

## Criterio: 2.6 Impactos bentónicos

### *Principales consideraciones*

Este criterio se ha desarrollado con el apoyo de un Grupo de Trabajo Técnico (GTT) formado por el ASC. Una propuesta de revisión de los requisitos para las jaulas y para los moluscos en suspensión en los sistemas marinos, y un enfoque recomendado para las jaulas en los sistemas de agua dulce (lagos y embalses) se sometió a una consulta pública de 60 días en marzo-abril de 2022. Los requisitos revisados se han presentado nuevamente para otra ronda de consultas con el fin de obtener más información. El GTT utilizará esta información para desarrollar los requisitos finales del Criterio 2.6: Impactos bentónicos.

### **Sistemas de jaulas marinas/salobres:**

A partir de los comentarios recibidos en la pasada consulta, se ha ampliado el alcance de los requisitos propuestos para los sistemas marinos a fin de incorporar sistemas salobres. Los requisitos de los indicadores revisados que fueron propuestos para los sistemas de jaulas marinas y salobres se basan en un enfoque de muestreo de tres niveles. El enfoque está diseñado para reducir la carga de cumplimiento de las explotaciones, al tiempo que mejora la comprensión de sus impactos bentónicos. Según este enfoque, una explotación llevará a cabo un análisis bentónico cada vez más minucioso si los resultados iniciales de nivel 1 o de nivel 2 no cumplen los límites establecidos. Por el contrario, una explotación que cumple los límites del nivel 1 no necesita realizar análisis adicionales y, al hacerlo, la norma premia la buena gestión de la explotación. El programa de muestreo requiere que se establezcan estaciones de seguimiento dentro de tres zonas de control del Estado de Calidad Ecológica («EQS» por sus siglas en inglés). Se han seleccionado una serie de indicadores abióticos y bióticos que sirven como indicadores indirectos para clasificar numéricamente el EQS de los sistemas de cría en jaulas marinas y salobres.

El enfoque por niveles propuesto utiliza la medición del sulfuro ( $S^{2-}$ ) libre total como uno de los principales indicadores para controlar los efectos del enriquecimiento orgánico en el hábitat, la biodiversidad y la función del ecosistema bentónico. Aunque el método estándar para medir el  $S^{2-}$  en los sedimentos superficiales ha sido el método del electrodo selectivo de iones (ISE), debido a su relativa simplicidad en comparación con otras opciones analíticas disponibles, muchos usuarios han afirmado que el método ISE presenta una baja solidez analítica y es propenso a la contaminación y a otros errores en la medición. Por ello, los requisitos revisados recomiendan el uso de la técnica de espectroscopia UV ( $S^{2-}_{UV}$ ).

Algunas normas internacionales de control del enriquecimiento orgánico bentónico ya cumplen o incluso superan los objetivos revisados por el ASC. Por lo tanto, se ofrece flexibilidad para que los operadores puedan presentar programas de seguimiento bentónico específicos definidos por el usuario. El ASC determinará, mediante un proceso de revisión por parte de expertos internos y externos, si los programas de supervisión específicos definidos por el usuario que se proponen cumplen los estrictos requisitos del ASC. Sin embargo, se alienta a que los operadores adopten el sistema de seguimiento de varios niveles que aborda todos los requisitos obligatorios para el seguimiento del enriquecimiento orgánico bentónico con la aprobación de programas de seguimiento específicos definidos por el usuario, limitados a casos excepcionales y bien documentados.

### **Sistemas de moluscos marinos en suspensión:**

Los requisitos revisados propuestos para el seguimiento de las explotaciones de moluscos presentan muchas similitudes con los requisitos de los sistemas de jaulas marinas/salobres, con la excepción de que el esfuerzo de muestreo se centra en la detección de los impactos del enriquecimiento orgánico dentro de los límites de la explotación, en contraposición al muestreo adyacente a las jaulas. Los requisitos revisados utilizan el mismo enfoque de muestreo y análisis por niveles y una serie de indicadores abióticos y bióticos. El diseño del muestreo utiliza un enfoque "gradual" en el que las muestras del fondo marino se recogen en estaciones situadas a 10 m de distancia unas de otras a lo largo de transectos que se extienden a través del límite de la explotación. Las explotaciones de moluscos marinos en suspensión que demuestren tres años consecutivos de resultados aceptables podrán reducir el muestreo a una vez cada cinco años, siempre que no haya cambios significativos en las prácticas de explotación.

Al igual que con los sistemas de jaulas marinas/salobres, se ofrece flexibilidad para que los operadores de explotaciones de moluscos marinos puedan presentar programas de seguimiento bentónico específicos definidos por el usuario, donde se considere que estos van más allá de los requisitos revisados del ASC.

Teniendo en cuenta los resultados de la última consulta, los requisitos revisados para estos sistemas proporcionan más detalles sobre cómo proceder en situaciones en las que las explotaciones están situadas sobre fondos duros. Asimismo, se ofrecen más detalles sobre la ubicación y las direcciones de los transectos de muestreo necesarios y sobre la ubicación de los lugares de referencia.

#### **Sistemas de jaulas en lagos y embalses:**

De forma similar a los sistemas marinos/salobres, los requisitos propuestos para las jaulas en lagos y embalses incorporan un muestreo por niveles, una clasificación de EQS y un seguimiento bentónico directo. Sin embargo, el cumplimiento del requisito de alcanzar un estado bentónico aceptable (Indicador 2.6.2) no se exige durante los tres primeros años de vigencia de la Norma de Explotación del ASC. Por el momento, ninguna de las normas del ASC relacionadas con el agua dulce incluye requisitos bentónicos. Una de las explicaciones es que la diversidad de los sistemas de acuicultura en agua dulce dificulta el desarrollo de requisitos bentónicos estandarizados. Además, la relativa falta de publicaciones científicas ha dificultado el desarrollo de dichos requisitos, ya que la mayoría de los estudios de impacto ambiental de la acuicultura en agua dulce se han centrado en la calidad del agua y no en los impactos bentónicos. El ASC cree que la propuesta representa un avance en la evaluación de los impactos de la acuicultura en los lagos y embalses. Dentro de ese contexto, y dado que las explotaciones deberán cumplir con los requisitos de seguimiento y presentación de informes establecidos en la norma (Indicadores 2.6.1 y 2.6.3), se espera que la información generada durante este periodo aporte conocimientos y datos significativos que sirvan para comprender mejor el impacto de la acuicultura en los lagos y embalses. Asimismo, la información se utilizará para apoyar o revisar los requisitos propuestos, con el objetivo a largo plazo de ayudar a la industria a mitigar los impactos en esos sistemas.

#### **Sistemas de agua dulce que desembocan en ríos:**

El GTT propone que se mantengan los requisitos actuales para los sistemas que desembocan en los ríos (es decir, estudios de macroinvertebrados en la masa de agua receptora, aguas abajo y aguas arriba del punto de vertido del efluente, de acuerdo con la Norma para la Trucha de Agua Dulce y la Sección 8 de la Norma para el Salmón del ASC).

Para obtener información sobre la justificación del GTT para los requisitos revisados de los indicadores propuestos, véase el [Whitepaper on Standards for Aquaculture Impacts on Benthic Habitat, Biodiversity and Ecosystem Function](#).

*Alcance del criterio 2.6 - Todas las Unidades de Certificación («UoC» por sus siglas en inglés) que utilicen jaulas en aguas marinas/salobres o en lagos/reservorios de agua dulce o sistemas de moluscos marinos en suspensión*

**Justificación** - Los sistemas de producción acuícola más habituales vierten efluentes que contienen materia orgánica (por ejemplo, heces o piensos no consumidos) y, en algunas ocasiones, metales pesados (por ejemplo, el cobre de redes tratadas). Aunque la forma de descarga puede variar (dispersa o puntual), todas tienen el potencial de impactar negativamente la estructura y función del ecosistema receptor.

Cuando la deposición de materia orgánica se produce a un ritmo que supera la capacidad del medio que la recibe para asimilarla, pueden producirse cambios en la composición química y física del sedimento, que a su vez pueden afectar negativamente a la comunidad bentónica (in)faunística. El alcance de estos impactos depende del flujo de materia orgánica liberada por la operación, de las características de la masa de agua y de la capacidad de descomposición natural de la comunidad microbiana bentónica. Sin embargo, si se gestiona bien, manteniendo la tasa de deposición dentro de la tasa de descomposición aeróbica natural, se minimizarían los impactos bentónicos.

**Intención** - Mantener la estructura y la función del ecosistema de la zona adyacente a la granja.

#### Indicadores:

Indicador 2.6.1	La UoC controlará el bentos para detectar el enriquecimiento orgánico siguiendo el programa de control descrito en el Apéndice I <sup>1</sup> .
Indicador 2.6.2	<i>Alcance del indicador<sup>2</sup>: jaulas marinas/salobres y sistemas de moluscos marinos en suspensión</i> La UoC deberá cumplir el estado bentónico "aceptable" en la zona que rodea la explotación, tal como se indica en el Apéndice I.

#### Indicadores sobre la presentación de informes:

<sup>1</sup> Las explotaciones situadas en zonas clasificadas como de "fondo duro" están exentas de los requisitos revisados. Se necesita un vídeo del fondo o cualquier otra prueba para apoyar la clasificación de "fondo duro".

<sup>2</sup> En el caso de las granjas enjauladas en lagos y embalses, no se exige el cumplimiento del requisito de alcanzar un estado bentónico aceptable en la zona que rodea a la granja (Indicador 2.6.2) durante los tres primeros años de vigencia de la Norma de Explotación del ASC. El cumplimiento de los requisitos de supervisión (2.6.1) y de presentación de informes (2.6.3) se exige a partir de la fecha de entrada en vigor de la Norma de Explotación del ASC.

<p>Indicador 2.6.3  <b>Símbolo de notificación</b></p>	<p>La UoC informará anualmente al ASC sobre las categorías de EQS en la zona próxima, de acuerdo con el anexo 2 y utilizando la plantilla que se ofrece en el sitio web del ASC.</p>
--	--

## Apéndice I: Programa de seguimiento bentónico

### Introducción

Este apéndice describe los requisitos normalizados para un programa de seguimiento bentónico del ASC, pero también incluye una opción para un programa de seguimiento bentónico definido por el usuario.

### Sección 1.1 - El sistema y las categorías del Estado de Calidad Ecológica (EQS)

Con el fin de tomar decisiones coherentes en relación con el impacto del enriquecimiento orgánico, se definen categorías del EQS basadas en elementos específicos de calidad abiótica y biológica que describen colectivamente el estado de salud/ecológico de la comunidad de macroinfauna bentónica. El sistema de categorías de el EQS está ampliamente difundido en la literatura científica. Actualmente se utiliza para llevar a cabo evaluaciones reglamentarias de la calidad de los sedimentos en múltiples países y sustenta algunas de las normas actuales del ASC (por ejemplo, la Norma del Salmón). Las categorías del EQS se definen utilizando descripciones estandarizadas de la comunidad macrofaunística asociada (Tabla 1).

Tabla 1: Descripciones de los conjuntos de macrofauna bentónica para cada una de las cinco categorías del EQS.

Categorías del EQS	Definición
<p><b>Excelente estado</b></p>	<p><b><i>Ninguna o muy pocas alteraciones:</i></b> la abundancia, la riqueza y la diversidad de las especies son elevadas y dominan los taxones sensibles. No hay presencia de taxones</p>

	oportunistas o su abundancia es insignificante. La calidad de los elementos geoquímicos indican condiciones aeróbicas con baja toxicidad de sulfuro libre.
<b>Buen estado</b>	<b>Ligeras alteraciones:</b> El nivel de diversidad y abundancia de los taxones de invertebrados se ha visto ligeramente reducido. La presencia de los taxones sensibles ha sido ligeramente reducida. Los taxones oportunistas están presentes pero su abundancia es insignificante. La calidad de los elementos geoquímicos indican la condiciones de sedimento aeróbico con un ligero aumento de los niveles de sulfuro libre.
<b>Estado moderado</b>	<b>Moderadas alteraciones:</b> El nivel de diversidad y abundancia de los taxones de invertebrados se ha visto moderadamente reducido. Los taxones sensibles tienen una abundancia insignificante o están ausentes. Los taxones tolerantes y los oportunistas de primera categoría son codominantes en cuanto a su abundancia. La calidad de los elementos geoquímicos indica un aumento moderado de las condiciones anaeróbicas con niveles de sulfuro libre conocidos por ser letales para los taxones sensibles e indiferentes.
<b>Estado pobre</b>	<b>Grandes alteraciones:</b> Evidencia de alteraciones importantes en los valores de los elementos de calidad biológica. La diversidad es muy reducida y los taxones sensibles e indiferentes muestran una abundancia insignificante o están ausentes. Los taxones tolerantes son subdominantes a los taxones oportunistas de primera categoría. La calidad de los elementos geoquímicos indica un aumento importante de las condiciones anaeróbicas y de las concentraciones de sulfuro resultan letales para la mayoría de los taxones.
<b>Mal estado</b>	<b>Graves alteraciones:</b> Evidencia de graves alteraciones en los valores de los elementos de calidad biológica y en los que están ausentes grandes porciones de las comunidades biológicas relevantes normalmente asociadas a condiciones no perturbadas. Los taxones oportunistas de primera categoría dominan pero su abundancia es muy reducida. La calidad de los elementos geoquímicos indica un aumento grave de concentraciones de sulfuro que son letales para todos los taxones.

## Sección 1.2 - Umbrales y límites numéricos para los indicadores de enriquecimiento orgánico y las correspondientes categorías del EQS

La interpretación de los datos de seguimiento de los indicadores abióticos o bióticos de enriquecimiento orgánico requiere umbrales y límites numéricos para distinguir las cinco categorías de EQS (Excelente, Buena, Moderada, Pobre y Mala) descritas en la Tabla 1. La tabla 2 define estos umbrales y límites numéricos para muchos de los indicadores de enriquecimiento orgánico comúnmente empleados.

Tabla 2: Umbrales de los indicadores abióticos y bióticos, y límites numéricos para cada una de las cinco categorías del EQS (Tabla 1).

Indicadores de enriquecimiento orgánico	Umbrales de los indicadores y límites numéricos por categoría de EQS				
	Excelente estado	Buen estado	Estado moderado	Estado pobre	Mal estado
Sulfuro libre total ( $S^{2-}$ ; $\mu M$ )*	0 a 75	75 a 250	250 a 500	500 a 1100	>1100
Potencial redox ( $Eh_{NHE}$ )	>0		0 a -100	-100 a -150	<-150
pH**	>7,5		7,1 a 7,5	6,8 a 7,1	<6,8
Nitrógeno amoniacal total** (TAN; mg/L)	NA	NA	1,9***	NA	NA
Riqueza (S%; % del máximo S)	>80	50 a 80	35 a 50	15 a 35	<15
Taxones oportunistas ( $GrV$ ; %)	<20	20 a 40	40 a 60	60 a 80	>80
Proporción de poliquetos/anfípodos (BPOFA)	<0,031	0,031 a 0,126	0,126 a 0,187	0,187 a 0,237	>0,237
Índice Biótico Marino de AZTI (AMBI)	<1,2	1,2 a 3,0	3,0 a 3,9	3,9 a 4,8	>4,8
AMBI multivariante (M-AMBI)	>0,83	0,83 a 0,59	0,59 a 0,47	0,47 a 0,35	<0,47
Calidad del hábitat bentónico (BHQ)	8 a 15	6 a 8	4 a 6	2 a 4	<2
Riqueza simplificada ( $S_{50}$ )	>16	11,7 a 16	7,5 a 11,7	5,4 a 7,5	<5,4
Índice de calidad bentónica (BQI)	>16,0	12,0 a 16,0	8,0 a 12,0	4,0 a 8,0	<4,0
Índice de calidad bentónica (BQI-family)	>20,8	9,2 a 20,8	5,7 a 9,2	1,9 a 5,7	<1,9
BENTIX	>0,67	0,5 a 0,67	0,42 a 0,49	0,33 a 0,41	<0,33

Índice de calidad noruego ( <i>NQI1</i> )	>0,86	0,68 a 0,86	0,43 a 0,68	0,20 a 0,43	<0,20
Índice de sensibilidad noruego ( <i>NSI</i> )	>27,4	23,1 a 27,4	18,8 a 23,1	10,4 a 18,8	<10,4
Índice de especies indicadoras ( <i>ISl<sub>2012</sub></i> )	>9,6	7,5 a 9,6	6,2 a 7,5	4,5 a 6,2	<4,5
Etapa de enriquecimiento ( <i>ES</i> )	1	2	3 a 4	4 a 5	6 a 7

\*Medido por espectrofotometría UV.

\*\*Para ser utilizado solo en lagos de agua dulce.

\*\*\* En pH7 y 20 °C. Para otros valores de pH o de temperaturas, véase el valor dependiente en la sección 1.7 de la Tabla 10.

### Sección 1.3 - Escala espacial del seguimiento bentónico y marco de decisión sobre el cumplimiento

#### A. Sistemas de jaulas marinas/salobres:

Los lugares de muestreo se establecerán en cada una de las tres zonas de seguimiento de las explotaciones y dentro de una zona de referencia (figura 1).

Cuando el resultado del seguimiento no determine un estado EQS excelente dentro de cada zona de seguimiento (es decir, un estado bentónico aceptable), deberá seguirse la Tabla 3 para determinar si el estado bentónico es aceptable o inaceptable.

Tabla 3: Tres posibles escenarios de estado bentónico que se califican como "aceptables" (2.6.2) para las jaulas marinas/salobres, así como dos ejemplos con un estado bentónico "inaceptable".

	Zonas de seguimiento (Fig.1)*	Muestreo requerido y distancia a la explotación (borde de la jaula)**	Resultado del análisis de las muestras - Categoría del EQS por zona de control	Estado bentónico
Escenario 1	Zonas de explotación 1, 2 y	Zona 1: 30 m	Estado moderado o mejor	Aceptable
		Zona 2: 100 m	Estado bueno o mejor	

	3, y zona de referencia	Zona 3: 150 m	Excelente estado	
		Zona de referencia: 500 m	Excelente estado	
Escenario 2	Zonas de explotación 1, 2 y 3, y zona de referencia	Zona 1: 30 m	Estado moderado o mejor	Aceptable
		Zona 2: 100 m Zona 3: 150 m	Buen estado	
		Zona de referencia: 500 m	Buen estado	
Escenario 3	Zonas de explotación 1, 2 y 3, y zona de referencia	Zona 1: 30 m Zona 2: 100 m Zona 3: 150 m	Estado moderado	Aceptable
		Zona de referencia: 500 m	Estado moderado	
Escenario 4	Zonas de explotación 1, 2 y 3	Zona 1: 30 m Zona 2: 100 m Zona 3: 150 m	Estado pobre o malo	Inaceptable
Escenario 5	Zona de referencia	Zona de referencia: 500 m	Estado pobre o malo	Inaceptable

\*1 o 4 lugares de muestreo dentro de cada zona, dependiendo de si se realiza un muestreo de nivel 1 o de nivel 2 o 3.

\*\*La categoría del EQS para las zonas 1, 2 y 3 debe ser alcanzada por la distancia a la explotación indicada en esta columna.

#### B. Sistemas de jaulas en lagos de agua dulce

Los lugares de muestreo deberán establecerse en cada una de las dos zonas de seguimiento de las explotaciones y en una zona de referencia (figura 2).

Tabla 4: Tres posibles escenarios de estado bentónico que se califican como "aceptables" para los sistemas de jaulas en los lagos de agua dulce, así como dos ejemplos con un estado bentónico "inaceptable".

	Zonas de seguimiento (Fig. 2)*	Muestreo requerido y distancia a la explotación	Resultado del análisis de las muestras - Categoría del EQS por zona de control	Estado bentónico
--	--------------------------------	---	--	------------------



		(borde de la jaula)**		
Escenario 1	Zonas de explotación 1 y 2, y zona de referencia	Zona 1: 30 m	Estado moderado o mejor	Aceptable
		Zona 2: 100 m	Excelente estado	
		Zona de referencia: 150 m	Excelente estado	
Escenario 2	Zonas de explotación 1 y 2, y zona de referencia	Zona 1: 30 m Zona 2: 100 m Zona de referencia: 150 m	Buen estado	Aceptable
Escenario 3	Zonas de explotación 1 y 2, y zona de referencia	Zona 1: 30 m Zona 2: 100 m Zona de referencia: 150 m	Estado moderado	Aceptable
Escenario 4	Zonas de explotación 1 y 2	Zona 1: 30 m Zona 2: 100 m	Estado pobre o malo	Inaceptable
Escenario 5	Zona de referencia	Zona de referencia: 150 m	Estado pobre o malo	Inaceptable

\*1 o 4 lugares de muestreo dentro de cada zona, dependiendo de si se realiza un muestreo de nivel 1 o de nivel 2 o 3.

\*\*La categoría de estado ecológico para las zonas 1 y 2 debe alcanzarse por la distancia a la granja indicada en esta columna.

C. Sistemas suspendidos de moluscos marinos:

Los lugares de muestreo se establecerán a lo largo de transectos que van desde 30 m dentro del límite de la granja (zona de control de la granja) hasta 30 m fuera del límite (zona de referencia) (Figura 3).

Tabla 5: Tres posibles escenarios de estado bentónico que se califican como “aceptables” (2.6.2) para el molusco marino suspendido, así como dos ejemplos con un estado bentónico “inaceptable”.

	Zonas de control (Fig. 3)	Muestreo necesario y distancia a la granja	Resultado del análisis de las muestras - Categoría del EQS por zona de control	Estado bentónico
Escenario 1	Granja y zona de referencia	0, 10, 20 y 30 m dentro del límite de la granja	Estado moderado o mejor	Aceptable
		Zona de referencia: 10, 20 y 30 m fuera del límite de la granja	Excelente estado	
Escenario 2	Granja y zona de referencia	0, 10, 20 y 30 m dentro del límite de la granja	Estado moderado o bueno	Aceptable
		Zona de referencia: 10, 20 y 30 m fuera del límite de la granja	Buen estado	
Escenario 3	Granja y zona de referencia	0, 10, 20 y 30 m dentro del límite de la granja	Estado moderado	Aceptable
		Zona de referencia: 10, 20 y 30 m fuera del límite de la granja	Estado moderado	
Escenario 4	Zona de la granja	0, 10, 20 y 30 m dentro del límite de la granja	Estado pobre o malo	Inaceptable
Escenario 5	Zona de referencia	Zona de referencia: 10, 20 y 30 m fuera del límite de la granja	Estado pobre o malo	Inaceptable

## Sección 1.4 - Calendario del muestreo

#### A. y B. Calendario de muestreo - sistemas de jaulas marinas/salobres y de agua dulce

El muestreo se realizará durante el periodo en el que se espera que el impacto bentónico sea mayor (es decir, el peor escenario). Este periodo puede ocurrir en el momento de mayor alimentación, en el pico de biomasa o durante el periodo de máxima temperatura del agua cuando los procesos de degradación de los residuos son más rápidos. Las granjas proporcionarán información sobre el pico de biomasa y el pico de alimentación previstos, el momento estimado de la temperatura máxima del agua y cuándo se prevé que se produzca el máximo impacto en el bentos. Sobre la base de esta información preliminar, se aplicarán los siguientes requisitos de control:

- El muestreo se realizará durante el último año de cada ciclo de producción en la instalación y dentro de los 30 días siguientes al pico de alimentación, al pico de biomasa o a la temperatura máxima del agua, según la predicción de la granja sobre el mayor impacto bentónico.
- En el caso de que se produzcan múltiples picos de alimentación/biomasa en cualquier año, el muestreo se realizará en las dos semanas siguientes a la temperatura máxima anual estimada del agua.
- En el caso de biomasa sostenida en los meses anteriores a la recolección, el muestreo se realizará dos semanas antes de la fecha final de recolección.

#### C. Calendario de muestreo - sistemas suspendidos de moluscos marinos

- En el caso de las granjas de moluscos que contengan una sola cohorte, el muestreo se realizará en el último año de producción dentro de los 30 días siguientes al pico de biomasa.
- En las granjas de moluscos que contengan más de un ciclo de producción (varias cohortes presentes con el potencial de múltiples picos de biomasa), el muestreo se realizará anualmente dentro de los 30 días siguientes al momento de la temperatura máxima estimada del agua.

Después de demostrar resultados constantes durante tres años, las granjas con una o varias cohortes pueden reducir el muestreo a una vez cada cinco años, siempre que no haya habido cambios significativos en las prácticas en las granjas.

### **Sección 1.5 - Método de muestreo estratificado**

El programa de monitoreo bentónico emplea un enfoque de evaluación escalonado en el que el número de lugares de muestreo y la complejidad del análisis de las muestras aumenta en relación con los datos de riesgo o de monitoreo preliminar. Los operadores de las granjas pueden decidir comenzar el monitoreo en cualquiera de los siguientes estratos de monitoreo basados en el desempeño anterior de la granja.

El monitoreo y el análisis de las muestras deben ser realizados por personal independiente de la empresa propietaria de la granja o aprobado por los reguladores regionales/nacionales. El personal que realice este trabajo deberá recibir formación y demostrar su competencia y destreza en el uso de todas las metodologías y tecnologías requeridas empleadas según los requisitos revisados.

#### A. Protocolo de muestreo - sistemas de jaulas marinas/salobres

## Nivel 1

- Se recogerán muestras de sedimentos por triplicado en tres lugares de muestreo diferentes (es decir, a 30, 100 y 150 metros de la granja [borde del conjunto de jaulas]), y en la zona de referencia, en la dirección de la corriente predominante.
- Cada muestra de sedimento se analizará inmediatamente a bordo del buque de prospección para determinar el sulfuro libre total ( $S^{2-}$ ; por triplicado [9 análisis en total para cada lugar de muestreo]) y el potencial redox ( $Eh$ : medida única [3 análisis en total para cada lugar de muestreo]) en los sedimentos superficiales (de 0 a 2 cm de profundidad) utilizando los métodos de análisis rápido sobre el terreno indicados en la sección 1.7.
- Las muestras de sedimentos se analizarán y los resultados se interpretarán inmediatamente a bordo del buque de muestreo. Para interpretar los resultados, los valores medios de los análisis de 9  $S^{2-}$  y 3  $Eh$  se comparan con la tabla 2 para identificar la categoría de EQS, y se comparan con la tabla 3 para determinar si las categorías de EQS en todas las zonas de seguimiento conducen a un estado bentónico aceptable.
- Si los resultados del análisis de las muestras de sedimentos de ambos indicadores y de cada zona de monitoreo indican un estado bentónico aceptable, no se requiere un monitoreo adicional.
- Si en cualquiera de las tres zonas el estado bentónico es inaceptable, se aplicará inmediatamente el control del estrato 2.

## Nivel 2

- La recogida y el análisis de muestras de sedimentos se llevarán a cabo como en el nivel 1, pero en tres direcciones adicionales de acuerdo con el gráfico 1.
- Si los resultados<sup>3</sup> del análisis de las muestras de sedimentos de ambos indicadores y de cada zona de control indican un estado bentónico aceptable, no se requiere un control adicional.
- Si cualquiera de las tres zonas conduce a un estado bentónico inaceptable, el riesgo de impacto en la comunidad bentónica se estima alto, y la UoC aplicará inmediatamente el seguimiento de nivel 3 para caracterizar mejor los impactos espaciales empleando el monitoreo de indicadores bióticos.

## Nivel 3

- Se tomarán muestras por triplicado en los mismos lugares de muestreo que en el nivel 2.
- Las muestras tomadas se tamizarán a través de una malla de 1,0 mm y todos los organismos se conservarán para su análisis taxonómico.
- Las muestras tomadas se analizarán para tres indicadores bióticos de la tabla 2.
- Los resultados del análisis de los tres indicadores bióticos se compararán con la tabla 2 para determinar la categoría de EQS dominante por zona de control<sup>4</sup>.

---

<sup>3</sup>Valor medio por indicador y por zona de control, derivado de 36 puntos de datos: tres réplicas de análisis para cada una de las muestras triplicadas, para cada uno de los cuatro lugares de muestreo por zona.

<sup>4</sup> De las 12 categorías de EQS dentro de una zona de monitoreo (3 indicadores bióticos por 4 lugares de muestreo), las dominantes, p. ej., 6 o más, determinan la categoría de EQS para la zona de monitoreo. Por ejemplo, en el caso de 6 EQS de estado moderado y 6 de estado deficiente, el EQS dominante puede considerarse como estado moderado (lo que conduce a un estado bentónico aceptable en la zona 1 según la tabla 3). En el caso de 5 EQS de estado moderado y 7 de estado deficiente, el EQS dominante es el de estado deficiente (lo que conduce a un estado bentónico inaceptable en la zona 1 según la tabla 3).

- Si la categoría de EQS dominante de cada zona de monitoreo indica un estado bentónico aceptable, no se requiere un monitoreo adicional.
- Si cualquiera de las tres zonas de monitoreo conduce a un estado bentónico inaceptable, entonces la granja no cumple con el indicador 2.6.2, a menos que los resultados de las muestras tomadas en la zona de referencia a 500 metros de distancia de la granja (borde del conjunto de jaulas) proporcionen un EQS más bajo. Los datos de monitoreo de indicadores de los lugares de muestreo de referencia se utilizarán para determinar el EQS de la zona de referencia que se aplica a la granja. Por ejemplo, si la zona de referencia aparece como “moderada”, entonces la misma categoría en las zonas 1, 2 y 3 es aceptable. Los requisitos de los indicadores revisados propuestos no permiten la certificación cuando la Zona de Referencia se muestra “deficiente” o “mala”.
- En los casos en los que el impacto bentónico potencial de una granja pueda interferir con otra granja (por ejemplo, el sitio de referencia se encuentra a menos de 200 m de la granja adyacente), la ubicación o la dirección del transecto de interferencia puede ajustarse para ayudar a evitar las posibles interacciones de la granja. Lo mismo se aplica a cualquier transecto/estación de muestreo que se cruce con tierra firme. Las direcciones de los transectos también pueden modificarse para evitar el muestreo en zonas donde la profundidad del agua cambia rápidamente a lo largo del transecto. En todos los casos se requieren cuatro transectos de muestreo, cada uno de los cuales debe estar lo más cerca posible de 90 grados entre sí.

Cada estrato de monitoreo se resume en la tabla 6.

Tabla 6: Programa de monitoreo bentónico para sistemas de jaulas marinas/salobres - Método de evaluación escalonado

Nivel	Descripción	Indicadores	Lugares de muestreo
Nivel 1	<b>Examen rápido:</b> evaluación del impacto de las granjas de bajo coste utilizando mediciones abióticas prácticas y casi en tiempo real para determinar el riesgo de los impactos del enriquecimiento orgánico.	$S^2$ y $Eh$	A 30, 100, 150 y 500 m de distancia en la dirección de la corriente predominante.
Nivel 2	<b>Delimitación del impacto:</b> mejora del análisis espacial de los impactos abióticos en torno a la granja mediante herramientas prácticas de seguimiento.	$S^2$ y $Eh$	Igual que el nivel 1, pero incluyendo el muestreo en tres direcciones adicionales.
Nivel 3	<b>Impacto biótico:</b> caracterización exhaustiva de los impactos bióticos en torno a la granja.	3 indicadores bióticos de la tabla 2	Los mismos lugares que en el nivel 1 y en el nivel 2.

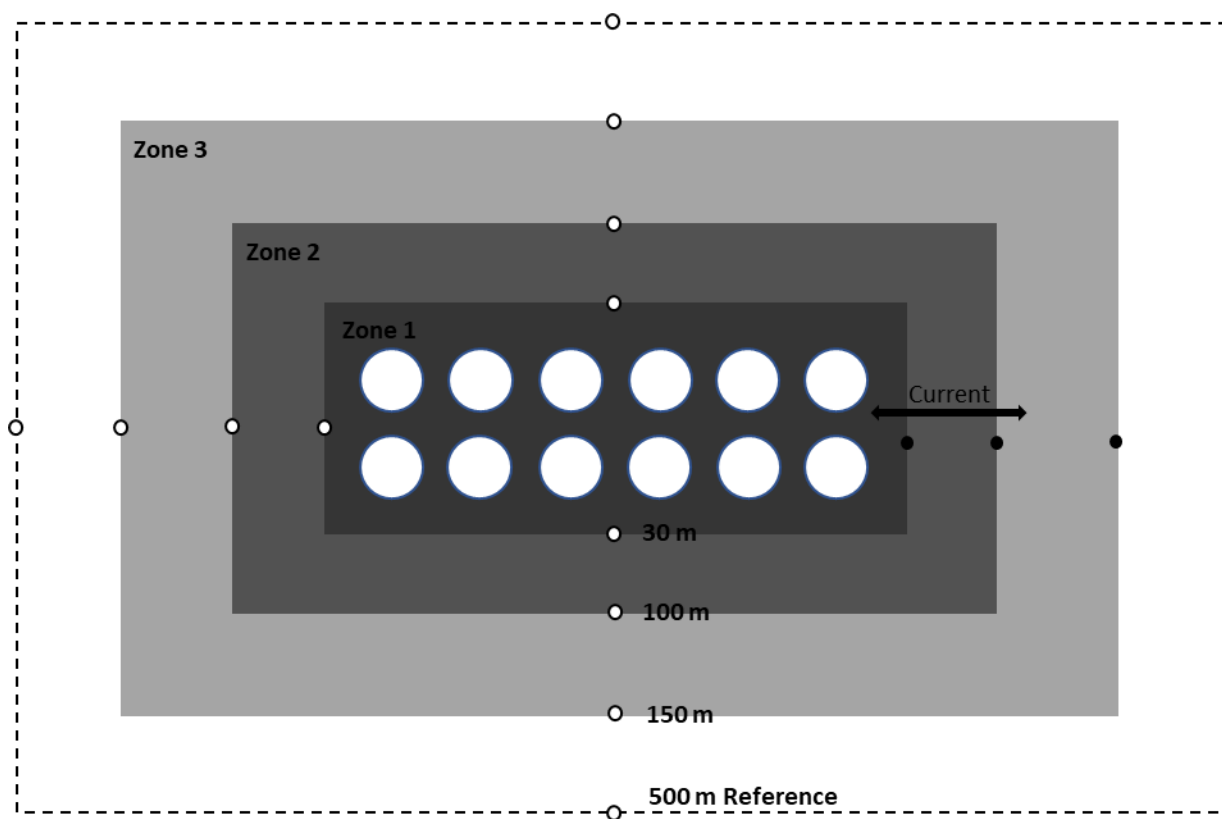


Figura 1. Esquema de los lugares de muestreo y de las zonas de EQS bajo los programas de seguimiento de nivel 1 (●), 2 (● y ○) y 3 (● y ○) para las jaulas marinas/salobres. Las zonas de control de EQS se muestran con sitios de muestreo situados en el límite exterior de cada zona.

## B. Protocolo de muestreo - Sistemas de jaulas en lagos de agua dulce

### Nivel 1

- Se recogerán muestras de sedimentos por triplicado en dos lugares de muestreo diferentes, p. ej., a 30 y 100 metros de la granja (borde del conjunto de jaulas), y en un lugar de referencia.
- Cada muestra de sedimento se analizará inmediatamente para determinar el potencial redox, el pH y el nitrógeno amoniacal total (NAT) (una sola medida para cada uno de los tres indicadores [9 análisis en total para cada lugar de muestreo]) en los sedimentos superficiales (de 0 a 2 cm de profundidad) utilizando los métodos de análisis rápido sobre el terreno indicados en la sección 1.7.
- Las muestras de sedimentos se analizarán y los resultados se interpretarán inmediatamente. Para interpretar los resultados, los valores medios de los análisis de 3 Eh, 3 pH y 3 NAT se comparan con la tabla 2 para identificar la categoría de EQS y se comparan con la tabla 4 para determinar si los resultados de todas las zonas de monitoreo conducen a un estado bentónico aceptable.
- Si los resultados de los análisis de las muestras de sedimentos de los tres indicadores y de cada una de las dos zonas de monitoreo indican un estado bentónico aceptable, no se requiere un monitoreo adicional.
- Si en cualquiera de las dos zonas se produce un estado bentónico inaceptable, se aplicará

inmediatamente el monitoreo de nivel 2.

## Nivel 2

- La recogida y el análisis de muestras de sedimentos se llevarán a cabo como en el nivel 1, pero en tres direcciones adicionales, según la figura 2.
- Si los resultados<sup>5</sup> de los análisis de las muestras de sedimentos de los tres indicadores y de cada zona de monitoreo indican un estado bentónico aceptable, no se requiere un monitoreo adicional.
- Si cualquiera de las dos zonas conduce a un estado bentónico inaceptable, se estima que el riesgo de impacto en la comunidad bentónica es alto, y la UoC aplicará el monitoreo de estrato 3 para caracterizar aún más los impactos espaciales empleando el monitoreo de indicadores bióticos.

## Nivel 3

- Se tomarán muestras por triplicado en los mismos lugares de muestreo que en el nivel 2.
- Las muestras tomadas se tamizarán a través de una malla de 1,0 mm y todos los organismos se conservarán para su análisis taxonómico.
- Las muestras tomadas se analizarán para tres indicadores bióticos de la tabla 2.
- Los resultados del análisis de los tres indicadores bióticos se compararán con la tabla 2 para determinar la categoría de EQS dominante por zona de monitoreo<sup>6</sup>.
- Si la categoría de EQS dominante de cada zona de monitoreo indica un estado bentónico aceptable, no se requiere un monitoreo adicional.
- Si alguna de las dos zonas da lugar a un estado bentónico inaceptable, la granja utilizará los resultados de las muestras tomadas en la zona de referencia a 150 metros de distancia de la granja (borde del conjunto de jaulas) para confirmar si proporcionan un EQS inferior. Los datos de monitoreo de indicadores de los lugares de muestreo de referencia se utilizarán para determinar el EQS de la zona de referencia que se aplica a la granja. Por ejemplo, si la zona de referencia se muestra como “moderada”, entonces la misma categoría en la zona 1 y 2 es aceptable. Los requisitos de los indicadores revisados que se proponen, cuando sean efectivos, no permitirán la certificación cuando la zona de referencia se muestre como “mala” o “deficiente”.
- En los casos en los que el impacto bentónico potencial de una granja pueda interferir con otra granja (por ejemplo, el sitio de referencia se encuentra a menos de 200 m de la granja adyacente), la ubicación o la dirección del transecto de interferencia puede ajustarse para ayudar a evitar las posibles interacciones de la granja. Lo mismo se aplica a cualquier transecto/estación de muestreo que se cruce con tierra firme. Las direcciones de los transectos también pueden modificarse para evitar el muestreo en zonas donde la profundidad del agua cambia rápidamente a lo largo del transecto. En todos los casos se requieren cuatro transectos

---

<sup>5</sup> Valor medio por indicador y zona de seguimiento, derivado de 12 puntos de datos: un único análisis para cada una de las muestras por triplicado, para cada uno de los cuatro transectos de muestreo

<sup>6</sup> De las 12 categorías de EQS dentro de una zona de monitoreo (3 indicadores bióticos por 4 lugares de muestreo), las dominantes, p. ej., 6 o más, determinan la categoría de EQS para la zona de monitoreo. Por ejemplo, en el caso de 6 EQS de estado moderado y 6 de estado deficiente, el EQS dominante puede considerarse de estado moderado. En el caso de 5 EQS de estado moderado y 7 EQS de estado pobre, el EQS dominante es el de estado pobre.

de muestreo, cada uno de los cuales debe estar lo más cerca posible de 90 grados entre sí.

Cada estrato de monitoreo se resume como se muestra en la tabla 7:

Tabla 7: Programa de seguimiento bentónico de sistemas de jaulas en lagos de agua dulce - Método de evaluación escalonado

Nivel	Descripción	Indicadores	Lugares de muestreo
Nivel 1	<b>Examen rápido:</b> evaluación del impacto de las granjas de bajo coste utilizando mediciones abióticas prácticas y casi en tiempo real para determinar el riesgo de los impactos del enriquecimiento orgánico.	<i>Eh</i> , pH, NAT	A 30, 100 y 150 m de distancia en la dirección de la corriente predominante.
Nivel 2	<b>Delimitación del impacto:</b> mejora del análisis espacial de los impactos abióticos en torno a la granja mediante herramientas prácticas de seguimiento.	<i>Eh</i> , pH, NAT	Igual que el nivel 1, pero incluyendo el muestreo en tres direcciones adicionales.
Nivel 3	<b>Impacto biótico:</b> caracterización exhaustiva de los impactos bióticos en torno a la granja.	3 indicadores bióticos de la tabla 2	Los mismos lugares que el nivel 2.



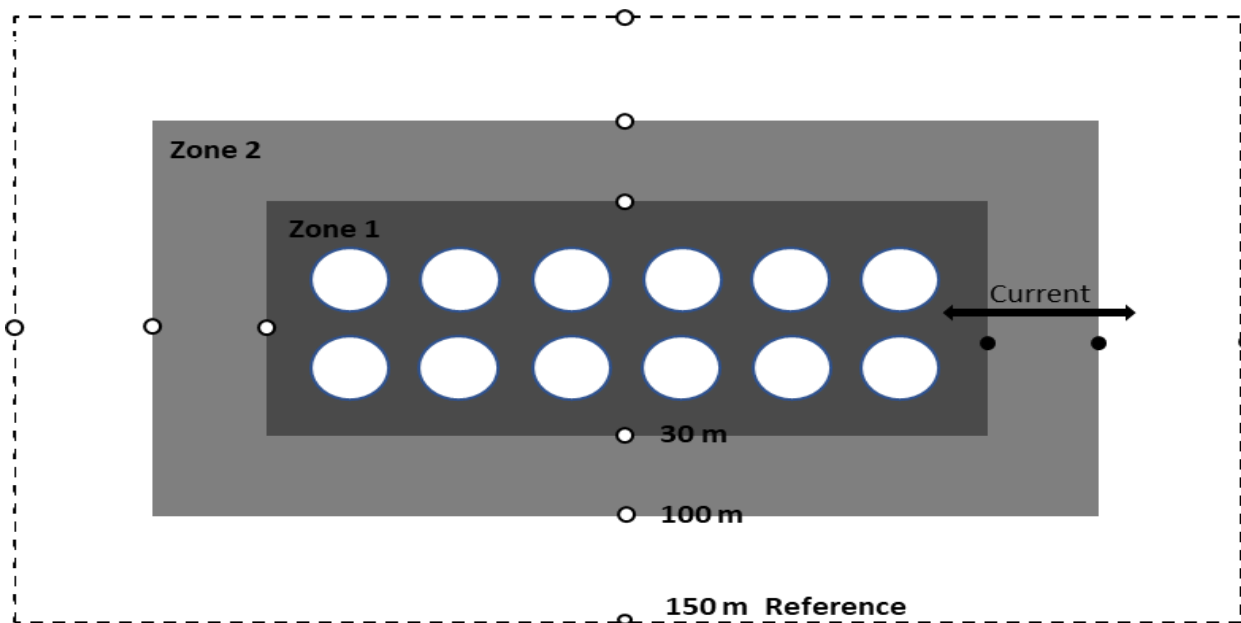


Figura 2 Esquema de los lugares de muestreo y de las zonas de EQS de los programas de monitoreo de nivel 1 (●), 2 (● y ○) y 3 (● y ○) para las jaulas de agua dulce. Las zonas de control de EQS se muestran con sitios de muestreo situados en el límite exterior de cada zona.

### C. Protocolo de muestreo - Sistemas suspendidos de moluscos marinos

#### Nivel 1

- Se recogerán muestras de sedimentos por triplicado en cada uno de los siete lugares de muestreo situados a 10 m de distancia a lo largo de un único transecto que discurre en la dirección de la corriente predominante (Figura 2).
- Cada muestra de sedimento se analizará inmediatamente a bordo del buque de prospección para determinar el sulfuro libre total ( $S^{2-}$ ; por triplicado [9 análisis en total por cada lugar de muestreo]) y el potencial redox ( $Eh$ : medida única [3 análisis en total por cada lugar de muestreo]) en los sedimentos superficiales (de 0 a 2 cm de profundidad) utilizando los métodos de análisis rápido sobre el terreno indicados en la sección 1.7.
- Las muestras de sedimentos se analizarán y los resultados se interpretarán inmediatamente a bordo del buque de muestreo. Para interpretar los resultados, los valores medios de todos los análisis de  $S^{2-}$  y  $Eh$  en los cuatro lugares de muestreo situados en el límite de la granja y dentro de ella se comparan con la tabla 2 para identificar la categoría de EQS, y se comparan con la tabla 5 para determinar si el EQS es aceptable, es decir, un estado moderado o mejor.
- Si los resultados de los análisis de las muestras de sedimentos indican un estado bentónico aceptable -p. ej., “moderado” o mejor, no se requiere ningún control adicional.
- Si se determina un estado bentónico inaceptable, se aplicará inmediatamente el monitoreo de nivel 2.

#### Nivel 2

- La recogida y el análisis de muestras de sedimentos se llevarán a cabo como en el nivel 1, pero en tres direcciones adicionales, según la figura 3.
- Si el resultado<sup>7</sup> del análisis de la muestra de sedimento indica un estado bentónico aceptable, por ejemplo, estado moderado o mejor de los EQS, no se requiere ningún monitoreo adicional.
- Si se determina un estado bentónico inaceptable, se estima que el riesgo de impacto en la comunidad bentónica es alto, y la UoC aplicará de inmediato el monitoreo de nivel 3 para caracterizar mejor los impactos espaciales empleando el monitoreo de indicadores bióticos.

### Nivel 3

- Se recolectarán muestras puntuales por triplicado en los mismos lugares descritos en el nivel 2.
- Las muestras tomadas se tamizarán a través de una malla de 1,0 mm y todos los organismos se conservarán para su análisis taxonómico.
- Las muestras tomadas se analizarán para tres indicadores bióticos de la tabla 2. Las tres medidas bióticas se promediarán por indicador para determinar los EQS para cada lugar de muestreo dentro de la piscifactoría y en el límite.
- Si los resultados calculados indican un estado bentónico aceptable, por ejemplo, estado moderado o mejor de los EQS para los tres indicadores bióticos, no se requiere ningún monitoreo adicional.
- Si se determina un estado bentónico inaceptable, entonces la piscifactoría no cumple el indicador 2.6.2.
- No se permite la certificación cuando la zona de referencia es “pobre” o “mala”.

Cada nivel de monitoreo se resume en la tabla 8:

Tabla 8: Programa de monitoreo bentónico de los sistemas de moluscos marinos en suspensión – Método de evaluación escalonado

Nivel	Descripción	Indicadores	Lugares de muestreo
Nivel 1	<b>Examen rápido:</b> evaluación del impacto de las granjas de bajo coste utilizando mediciones abióticas prácticas y casi en tiempo real para determinar el riesgo de los impactos del enriquecimiento orgánico.	$S^2$ y $Eh$	Siete lugares de muestreo ubicados a una distancia de 10 m a lo largo de un único transecto dispuesto en la dirección de la corriente principal*.
Nivel 2	<b>Delimitación del impacto:</b> mejora del análisis espacial de los impactos abióticos en torno a la granja mediante herramientas prácticas de seguimiento.	$S^2$ y $Eh$	Igual que el nivel 1, pero incluyendo muestreos en tres transectos adicionales*.

<sup>7</sup>Valor medio, obtenido de 144 puntos de datos: tres repeticiones de análisis por cada una de las muestras triplicadas, para cada uno de los cuatro lugares de muestreo y cada uno de los cuatro transectos dentro de la piscifactoría y en el límite.

Nivel 3	<b>Impacto biótico:</b> caracterización exhaustiva de los impactos bióticos en torno a la granja.	3 indicadores bióticos de la tabla 2	Los mismos lugares que el nivel 2.
---------	---	--------------------------------------	------------------------------------

\*Si el límite de una piscifactoría es contiguo a otra, se pueden reubicar los transectos adicionales a un lugar que cruce tanto las condiciones de la piscifactoría como las de referencia.

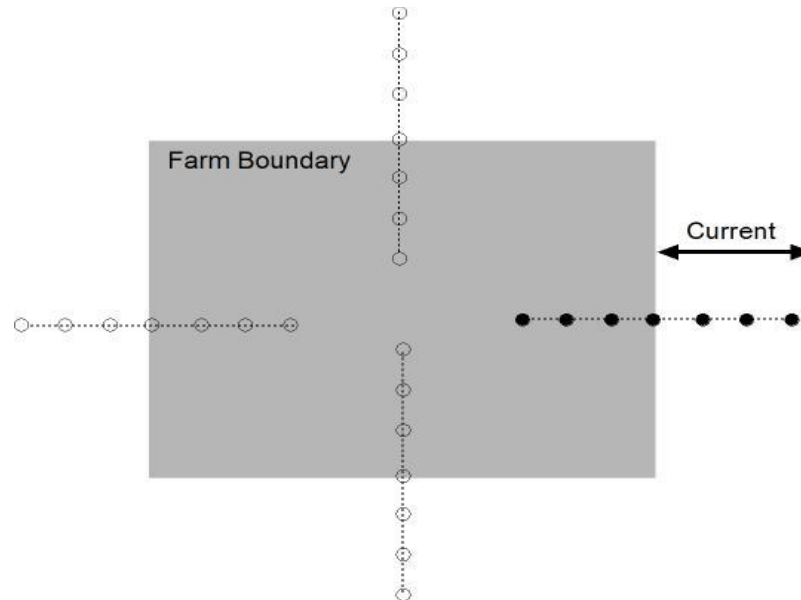


Figura 3: Esquema de los lugares de muestreo según los programas de monitoreo de los niveles 1 (●), 2 (● y ○) y 3 (● y ○). Los lugares de muestreo en cada transecto están separados por 10 m y la estación central está situado en el límite de la piscifactoría.

### Sección 1.6 – Programa de monitoreo definido por el personal operador

Los requisitos de monitoreo de eutrofización bentónica otorgan cierta flexibilidad al personal operador para utilizar un método que se ajuste a los requisitos reglamentarios regionales, mientras demuestran la capacidad para detectar los mismos umbrales para los indicadores de eutrofización en todas las zonas de monitoreo espacial provistas (ver las figuras 1, 2 y 3). Este método de monitoreo no prescriptivo pretende reconocer el monitoreo y la regulación exhaustiva de la acuicultura en ciertas jurisdicciones/países y fomentar la innovación. Aunque el ASC no exige el uso del programa de monitoreo bentónico del ASC, es responsabilidad del personal operador presentar al ASC un argumento muy detallado y convincente de que su programa de monitoreo de la piscifactoría cumple los siguientes requisitos:

- a) El método de monitoreo definido por el personal operador debe ajustarse con el objetivo general de los requisitos de monitoreo de eutrofización bentónica revisados.
  - El personal operador redactará un declaración que describa con claridad su política ambiental y cómo su método de monitoreo es capaz de minimizar, mitigar o eliminar los efectos negativos que la eutrofización del lecho marino tiene sobre el hábitat, la biodiversidad y el ecosistema bentónico.

b) El programa cuantificará la magnitud y la escala espacial de los impactos bentónicos debido a la eutrofización adyacente a la piscifactoría utilizando metodologías probadas. El programa:

- Informará sobre el diseño de muestreo, incluyendo todos los lugares de muestreo y el rango de distancias a la piscifactoría (según las tablas 3, 4 y 5), las metodologías de muestreo bentónicos utilizadas y el número de repeticiones.
- Proporcionará una justificación para la selección de estación de referencia que se ajuste a la intención del ASC de cuantificar las interacciones espaciales y temporales anuales entre la piscifactoría y el ambiente bentónico natural circundante.
- Proporcionará una justificación para el calendario de monitoreo que se ajuste al máximo potencial de impactos bentónicos. Aunque se espera que el muestreo se anual, cualquier propuesta para reducir su frecuencia requeriría una justificación sólida.
- Describirá todos los indicadores de impacto que utilice y los procedimientos de preparación y análisis de muestra.

c) El programa de monitoreo definido por el personal operador debe abordar objetivos de calidad ecológica bentónica que sean al menos tan estrictos como los descritos en los requisitos bentónicos del ASC. El programa:

- Describirá el marco de decisiones de la gestión de la piscifactoría que se empleará, incluyendo los umbrales de los indicadores bentónicos cuantitativos que orientan estas decisiones y la justificación de la selección de estos umbrales.
- Comparará y demostrará la compatibilidad entre las clasificaciones de impacto definidas por el personal operador y el sistema de categorías de los EQS definido en las tablas 1 y 2.

*El programa de monitoreo definido por el personal operador será examinado previamente por el ASC para comprobar su compatibilidad con el objetivo, la justificación, la intención y los requisitos generales de los requisitos revisados. Los programas que parezcan cumplir los criterios generales serán revisados externamente por un panel internacional de investigadores con experiencia en interacciones entre la acuicultura y el ambiente para garantizar que cumplen el objetivo general y los requisitos específicos. Dada las extensas y estrictas modificaciones de los requisitos de monitoreo, solo se prevé la aprobación de programas definidos por el personal operador en casos aislados. El ASC anima al personal operador a aplicar el Programa de monitoreo bentónico del ASC.*

## **Sección 1.7 – Procedimientos operativos estándar para el análisis en terreno de los indicadores abióticos utilizados en los niveles 1 y 2**

### **A. Análisis en terreno de sulfuros libres totales ( $S^2$ ) mediante espectrofotometría UV directa**

La metodología incluye la toma de muestra en terreno y el análisis del agua capilar en los sedimentos superficiales (grabas o testigos de sondeo) como se describe en Cranford *et al.* (2017) y modificado en Cranford *et al.* (2020).

#### **Lista de materiales**

- Espectrofotómetro UV adecuado para uso en terreno (p. ej., el nanofotómetro móvil IMPLEN C40)<sup>8</sup>.
- Cubeta de cuarzo: campo de espectro 200-2500 nm, longitud del recorrido 10 mm, capacidad 1,4 ml (p. ej., Hellma Analytics N.º 104-B-10-40). Es necesario que sea de cuarzo<sup>9</sup>.
- Extractores de agua capilar RhizoCera de 5 cm<sup>10</sup>.
- Jeringa de 10 cc.
- Resortes de compresión de acero inoxidable que se ajusten al interior de la jeringa de 10 cc.
- Jeringa estanca a gases de 100 µL<sup>11</sup>.
- Pipeta o dosificador de 1 mL para enjuagar la cubeta y para las diluciones de las muestras.
- Hidróxido de amonio de 0,44 M o concentración similar.
- Entre 8 y 10 tiras de pH para ajustar el agua de dilución (basta con agua potable).
- Sulfuro WP – Material de referencia certificado (disponible en Sigma: QC1034-20 mL) para la calibración de los instrumentos una vez al mes<sup>12</sup>.
- Pipetas de 1 y 5 L y viales de 10 a 20 mL para preparar las soluciones estándar.
- Paños antiestáticos de fibra óptica (p. ej. Kimwipes) para limpiar las superficies de las cubetas.

### Extracción de agua capilar

- 1) Drenar el agua en el muestreador de sedimentos hasta la superficie del sedimento.
- 2) Presionar el émbolo con una jeringa con resorte de acero inoxidable, colocar el RhizoCera e insertarlo en la superficie del sedimento en un ángulo de 45°. Soltar el émbolo para empezar la extracción del agua capilar de 0 a 2 cm de profundidad.
- 3) Después de unos 2 minutos, la jeringa debería contener suficiente agua capilar (0,5 a 1 mL).
- 4) Retirar la jeringa del sedimento y luego el RhizoCera. Desechar el agua de la jeringa, ya que solo se utiliza para enjuagar el RhizoCera.
- 5) Introducir la aguja de la jeringa de 100 µL directamente en el interior del RhizoCera y extraer la muestra de 100 µL.
- 6) Enjuagar cualquier sedimento de la parte exterior del RhizoCera antes de volver a utilizarlo.

Nota: el interior del RhizoCera se enjuaga de forma automática entre muestras durante el procedimiento de extracción.

### Análisis de espectrofotometría UV

- 1) Encender el espectrofotómetro y, si es posible, seleccionar la salida de datos para las longitudes de onda de 230, 240 y 250 nm. De lo contrario, guardar todo el análisis de la muestra completa.
- 2) Añadir pequeñas cantidades de hidróxido de amonio a 1 L de agua de dilución hasta que el pH esté entre 8 y 10. Este volumen de agua de dilución tamponada es suficiente para el uso diario.
- 3) Enjuagar la cubeta de cuarzo y añadir 1 mL del agua tamponada.

<sup>8</sup> <https://www.implen.de/product-page/implen-nanophotometer-c40-cuvette-spectroscopy/>

<sup>9</sup> <https://www.hellma.com/en/home/>

<sup>10</sup> <https://www.rhizosphere.com/rhizocera>

<sup>11</sup> <https://www.hamiltoncompany.com/laboratory-products/syringes/80630>

<sup>12</sup> <https://www.sigmaaldrich.com>

- 4) Limpiar el exterior de la cubeta con un paño antiestático y colocarla en el instrumento. Poner a cero el instrumento con una solución en blanco. Se recomienda realizar este paso con regularidad.
- 5) Añadir los 100  $\mu\text{L}$  de la muestra de agua capilar a la cubeta que contiene 1 mL de agua tamponada, darle la vuelta para mezclarlo y registrar las absorbancias en las tres longitudes de onda. La mayoría de los instrumentos pueden guardar el análisis completo.
- 6) Retirar la cubeta, enjuagar con agua tamponada y prepararla para la siguiente muestra.
- 7) Calcular la concentración de sulfuros libres totales utilizando los valores de absorbancia y las ecuaciones de regresión determinadas por el procedimiento de calibración que se indica a continuación. Aunque los datos de absorción se proporcionan para tres longitudes de onda, los  $S^{2-}$  solo se calculan utilizando la longitud de onda más baja que ofrezca absorbancias inferiores a 2. Si la absorbancia a 230 nm es  $>2$ , entonces emplear la absorbancia a 240 nm, etc.

### Calibración del instrumento

La calibración es muy estable y solo es necesario realizarla una vez al mes para asegurarse de que el instrumento no se ha dañado. Se utiliza un material de referencia certificado (CRM, en inglés; Sulfuro WP), según la normativa ISO, de concentración conocida como solución madre para preparar cinco estándares de trabajo mediante dilución en serie (1:2, 1:5, 1:10, 1:50 y 1:100).

- 1) Diluir la solución madre del CRM para preparar las cinco concentraciones conocidas utilizando pipetas y el agua tamponada.
- 2) Poner a cero el instrumento y analizar los estándares utilizando el mismo procedimiento que para las muestras, incluyendo la dilución con un 1 mL de agua tamponada. Registrar los resultados para las tres longitudes de onda (230, 240 y 250 nm), omitiendo cualquier absorción superior a 2,0.
- 3) Calcular las tres ecuaciones de calibración (una para cada longitud de onda) utilizando un análisis de regresión ( $x$  = absorbancia a la longitud de onda seleccionada e  $y$  = concentración estándar en  $\mu\text{M}$ ), excluyendo cualquier valor de absorbancia superior a 2,0.

Nota: Los siguientes rangos de concentración de  $S^{2-}$  se aplican normalmente para las tres longitudes de onda:

230 nm: 0 a 2000  $\mu\text{M}$  (adecuado para calcular todas las condiciones de los EQS desde “excelente” a “malo”)

240 nm: 2000 a 4000  $\mu\text{M}$

250 nm: 4000 a 10 000  $\mu\text{M}$

Nota: Se puede utilizar 260 nm para concentraciones más altas.

### B. Medición del potencial redox ( $E_h$ )

El  $E_h$  se puede medir directamente en la draga o el testigo de sondeo utilizando una sonda de potencial redox (ORP, en inglés) mediante un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata o de platino. La sonda de ORP debe ser calibrada, operada y mantenida de acuerdo con las estrictas especificaciones del fabricante. Las mediciones del ORP (denominadas ORP,  $E_{\text{Ag/AgCl}}$  o  $E_{\text{Pt}}$ ) son por sí mismas ambiguas y el personal operador solo podrá interpretar los datos especificando la escala

de referencia. Las mediciones del ORP convertidas a una escala de hidrógeno se presentan como “*Eh*” y en algunas publicaciones se designan como *Eh<sub>NHE</sub>*. Los datos del ORP (mV) obtenidos en terreno con electrodos de Ag/AgCl o Pt se convierten a la escala de hidrógeno de la siguiente manera:

$$Eh = \text{ORP (mV)} + \text{potencial del electrodo de referencia de media celda}$$

Donde el potencial del electrodo de referencia de media celda de Ag/AgCl o Pt está relacionado con la molaridad de la solución de relleno y la temperatura.

**Tabla 9: Potencial del electrodo de referencia de media celda de Ag/AgCl**

T (°C)	Molaridad de la solución de relleno de KCl				
	1,5 M	3 M	3,3 M	3,5 M	4 M
5	254	224	220	219	219
10	251	220	217	215	214
15	249	216	214	212	209
20	244	213	210	208	204
25	241	209	207	205	199
30	238	205	203	201	194

1. Introducir la sonda de ORP directamente en la superficie del sedimento dentro de la draga o del testigo de sondeo hasta ~1 cm de profundidad después de mezclar el sedimento alrededor de la ubicación de la sonda a 2 cm de profundidad. Comprobar que la punta del electrodo de ORP y el sedimento húmedo están totalmente en contacto.
2. Registrar la temperatura de la muestra.
3. La lectura de mV de la sonda de ORP debería estabilizarse después de 1-2 min. Si las condiciones redox no están controladas por reacciones de oxidaciones-reducción simples, como en los sedimentos óxicos, suele haber una desviación lenta y continua de los potenciales del electrodo. Se puede establecer un tiempo arbitrario (3-4 min) para registrar las lecturas de mV si no se estabilizan antes de ese tiempo. En los sedimentos reducidos, los potenciales se suelen estabilizar más rápido.
4. Corregir el potencial redox (mV) en relación con el electrodo de hidrógeno normal, como se ha descrito anteriormente, utilizando la información del fabricante sobre la solución de relleno y los datos sobre la temperatura del sedimento.

### C. Medición del nitrógeno amoniacal total

Nitrógeno amoniacal total (NAT) se compone del ion amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y del amoníaco no ionizado (NH<sub>3</sub>). El NH<sub>3</sub> constituye una mayor proporción de NAT a un pH más alto y se lo suele asociar a la mayoría de los efectos tóxicos del NAT. Al igual que el análisis de sulfuros libres totales, el NAT se mide utilizando muestras de agua capilar extraídas de sedimentos superficiales (de 0 a 2 cm de profundidad). El procedimiento de extracción se describe en la sección 1.7, parte A, y utiliza muestreadores RhizoCera insertados a una profundidad de 2 cm en muestras puntuales. Las submuestras deben recolectarse sin una exposición innecesaria al aire. Se debe evitar atrapar burbujas de aire al llenar y tapar los viales plásticos de muestra.

El *Eh*, el pH y la temperatura de la muestra de sedimento se miden directamente en la muestra puntual (removida en los 2 cm superiores del sedimento) utilizando sondas de ORP, pH y temperatura

mientras se extrae el agua capilar en otra sección de la muestra.

Los métodos apropiados para el análisis del NAT incluyen la espectrofotometría, la fluorometría y la detección electroquímica. El método por electrodo selectivo de iones («ISE» por sus siglas en inglés) de detección de gas (Método Estándar 4500-NH<sub>3</sub> Nitrógeno D y E) es un método aprobado para el análisis del NAT, pero hay que considerar que también puede ser difícil de realizar correctamente. El mayor inconveniente de este método es que requiere al menos 50 ml de muestra y la recolección de esa cantidad de agua capilar para el control rutinario no es práctica en terreno. La tecnología de ISE tiene otras desventajas, como el alto mantenimiento, la calibración constante, el bajo rendimiento a bajas concentraciones de NAT y la sustitución frecuente del sistema de sensores.

Pequeños volúmenes de muestra pueden ser analizados con precisión utilizando una variedad de métodos colorimétricos, manuales y automatizados. El método del fenato (Método Estándar 4500-NH<sub>3</sub> F y G) hace reaccionar al fenol alcalino y el hipoclorito con amoníaco para formar el azul del indofenol. La intensidad del color se mide fotométricamente para determinar la concentración final. El método del salicilato (EPA, 350.1) reacciona a pH 12,6 con iones de hipoclorito e iones de salicilato en presencia de nitroprusiato de sodio como catalizador para formar indofenol. La cantidad de color formada es directamente proporcional al amoníaco de la muestra. Los resultados se leen a 690 nm. Es preferible que las muestras de agua capilar se analicen lo antes posibles después del muestreo (es decir, antes de una hora). Sin embargo, las muestras pueden almacenarse en botellas de plástico hasta un mes en un congelador a menos de -18 °C. Antes de la determinación del amoníaco, las muestras deben dejarse descongelar lentamente, de preferencia durante la noche, en la oscuridad.

Hach® Company obtuvo la homologación de la EPA de Estados Unidos en un método simple de salicilato para uso en aguas residuales basado en la plataforma TNTplus™ Ammonia. Se trata de una prueba sencilla y rentable, de 15 minutos, que no requiere calibración y solo precisa de 0,5 mL de agua capilar. Una análisis independiente (Guadalupe-Blanco River Authority, Seguin, Tx) informó que el límite de cuantificación de este kit Test-In-Tube 831 fue de 1 mg/L, lo cual es suficiente para detectar las concentración de NAT que exceden el umbral de los EQS (tabla 10). Durante el análisis, el pH de la muestra de agua debe ser entre 4-8 y la temperatura de la muestra de agua y de los reactivos deben ser entre 20–23 °C. El equipo necesario consiste en el espectrofotómetro Hach DR3900 y kits reactivos Hach TNTplus 831 Low Range (1-12 mg/L NH<sub>3</sub>-N), que contienen 25 viales de prueba cada uno.

La concentración de NAT, pH, *Eh* y temperatura registrados para los sedimentos recolectados en cada lugar de muestreo se utilizaran para evaluar el cumplimiento de las piscifactorías con jaulas para los sistemas lacustres (ver las tablas 4 y 10).

Tabla 10: Valores de concentración dependientes de la temperatura y el pH para el nitrógeno



amoniaco total (mg/L) que describen el umbral entre los estándares de calidad ecológica moderado y malo<sup>13</sup>. El valor resaltado es el umbral que se aplica a los sedimentos con un pH de 7,0 y temperatura de 20 °C. Se muestra el umbral aplicable para las mediciones realizadas en otras condiciones ambientales de los sedimentos.

pH	Temperature (°C)																													
	0-7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30						
6.5	4.9	4.6	4.3	4.1	3.8	3.6	3.3	3.1	2.9	2.8	2.6	2.4	2.3	2.1	2.0	1.9	1.8	1.6	1.5	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1						
6.6	4.8	4.5	4.3	4.0	3.8	3.5	3.3	3.1	2.9	2.7	2.5	2.4	2.2	2.1	2.0	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.3	1.2	1.1						
6.7	4.8	4.5	4.2	3.9	3.7	3.5	3.2	3.0	2.8	2.7	2.5	2.3	2.2	2.1	1.9	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1						
6.8	4.6	4.4	4.1	3.8	3.6	3.4	3.2	3.0	2.8	2.6	2.4	2.3	2.1	2.0	1.9	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.1						
6.9	4.5	4.2	4.0	3.7	3.5	3.3	3.1	2.9	2.7	2.5	2.4	2.2	2.1	2.0	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1	1.0						
7.0	4.4	4.1	3.8	3.6	3.4	3.2	3.0	2.8	2.6	2.4	2.3	2.2	2.0	<u>1.9</u>	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.1	0.99						
7.1	4.2	3.9	3.7	3.5	3.2	3.0	2.8	2.7	2.5	2.3	2.2	2.1	1.9	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1	1.0	0.95						
7.2	4.0	3.7	3.5	3.3	3.1	2.9	2.7	2.5	2.4	2.2	2.1	2.0	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.3	1.2	1.1	1.0	0.96	0.90						
7.3	3.8	3.5	3.3	3.1	2.9	2.7	2.6	2.4	2.2	2.1	2.0	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.3	1.2	1.1	1.0	0.97	0.91	0.85						
7.4	3.5	3.3	3.1	2.9	2.7	2.5	2.4	2.2	2.1	2.0	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.3	1.2	1.1	1.0	0.96	0.90	0.85	0.79						
7.5	3.2	3.0	2.8	2.7	2.5	2.3	2.2	2.1	1.9	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1	1.0	0.95	0.89	0.83	0.78	0.73						
7.6	2.9	2.8	2.6	2.4	2.3	2.1	2.0	1.9	1.8	1.6	1.5	1.4	1.4	1.3	1.2	1.1	1.1	0.98	0.92	0.86	0.81	0.76	0.71	0.67						
7.7	2.6	2.4	2.3	2.2	2.0	1.9	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.1	1.0	0.94	0.88	0.83	0.78	0.73	0.68	0.64	0.60						
7.8	2.3	2.2	2.1	1.9	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1	1.0	0.95	0.89	0.84	0.79	0.74	0.69	0.65	0.61	0.57	0.53						
7.9	2.1	1.9	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1	1.0	0.95	0.89	0.84	0.79	0.74	0.69	0.65	0.61	0.57	0.53	0.50	0.47						
8.0	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.1	1.0	0.94	0.88	0.83	0.78	0.73	0.68	0.64	0.60	0.56	0.53	0.50	0.44	0.44	0.41						
8.1	1.5	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.1	0.99	0.92	0.87	0.81	0.76	0.71	0.67	0.63	0.59	0.55	0.52	0.49	0.46	0.43	0.40	0.38	0.35						
8.2	1.3	1.2	1.2	1.1	1.0	0.96	0.90	0.84	0.79	0.74	0.70	0.65	0.61	0.57	0.54	0.50	0.47	0.44	0.42	0.39	0.37	0.34	0.32	0.30						
8.3	1.1	1.1	0.99	0.93	0.87	0.82	0.76	0.72	0.67	0.63	0.59	0.55	0.52	0.49	0.46	0.43	0.40	0.38	0.35	0.33	0.31	0.29	0.27	0.26						
8.4	0.95	0.89	0.84	0.79	0.74	0.69	0.65	0.61	0.57	0.53	0.50	0.47	0.44	0.41	0.39	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28	0.26	0.25	0.23	0.22						
8.5	0.80	0.75	0.71	0.67	0.62	0.58	0.55	0.51	0.48	0.45	0.42	0.40	0.37	0.35	0.33	0.31	0.29	0.27	0.25	0.24	0.22	0.21	0.20	0.18						
8.6	0.68	0.64	0.60	0.56	0.53	0.49	0.46	0.43	0.41	0.38	0.36	0.33	0.31	0.29	0.28	0.26	0.24	0.23	0.21	0.20	0.19	0.18	0.16	0.15						
8.7	0.57	0.54	0.51	0.47	0.44	0.42	0.39	0.37	0.34	0.32	0.30	0.28	0.27	0.25	0.23	0.22	0.21	0.19	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.13						
8.8	0.49	0.46	0.43	0.40	0.38	0.35	0.33	0.31	0.29	0.27	0.26	0.24	0.23	0.21	0.20	0.19	0.17	0.16	0.15	0.14	0.13	0.13	0.12	0.11						
8.9	0.42	0.39	0.37	0.34	0.32	0.30	0.28	0.27	0.25	0.23	0.22	0.21	0.19	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.13	0.12	0.12	0.11	0.10	0.09						
9.0	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28	0.26	0.24	0.23	0.21	0.20	0.19	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.13	0.12	0.11	0.11	0.10	0.09	0.09	0.08						

<sup>13</sup>De "Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria For Ammonia – Freshwater 2013. EE. UU. Agencia de Protección Ambiental, Oficina del Agua, Oficina de Ciencia y Tecnología, Washington, DC.