos (Ac. Clorhídrico) | 200 ppm | 5 minutos | 80 ppm | <200mg/L. |
| | Tressaclor 500 Precursor (dióxido de cloro estabilizado al 5%) activado con activador Diox (Ac. Clorhídrico) | 10 ppm | 5 minutos | 7 ppm | <200mg/L. |
| Peróxido de Hidrógeno | Properox | 200 ppm | 30 minutos | - | <200mg/L. |
| Reactor Electroquímico | Bioionix 6500 y 8500 | 0.79 (Amperes/L*min) | - | - | <200mg/L. |

b) Sistemas de inactivación validados en condiciones reales a bordo de un wellboats:

| | Tipo | Dosis validada en wellboats | Tiempo | Solidos Suspendidos Totales |
|-------------------------------|----------------------|-----------------------------|--------|-----------------------------|
| Reactor Electroquímico | Bioionix 6500 y 8500 | 3,2 (Amperes/L*min) | - | <200mg/L |

c) Sistemas de retención autorizados son los siguientes:

- Decantador en cadena con sistema de retiro de sedimentos, que asegure la sedimentación de partículas de 20 micras.
- Sistemas de filtración en varias etapas hasta 20 micras.

d) Requerimientos complementarios:

| Requerimientos | Sistema | | | | |
|---|-----------|------------------|------------------------|------------------|-----------------------|
| | Retención | Luz ultravioleta | Reactor Electroquímico | Dióxido de cloro | Peróxido de hidrogeno |
| Sistema de tratamiento primario | | X | X | X | X |
| Medidor automático de STT | | X | X | X | X |
| Dosificador automático | | X | X | X | X |
| Laboratorio con microscopio para verificación óptica de muestras y personal capacitado en la identificación | X | | | | |
| Sistema de contingencia autorizado | X | X | X | X | X |
| Sistema de tratamiento y disposición de lodos | X | X | X | X | X |
| Sistema de tratamiento y limpieza del salmuducto | X | X | X | X | X |

Anexo 2: Formulario de despacho de muestras

1. Identificación de la planta

| | | | |
|--------|--|--------|--|
| Nombre | | Código | |
|--------|--|--------|--|

2. Cuantificación inicial

| | | |
|--------|-------------------|-------------------------|
| En mar | En bodega in situ | En bodega a la recalada |
| | | |

3. Sistema de tratamiento principal (especifique) _____

4. Lugar de muestreo: _____

5. Número total muestras sistema principal (P) _____

| Código | Fecha | Hora | Dosis | Observaciones |
|--------|-------|------|-------|---------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

6. Sistema de contingencia (especifique) _____

7. Número total muestras sistema contingencia (C) _____

8. Identificación de las muestras sistema contingencia

| Código | Fecha | Hora | Dosis | Observaciones |
|--------|-------|------|-------|---------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

9. Muestras sistema de retención (Si corresponde), tipo de sistema _____

| Código | Fecha | Hora | Dosis | Observaciones |
|--------|-------|------|-------|---------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

10. Identificación funcionario que envía la muestra

| | | | |
|--------|--|---------|--|
| Nombre | | Oficina | |
|--------|--|---------|--|

11. Identificación responsable de la planta que recibe la muestra

| | | | |
|--------|--|-------|--|
| Nombre | | Cargo | |
|--------|--|-------|--|

12. Identificación funcionario de CERAM que recibe la muestra

| | | | |
|--------|--|-------|--|
| Nombre | | Cargo | |
|--------|--|-------|--|

Firma funcionario Sernapesca
Hora:

Firma responsable planta
Hora:

Firma recepción CERAM
Hora:



Anexo 3: Solicitud de pago por validación del sistema de retención o inactivación de *Alexandrium catenella*

| Identificación de la Planta | | |
|--|-------|--|
| Nombre | | |
| Código | | |
| Empresa | | |
| Dirección | | |
| Comuna | | |
| Fecha estimada de validación | | |
| Fecha | | |
| Servicios solicitados | | |
| | Valor | |
| Embarque certificador y toma de muestras en del wellboats | 14 UF | |
| Análisis por microscopía y cultivo celular sistema principal | 20 UF | |
| Análisis por microscopía y cultivo celular sistema contingencia | 20 UF | |
| Análisis por microscopía óptica (Sólo para plantas que quieran validar sus sistemas de retención, independiente del sistema de inactivación) | 8 UF | |
| Total | | |
| Datos para facturación | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Persona responsable de la coordinación | | |
| Nombre | | |
| Teléfono | | |
| Correo electrónico | | |
| Cargo | | |
| | | |

Firma, nombre, cargo

Enviar a correos: msequel@uach.cl y mcruz.contabil@gmail.com

