



HØGSKOLEN STORD/HAUGESUND

# Bakteriespredning med ballastvann – mon tro om det hindres kan?



Hovedprosjekt utført ved

Høgskolen Stord/Haugesund - Avd. Haugesund - ingeniørfag

---

*Studieretning: Sikkerhet*

Av: Roger Flage  
Hilde Kallevik

Kandidatnr. 17  
34

---

*Haugesund*

*Våren 2005*



# HOVEDPROSJEKT

**Studenten(e)s navn:** Roger Flage  
Hilde Kallevik

---

**Linje & studieretning** Sikkerhet – Helse, miljø og sikkerhet

**Oppgavens tittel:** *Bakteriespredning med ballastvann – mon tro om det hindres kan?*

**Oppgavetekst:**

Ballastvann er en potensiell kilde til spredning av sykdomsbringende mikroorganismer. Det skal gjennomføres forsøk med et behandlingssystem for ballastvann utviklet av Knutsen OAS for å vurdere om dette har en reduserende effekt på bakterier. Andre mikroorganismer slik som virus, samt høyerestående organismer kan også medføre problemer knyttet til ballastvann, men skal altså ikke undersøkes her. En eventuell reduksjon i bakterieantall skal påvises ut fra kimtalls- og totaltallstillinger av ubehandlet kontra behandlet sjøvann med og uten tilsats av indikatororganismer. Antall behandlingsteknikker som skal undersøkes er 4 (pga. konfidensialitet blir disse ikke spesifisert her.)

**Endelig oppgave gitt:**

**Innleveringsfrist:** Fredag 6. mai 2005 kl. 12.00

**Intern veileder** Geir Høvik Hansen og Jorunn Hafstad

**Ekstern veileder** Per Lothe, Knutsen OAS

**Godkjent av  
studieansvarlig:  
Dato:**



## Forord

Denne rapporten er utarbeidet i forbindelse med et hovedprosjekt (bacheloroppgave) utført ved HMS-ingeniørutdanningen ved Høgskolen Stord/Haugesund våren 2005. Hovedprosjektet har en uttelling på 12 studiepoeng, hvilket utgjør 40 % av arbeidsmengden i et normert semester. Prosjektet blir utført i siste semester av utdanningsløpet, og skal brukes til å arbeide med og løse en konkret problemstilling. I dette arbeidet skal oppsamlede kunnskaper og erfaring fra tidligere i studiet nyttiggjøres. Det praktiske arbeidet belyser tidligere underviste fag på en ny måte, og befester den kunnskap som før bare har eksistert som teori. I tillegg til dette faglige målet skal studentene lære å planlegge sitt arbeide, skrive rapport, og å drive selvstendig arbeid, enten enkeltvis eller i gruppe. Denne rapporten er hovedprosjektets skriftlige del og kommer i tillegg til to muntlige presentasjoner.

Temaet spredning av mikroorganismer med ballastvann ble presentert oss av vår veileder som selv har drevet forskning på området. Det ble sett på flere interessante aspekter og problemstillinger rundt dette, og etter et møte med Knutsen OAS ble problemstillingen avgrenset til å gjelde behandlingssystemer for ballastvann. Problemstillingen syntes da og har senere vist seg som meget interessant og utfordrende. Spesielt appellerte den teknisk-naturvitenskapelige vinklingen, samt mulighetene til å på egen hånd få drive med laboratoriearbeid. Det faglige grunnlaget i gruppen for valget av oppgave er en innføring i mikrobiologi og laboratoriearbeid gitt i faget Biologiske arbeidsmiljøfaktorer.

Rapporten henvender seg i første rekke til Knutsen OAS. Deres ønske med oppgaven var at våre undersøkelser skulle fungere som en innledende studie, slik at eventuelle positive resultater kunne undersøkes nærmere. I andre rekke vil kanskje rapporten være av interesse for forskere på området, andre rederier, myndigheter og maritime organisasjoner.

Papirversjonen av rapporten har et eget vedleggshefte pga. den store data- og papirmengden med forsøksresultater.

Vi vil gjerne få takke Knutsen OAS som har latt oss få gjennomføre dette som har vært et svært interessant og lærerikt arbeid. En spesiell takk går til vår interne veileder, førsteamanuensis Geir Høvik Hansen, for gode råd underveis og i forbindelse med større veivalg og for den positive og oppmuntrende holdning som er vist gjennom hele arbeidsprosessen. En stor takk går også til ekstern veileder, prosjektdirektør Per Lothe ved Knutsen OAS, som har sørget for god tilrettelegging av arbeidsforhold, skaffet til veie nødvendig og relevant informasjon underveis, og ikke minst oppmuntret og engasjert til å legge ned et grundig arbeid i prosjektet. Videre vil vi få takke laboratorieingeniør ved HSH Jorunn Hafstad for opplæring i og hjelp til det laboratoriearbeidet som er utført, og ikke minst for uvurderlige råd og vink under forsøkene. En takk går også til høgskolelektor ved HSH Gisle Kleppe og Forsker I ved UiB Terje Torsvik for innspill til henholdsvis fysikk- og mikrobiologifaglig forståelse. Til operasjon av behandlingssystemet under feltarbeidet har Gunnar Langåker og Gunnar Eide i Knutsen OAS vært til god hjelp.

Haugesund 4.5.2005

.....  
Roger Flage

.....  
Hilde Kallevik



## Innholdsfortegnelse

<b>FORORD</b> .....	<b>3</b>
<b>INNHOLDSFORTEGNELSE</b> .....	<b>4</b>
<b>SAMMENDRAG</b> .....	<b>5</b>
<b>BEGREPSAVKLARINGER</b> .....	<b>6</b>
<b>1 INNLEDNING</b> .....	<b>8</b>
1.1 TEMA OG BAKGRUNN .....	8
1.2 FORMÅL, PROBLEMSTILLING OG MÅL .....	9
1.3 KNUITSEN OAS .....	10
<b>2 LITTERATURSTUDIER</b> .....	<b>12</b>
2.1 SANNSYNLIGHET FOR ETABLERING AV FREMMEDE ORGANISMER .....	12
2.2 REGELVERK .....	13
2.2.1 Internasjonalt .....	13
2.2.2 Norge .....	17
2.2.3 USA .....	18
2.2.4 Problemer knyttet til håndheving av regelverk .....	19
2.3 FORSKNING OG UTVIKLING .....	19
2.3.1 Dokumenterte og antatte konsekvenser .....	19
2.3.2 Eksisterende metoder for behandling av ballastvann.....	21
2.3.3 Ballastfrie skip .....	24
<b>3 BEHANDLINGSSYSTEMET</b> .....	<b>26</b>
3.1 SYSTEMOPPETT .....	26
3.2 BEHANDLINGSTEKNIKKER .....	26
<b>4 METODER</b> .....	<b>30</b>
4.1 PRØVETAKING .....	30
4.2 KVANTIFISERINGSMETODER OG BEREGNINGER.....	31
4.2.1 Kimtall.....	31
4.2.2 Totalltall.....	32
4.2.3 Dataanalyse.....	33
<b>5 RESULTATER</b> .....	<b>34</b>
5.1 FORSØK MED SJØVANN .....	34
5.2 FORSØK MED TILSATS AV ESCHERICHIA COLI .....	35
5.3 FORSØK MED TILSATS AV VIBRIO FISCHERI .....	35
5.4 STATISTISKE METODER .....	36
<b>6 DRØFTING</b> .....	<b>37</b>
6.1 RESULTATENES GYLDIGHET OG NØYAKTIGHET .....	37
6.2 OVERENSSTEMMELSE MED ANDRES RESULTATER .....	37
6.3 SLUTNINGER .....	38
6.4 HVORFOR SYSTEMET IKKE REDUSERER BAKTERIEMENGDEN .....	39
6.5 PRAKTISKE KONSEKVENSER AV UNDERSØKELSENE .....	40
6.6 FEILKILDER.....	41
<b>KONKLUSJON</b> .....	<b>42</b>
<b>REFERANSER</b> .....	<b>43</b>
<b>VEDLEGGSOVERSIKT</b> .....	<b>48</b>

## Sammendrag

Ballastvann brukes til stabilisering av skip. Denne anvendelsen er et økologisk, økonomisk og helsemessig problem som vi nå begynner å skjønne det virkelige omfanget av. I tillegg til problemene knyttet til spredning og etablering av høyerestående arter på nye steder er ballastvann en potensiell kilde til spredning av sykdomsframkallende mikroorganismer. Som oljenasjon er Norge risikoutsatt, og som redernasjon er oppfyllelse av de internasjonale reguleringer av ballastvann som om få år trer i kraft en høyaktuell problemstilling.

I denne oppgaven er det undersøkt om et behandlingssystem for ballastvann utviklet ved Knutsen OAS har en reduserende effekt på bakterier.

De undersøkte behandlingsteknikkene er skjærkraft og filtrering gjennom antrasitt, dolomitt og marmor. Det er foretatt kimtalls- og totaltallstillinger av ubehandlet kontra behandlet sjøvann med og uten tilsats av indikatororganismene *Escherichia coli* og *Vibrio fischeri*.

Basert på forsøket med behandling av rent sjøvann ble det funnet et høyt antall statistisk signifikante økninger i bakteriekonsentrasjon av både kimtall og totaltall. Basert på forsøket med tilsats av bakterier ble det funnet langt færre signifikante økninger, og det ble funnet to signifikante reduksjoner. Skjærkraft 3 bar gav signifikant reduksjon i kimtall i forsøket med tilsats av *E. coli*, men i tilsvarende forsøk med *V. fischeri* ble det funnet en signifikant økning i kimtall. Også filtrering gjennom 40 cm antrasitt gav en signifikant reduksjon i kimtall i forsøket med *E. coli*. Her viste forsøket med *V. fischeri* ingen endring. Totaltallstillingene viste ingen signifikant reduksjon. Dette tyder på at bakteriecellene ikke undergikk lysis gjennom oppflerring eller sprengning slik hypotesen om skjærkrefter og trykkendring tilsa at de skulle. Filtringen av sjøvannet gjennom marmor og dolomitt gav ingen økning i pH slik hypotesen gikk ut på.

De signifikante økningene i forsøket med rent sjøvann skyldes sannsynligvis interferens fra bakterier løsrevet fra aggregater på partikler i vannet og/eller fra biofilm i systemet. Økning av bakteriekonsentrasjon gjennom tilsats av bakteriekulturer gjorde slike tilskudd neglisjerbare i statistiske tester. Det legges til grunn at for å hevde bakteriereduserende effekt i systemet burde det vært observert reduksjon i begge forsøkene. De statistisk signifikante endringene skyldes trolig dårlig dispergering av tilsatsbakteriene heller enn systemets behandling. Skjærkraft og trykkendring fører til sammenligning heller ikke til bakteriereduksjon etter lignende behandling i mye større skala i andre industrielle prosesser. Filtring gjennom antrasitt er kjent fra drikkevannsbehandling, men ikke som et desinfeksjonstrinn.

De konkluderes derfor med at systemet med det oppsett og de innstillinger og kombinasjoner det er undersøkt ved ikke ser ut til å ha noen reduserende effekt på bakterier. I beste fall er reduksjonen marginal og ikke tilstrekkelig. Systemet må derfor videreutvikles for å gis en bakteriereduserende effekt. Fra et miljømessig synspunkt er ideen med mekanisk behandling av ballastvann svært gunstig fordi en slik behandlingsform ikke medfører noen form for utslipp. Derfor oppfordres det til videre undersøkelser av utslippsfrie behandlingsteknikker.

## Begrepsavklaringer

Aerob bakterie	Bakterie som kan leve og formere seg i nærvær av oksygen
Abiotisk	Noe som ikke er av biologisk natur for eksempel de abiotiske økologiske faktorene lys, temperatur og fuktighet (HAa, 2000a).
Anaerob bakterie	Bakterie som ikke kan leve og formere seg i nærvær av oksygen
Bakterieendospore	Motstandsdyktig hvilestruktur som dannes av flere typer bakterier. Inneholder DNA og ribosomer slik at når miljøbetingelsene endres kan sporen spire til en vegetativ bakterie (Madigan, Martinko & Parker, 2003 s.56)
cfu	Koloniformende enhet (colony forming unit)
Elektronakseptor	Substans som aksepterer elektroner i løpet av en oksidasjon-reduksjon-reaksjon (Madigan, Martinko & Parker, 2003 s.103)
Fakultativ anaerob bakterie	Bakterie som kan leve og formere seg både i nærvær og i fravær av oksygen
Gram-negativ	Bakterier hvor celleveggen består av relativt lite peptidoglykan, men har en ytre membran av lipopolysakkarider, lipoprotein og andre komplekse makromolekyler (Madigan, Martinko & Parker, 2003 s.56)
Gram-positiv	Bakterier hvor celleveggen inneholder i hovedsak peptidoglykan og som mangler den ytre membranen som Gram negative bakterier har (Madigan, Martinko & Parker, 2003 s.56)
Habitat	En plante- eller dyrearts foretrukne oppholdssted (storenorskeleksikon.no)
Heterotrofe bakterier	Bakterier som trenger en eller flere organiske komponenter som sin karbonkilde. (Madigan, Martinko & Parker, 2003 s.28)
Hybridisering	Metode til påvisning av komplementære eller delvis komplementære tråder av DNA og/eller RNA (storenorskeleksikon.no)
In situ	På stedet, i sine naturlige omgivelser (storenorskeleksikon.no)



Koliforme bakterier	Gram-negative, ikke-sporedannende, oksidase-negative, stavformede bakterier som er i stand til å vokse aerobt og fakultativt anaerobt i nærvær av gallesalter (eller andre overflateaktive stoffer med lignende veksthemmende evne), og som er i stand til å forgjære laktose med produksjon av syre, gass og aldehyd innen 48 timer ved inkuberingstemperatur mellom 35 og 37 °C (NS4788:1990 s.7)
Lysis	Ødeleggelse av celleveggen som medfører tap av celleinnhold (Madigan, Martinko & Parker, 2003 s.77)
Morfologi	Læren om den ytre form, størrelse og struktur hos dyr, planter og mikroorganismer ( <a href="http://storenorskeleksikon.no">storenorskeleksikon.no</a> )
Patogen	Sykdomsframkallende
Prokaryot	Pro= før. Karyon = kjerne. En celle eller organisme som mangler kjerne (Madigan, Martinko & Parker, 2003 s.22)

# 1 Innledning

## 1.1 Tema og bakgrunn

En allusjon til boktittelen ”Det kom et skip til Bjørgvin i 1349” er illustrativ for temaet denne rapporten tar for seg. I 1349 kom byllepestbakterien *Yersinia pestis*<sup>1</sup> til Norge og forårsaket et epidemisk utbrudd av svartedauden hvor nærmere 2/3 av befolkningen døde. Spredningsvektorene for pesten den gang var rotter og lopper (storenorskeleksikon.no); i dag har skipene selv overtatt denne rollen ved at ballastvannet kan fungere som et potensielt reservoar for sykdomsframkallende mikroorganismer.

Overføring av arter med ballastvann er en usynlig trussel. Biologer som har spesialisert seg på risiko knyttet til ballastvann hevder at vi er i ferd med å oppleve den til nå alvorligste formen for overføring av skadeorganismer – verre enn den faren handelsfrakten representerer. Problemet antas å øke i årene framover, både fordi stadig nye organismer overføres og fordi effekten av de som allerede er overført først vil vise seg etter en tid, muligens opp til flere år (Setreng & Album, 2001).

Forskjellige anslag antyder at et sted mellom 3 og 10 milliarder tonn vann blir flyttet rundt om i verden hvert år i form av ballastvann (ICMES/SNAME, 2000) (IMO, 2005). Skip står for 4/5 av all varetransport mellom kontinentene, et bilde som kan illustreres med at det til enhver tid er 35.000 skip i transitt mellom to havner. Disse har med seg 4000 arter makroorganismer og planktonalger i ballastvannet i så store mengder at det blir etablert en ny art på et nytt sted hver 9. uke. Tilsvarende beregninger for mikroorganismer finnes ikke. I norske farvann er det introdusert og etablert 45 høyerestående marine arter – trolig har 18 av disse kommet med skip. Som oljenasjon er Norge utsatt, og de 3 største oljehavnene i Norge: Kårstø, Sture og Mongstad, mottar alene årlig 3000 skip, og 33 millioner tonn (Botnen & Jelmert, 2002) av de totale 50 millioner tonn ballastvann som Norge årlig mottar. Hvor mye ballastvann enkeltskip frakter med seg varierer fra cruiseskip med tanker på noen hundre kubikkmeter til store eksporttankere med kapasitet på over 100 000 tonn (Dragsund & Andersen, 2002).

Ballastvann er på mange måter farligere og kan være mer skadelig enn bedre kjente miljøtrusler slik som oljesøl (ICMES/SNAME, 2000). Prosessen er helt irreversibel, fordi når utslippet har skjedd er det ikke mulig å motvirke skadene gjennom verken lenser eller opprydningsaksjoner. Inntrengende makroorganismer har gitt påviselig skade på mottakende økosystemer og utgjør derfor en konstant trussel for eksempelvis havbruksnæring og fiskerier. Den økonomiske innvirkningen på aktiviteter knyttet til havner, elvemunninger og andre vannressurser har vist seg å kunne bli enorm. Spredning av sykdomsframkallende mikroorganismer med ballastvann har potensial til å innvirke sterkt på den menneskelige helse, og har trolig allerede utløst store epidemier (Botnen & Jelmert, 2002). Med dette som bakteppe har dagens ballastvannpraksis blitt kalt ”økologisk rulett” (Carlton & Geller, 1993), og ballastvann er ansett å være en viktig vektor for transport av inntrengende marine organismer over hele verden og er en av de fire største truslene mot verdens hav (IMO, 2005).

---

<sup>1</sup> Denne forklaringen har vært omdiskutert de siste årene. Noen hevder sågar at pesten ble forårsaket av et ebolalignende virus (Spilde, 2003).



Ballastvann har siden 1800-tallet blitt brukt til stabilisering av skip (Ruiz et al., 2000). Den ekstra vekten av sjøvann pumpet inn og ut av tanker i skipets skrog gir riktig dyppgang, stabilitet, trim og slagside (storenorskeleksikon.no). Ved lossing av varer blir ballasttankene fylt med vann fra havnen, og når lastning så skjer i en ny havn vil dette vannet og dets inneholdende organismer havne i det som kanskje er et ukjent men mottakelig miljø. Før ballastvann ble tatt i bruk ble det benyttet jord i tilsvarende rolle. Da oppdaget man at med jorden kom nye plantearter. Praksisen med vann som ballast kan virke like uskyldig som forflytningen av jord ble oppfattet til å begynne med, og det er derfor bare de siste tiårene at det er rettet søkelys mot de problemer som kan følge i kjølvannet.

Fokus for forskningen rundt ballastvannproblematikken rettet seg til å begynne med overveiende mot spredning av fremmede arter høyerestående organismer. De siste årene har også den mikrobiologiske siden fått den oppmerksomhet den fortjener. Den sene oppmerksomheten gjør at relativt lite er kjent om hvilket omfang problemet antar og hvilken betydning det har hatt og har. Dette gjenspeiler seg følgelig i foreløpig relativt lite publisert forskningsmateriale på området. Noe forskning er likevel gjort på feltet, og denne tilsier at ballastvann utgjør en spredningsmekanisme over lange distanser for potensielle humanpatogener og vannbårne sykdommer som påvirker planter og dyr (Ruiz et al., 2000) (Hansen, Hafstad & Klyve, 2001). I tillegg er det funnet bekymringsverdig høye tungmetallverdier i ballastvann (Hansen, Hafstad & Klyve, 2001)

Denne økte interessen for ballastvannets innhold synes, bl.a. ut fra opprinnelse av publisert forskning, å komme særlig fra store import- og eksportnasjoner som USA og Australia. Som en av verdens største sjøfartsnasjoner bør Norge interessere seg for dette problemområdet. En slik interesse synes økende i den senere tid, sannsynligvis med bakgrunn i retningslinjer og bebudede bestemmelser fra IMO. Rederier må om få år kunne oppfylle de krav som blir stilt, men hittil har få presentert fungerende behandlingssystemer. I mangel av tekniske innretninger for behandling er og har modus vivendi vært utskifting av ballastvann på åpent hav. Dette kan i mange tilfeller være en risikofylt operasjon og er derfor en dårlig og kun midlertidig løsning. Følgelig ligger det mye penger i det å utvikle anvendelige og kostnadseffektive metoder og systemer som etterkommer kravene som blir stilt i regelverket, og som samtidig ikke setter skipets eller mannskapets sikkerhet i fare.

Knutsen OAS er et norsk rederi som nå må tilpasse seg internasjonale regler og lokale nasjonale lover for ballastvann. Rederiet har i den forbindelse drevet utprøving av behandlingsteknikker og har kommet opp med forslag til et behandlingssystem.

## **1.2 Formål, problemstilling og mål**

### **Formål**

Prosjektets formål er å sette Knutsen OAS i stand til å videreutvikle sitt system for behandling av ballastvann.

### **Problemstilling**

Problemstillingen for prosjektet er: Har behandlingssystemet for ballastvann utviklet av Knutsen OAS en reduserende effekt på bakterier?

Problemstillingens avgrensning til bakterier innebærer at høyerestående organismer slik som eksempelvis skalldyr vil ikke bli undersøkt, ei heller omtalt i særlig grad. Dette skyldes at studentenes og høgskolens kunnskapsbase ligger innenfor feltet mikrobiologi. Høgskolen har heller ikke utstyr til å påvise virus, og dermed kan ikke systemets effekt på slike mikroorganismer studeres i denne sammenheng.

Utviklingen av behandlingssystemet er fremdeles på et tidlig stadium, slik at undersøkelse av effekt på alle de enkeltarter og grupper som kommende regelverk stiller krav til ikke vil være avgjørende. En eventuell reduksjon i bakteriemengde vil derfor kun bli målt som nedgang i det samlede antall levedyktige og totale antall bakterier vha. kimtallstillinger og totaltalls-tellinger av ubehandlet kontra behandlet sjøvann med og uten tilsats av indikatororganismer.

Pga. prosjektets varighet og hovedprosjektets omfang må antallet studerte behandlingsteknikker begrenses til 4.

### **Delmål**

Prosjektets mål er å gjennomføre målinger og på dette grunnlaget vurdere hvorvidt systemet reduserer bakteriemengden i behandlet vann:

Dette målet kan brytes opp og konkretiseres i følgende delmål:

- Det skal gjennomføres et tilstrekkelig antall relevante undersøkelser for å kunne dra slutninger om systemet har noen effekt.
- All litteraturstudie skal gjennomføres med tanke på kildepålitelighet og vitenskapelig litteratur skal fortrinnsvis benyttes.
- For å sikre prosjektarbeidet og konklusjonenes troverdighet skal alt laboratoriearbeid utføres med nøyaktighet og presisjon i henhold til anerkjente vitenskapelige metoder.
- Gjennomføringen av prosjektet og konklusjonene dette resulterer i skal presenteres i rapportens form sammen med en teoretisk plattform for ballastvannproblematikken.

## **1.3 Knutsen OAS**

### **Historikk**

Det Haugesundsbaserte rederiet Knutsen OAS Shipping AS ble startet i 1896 og bygde seg opp på nordsjøhandel og fiskeriaktiviteter, for så å gå inn i tankermarkedet og linjehandel (Knutsen OAS, 2005b). I likhet med andre rederier ble også Knutsen OAS rammet av krisen innen skipsfarten på slutten av 1970 tallet. I 1984 ble rederiet omorganisert med nye eiere. Vendepunktet kom med en kontrakt med Statoil om å frakte olje fra feltene Statfjord og Gullfaks. Dette var starten på den virksomheten rederiet er kjent for i dag (Knutsen OAS, 2004).

### **Dagens situasjon**

Rederiet har en sofistikert og moderne flåte bestående av spesialbygde shuttletankere, kjemikaliefraktere og produkttankere, og opererer over hele verden (Knutsen OAS, 2005a). Denne flåten er for tiden på 32 skip, med to skip under bygging (Grønsund & Birkevold, 2005). Knutsen OAS er i dag et av verdens største rederier i markedet for shuttletankere. Nordsjøen og Nord Europa har til nå vært de viktigste operasjonsområdene, men rederiet ser

nå etter nye utfordringer i andre farvann. De frakter bl.a. flytende naturgass fra Egypt til Spania og planlegger å starte oljetransport på Canadisk sokkel (Knutsen OAS, 2004). Hovedeiere i dag er styreformann Jens Ulltveit Moe og administrerende direktør Trygve Seglem (Knutsen OAS, 2005b).



**Figur 1-1:** Elisabeth Knutsen (Kilde: Knutsen OAS)

## 2 Litteraturstudier

I dette kapitlet blir det først gjennomgått hvilke faktorer som spiller inn på sannsynligheten for etablering av fremmede organismer i et mottaksområde, og ut fra dette argumentert for en risikobasert tilnærming til ballastvannproblematikken. Deretter blir essensen og sentrale bestemmelser i kommende nasjonalt og internasjonalt regelverk presentert for å tegne et bilde av hvilke krav et behandlingssystem for ballastvann vil måtte oppfylle. Videre skal gjennomgangen av konsekvenser illustrere at fokus så langt har rettet seg mest mot høyerestående organismer. Framstillingen av eksisterende metoder for behandling av ballastvann med fokus på mikroorganismer er ment å fungere som en idébank til videreutvikling av systemet.

### 2.1 Sannsynlighet for etablering av fremmede organismer

Sannsynligheten for overføring og påfølgende etablering av fremmede arter og organismer er avhengig av de fremmede artene, skipene som bringer dem med seg og donor- og resipientområdet. I en teknisk rapport fra Det Norske Veritas som utreder konsekvensene av utslipp av ballastvann og sedimenter ved helårig petroleumsaktivitet i området Lofoten-Barentshavet er det gjengitt forskning på disse faktorene. Disse gjengis slik de står i (Dragsund & Andersen, 2002 s.20):

**Tabell 2-1:** Faktorer som påvirker sannsynligheten for etablering av fremmede organismer (Kilde: Dragsund & Andersen, 2002 s.20)

Karaktertrekk hos fremmede arter	Skipsmessige faktorer og trender	Karaktertrekk for donor- og resipientområder
<ul style="list-style-type: none"><li>- Vanlig forekommende i donorområdet</li><li>- Bredt valg av habitater</li><li>- Høy toleranse i abiotiske faktorer, spesielt temperatur og saltholdighet</li><li>- Lite spesifikke fødepreferanser</li><li>- Høy reproduksjonsrate</li><li>- Hurtig vekst</li><li>- Potensial til å okkupere en økologisk nisje, mikrohabitat eller funksjonell rolle i økosystemet</li><li>- Langvarig planktonisk stadium</li><li>- Evne til å danne hvilestadier (sporer, cyster og lignende)</li><li>- Stor evne til sekundærspredning hvis planktonisk levesett</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Større skip og økt trafikk øker ballastvolum og antall laster</li><li>- Hurtigere skip gir kortere overfart og økt overlevelse av organismer</li><li>- Renere ballastvann</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Størst mulig likhet i abiotiske faktorer som temperatur, saltholdighet og habitatstruktur</li><li>- Sterk menneskeskapt påvirkning i resipienten som for eksempel overgjødning (eutrofiering), kunstige hardbunnsubstrater, utslipp av kjølevann</li><li>- Fjorder og havarmer er mer gunstige enn ytre kyststrøk og åpent hav</li><li>- Lav diversitet i resipienten</li></ul>

## Risikobasert tilnærming

Innføring og bruk av behandlingssystemer for ballastvann vil koste i form av økonomiske midler, samtidig som den økte energibruken knyttet til behandlingen også har en miljømessig side. En risikobasert tilnærming går ut på at man vurderer nødvendigheten av behandling, og hvis risikoen er akseptabel kan behandling unngås. Risikoen vil for eksempel være liten ved ballastering og deballastering i to forskjellige biologiske soner, dvs. soner hvor organismer fra den ene sonen ikke vil være levedyktige i den andre. På slike ruter vil kanskje behandling kunne droppes helt, mens på andre ruter vil risikoreducerende tiltak som utskifting av ballastvann være tilstrekkelig. Atter andre tilfeller vil være årstids- eller situasjonsbestemte. En risikobasert tilnærming vil kreve risikoanalyser som beslutningsstøtte. Pr. år 2002 er det utviklet to systemer for slik risikoberegning: The Australian Quarantine and Inspection Service (AQIS) Decision Support System og EMBLA Ballast Water Decision Support. Sistnevnte er utarbeidet av Det Norske Veritas og gjør risikoberegninger basert på inndeling av verden i biogeografiske regioner og provinser, bl.a. på bakgrunn av parametere som temperatur, saltholdighet, lys og dybde (Dragsund & Andersen, 2002). Hva som er akseptabel risiko vil som alltid være et politisk spørsmål og ikke noe som avgjøres av risikoanalytikere. En slik tilnærming vil trolig kreve stor innsats og mye forskning før internasjonal enighet oppnås rundt akseptable risikonivåer.

## 2.2 Regelverk

### 2.2.1 Internasjonalt

Pr. i dag gjelder det ingen felles internasjonale regler som går særlig i dybden på hvordan ballastvannproblemet skal håndteres. FNs sjølovskonvensjon (UNCLOS) fra 1982 nevner problemet i en av sine bestemmelser. I del XII, seksjon 1, artikkel 196 (1) blir det slått fast at "Statene skal sette i verk alle nødvendige tiltak for å hindre, redusere og kontrollere forurensning av det marine miljø som er et resultat av bruk av teknologier under deres jurisdiksjon eller kontroll, eller forsettelig eller tilfeldig introduksjon av arter, fremmede eller nye, til en bestemt del av det marine miljøet, som kan forårsake signifikante eller skadelige endringer på dette." Det nærmeste man kommer spesifikke bestemmelser på området er retningslinjer utgitt av IMO (International Maritime Organization). IMO er FN-organet ansvarlig for skipssikkerhet og forhindring av marin forurensning.

Det er og har lenge vært et sterkt påtrykk på IMO for å få på plass et internasjonalt regelverk for ballastvann fordi det er et problem som berører hele verden og som stadig flere områder får merke konsekvensene av. IMO pekte selv i to resolusjoner på 90-tallet, A.774(18) i 1993 og A.868(20) i 1997, på viktigheten av å gjøre noe med problemet. Konvensjonen om biologisk mangfold (Rio-konvensjonen) fra 1992 slår fast at overføring og introduksjon av skadelige akvatiske organismer og patogener via skips ballastvann truer både bevaringen av og en bærekraftig bruk av biologisk mangfold. Samme år ba FNs konferanse for miljø og utvikling (UNCED) IMO om å vurdere innføring av egnede regler for utslipp av ballastvann. I 2002 ba så verdenstoppmøtet for bærekraftig utvikling om at tempoet i dette arbeidet skulle økes. I tillegg har flere stater gjennom nasjonalt lovverk på egen hånd forsøkt å hindre, minimere og om mulig eliminere risikoen forbundet med introduksjonen av skadelige vannlevende organismer og patogener fra skip som legger til i deres havner (IMO, 2004).

16. februar 2004 ble det på en IMO-konferanse vedtatt en internasjonal konvensjon for kontroll og håndtering av ballastvann og sedimenter, men denne har ennå ikke trådt i kraft. Hovedtrekkene i denne og to tilhørende retningslinjer blir presentert i det videre for å tegne et bilde av kravene som et ballastvannbehandlingssystem må oppfylle.

### **International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments**

Denne konvensjonen, heretter ballastvannkonvensjonen, ble som tidligere nevnt vedtatt i 2004. Den trer først i kraft 12 mnd etter at minst 30 stater eller minimum 34 % av den samlede skipsflåte har undertegnet avtalen (IMO, 2004 s.22). IMOs ratifiseringsstatistikk tatt i betraktning tilsier at konvensjonen neppe blir ratifisert før tidligst 2010 (Dragsund & Andersen, 2002).

Konvensjonen setter i vedtekt D-1 krav til gjennomføringen av utskiftning av ballastvann med en effektivitet på 95 %. Ifølge vedtekt D-2 er utslippsbegrensningene for å oppfylle kravene i vedtekt D-3 som følger (IMO, 2004 s.22):

1. ”Mindre enn 10 levedyktige organismer større enn eller lik 50  $\mu\text{m}$  i minste diameter pr.  $\text{m}^3$ ; og
2. Mindre enn 10 levedyktige organismer mindre enn 50  $\mu\text{m}$  i minste diameter og større enn eller lik 10  $\mu\text{m}$  i minste diameter pr. ml; og
3. Følgende konsentrasjoner av indikatormikrober, som standard for menneskelig helse:
  - 3.1. Toksikogenisk *Vibrio cholerae* (serotyper O1 og O139) med mindre enn 1 koloniformende enhet (cfu) pr. 100 ml eller mindre enn 1 cfu pr. 1 g (våtvekt) zooplanktonprøver;
  - 3.2. *Escherichia coli* mindre enn 250 cfu pr. 100 ml; og
  - 3.3. Intestinale enterokokker mindre enn 100 cfu pr. 100 ml.”

Med denne oppgavens vinkling er det punkt 3 som er av interesse, om enn ikke direkte.

### **Resolution A.868(20): GUIDELINES FOR THE CONTROL AND MANAGEMENT OF SHIP'S BALLAST WATER TO MINIMIZE THE TRANSFER OF HARMFUL AQUATIC ORGANISMS AND PATHOGENS**

Disse retningslinjene fra 1997 er de andre i rekken, og opphever de mindre omfattende retningslinjene i resolusjon A.774(18) fra 1993. Bakgrunnen for å utarbeide slike retningslinjer ligger i to av sluttdokumentene fra Rio-konferansen i 1992, Konvensjonen om biologisk mangfold generelt og Agenda 21 spesielt. Her ble IMO bedt om å innføre regler for ballastvannbehandling for å hindre spredning av fremmede organismer fordi kan føre til redusert biologisk mangfold.

Retningslinjene gir seg ikke ut for å være en sikker løsning på problemet, men heller et verktøy laget ut fra dagens kunnskapsnivå som kan minimere risikoen forbundet med utslipp av ballastvann. Bruken av metoder må tilpasses målorganismen(e), risikonivå, miljøvennlighet, økonomiske og økologiske kostnader, samt skipets sikkerhet.

Retningslinjene retter seg mot IMOs medlemsstater og kan gjelde for alle skip, men det er opp til myndighetene i de enkelte land og havner å bestemme i hvilken utstrekning de skal gjelde.

De to aktørene som blir omtalt er skipet og havnestaten. Sentralt for skipet står innføringen av en skipsspesifikk plan for behandling av ballastvann for å sikre trygge og effektive prosedyrer. Slike prosedyrer skal inneholde utnevnelse av en ansvarlig offiser for ballastvannbehandling, informasjon om prøvetakingspunkter, og loggføring av posisjons- og miljødata ved ballastering. Som forholdsregler blir det nevnt å vurdere nøye tid og sted for ballastering, rutinemessig rengjøring av ballasttanker for å fjerne sedimenter, samt å unngå unødvendig uttømming av ballastvann. Fire muligheter for behandling av ballastvann blir skissert. Dette gjelder de fire første metodene beskrevet i kapittel 2.3.2 i denne rapporten.

Havnestaten får presentert flere handlingsalternativer om hvordan forholde seg til skip med ballastvann. Først nevnt er mottaks- og behandlingsanlegg for sedimenter, eventuelt for alt ballastvann. Ved utarbeidelse av egne ballastvannprogrammer og -regler blir havnestatene bedt om å ta med i vurderingene tilfeller hvor det er stor forskjell i miljøforhold mellom havner hvor ballastering og deballastering skjer, alder på ballastvannet og spesielle tilfeller hvor det er mulig å avgjøre tilstedeværelse av en eller flere målorganismer i ballastvannet. Havnestater kan utarbeide nasjonal lovgivning på området, men denne må i så fall ikke utsette skip eller mannskap for fare. Det blir også påpekt som essensielt at behandlingsprosedyrer for ballastvann og sedimenter må være effektive, trygge for miljøet, gjennomførbare, økonomisk akseptable og ellers i tråd med retningslinjene. Metoder for og gjennomføring av prøvetaking legges i stor grad i hendene på de enkelte havnestater, men også disse skal gjennomføres så effektivt som mulig.

Som appendiks 1 ligger et rapporteringsskjema for ballastvann som kan forevises havnemyndighetene. Appendiks 2 er en veiledning på sikkerhetsaspekter ved utskiftning av ballastvann på havet. Behandlingsplanene for ballastvann vil være forskjellige fra skip til skip, men felles må være at de er miljømessig akseptable og akseptable med tanke på strukturell styrke og stabilitet. Veiledningen omtaler de to utskiftningsmåtene som eksisterer, den sekvensielle metoden og gjennomstrømningsmetoden, og peker på sikkerhetsforanstaltninger og prosedyrer som må være tilstede for å kunne gjennomføre utskiftning. Dette gjelder for eksempel vurdering av værforhold, kalkuleringsinstrumenter og beredskapsplaner. Veiledningen peker også på viktigheten av opplæring og trening av de besetningsmedlemmer som kommer i befatning med ballastvannoperasjoner.

## **HARMFUL AQUATIC ORGANISMS IN BALLAST WATER:**

### **Draft Guidelines for the approval of Ballast Water Management Systems**

Disse retningslinjene foreligger ennå bare som utkast fordi man under forrige møte i IMO-organet MEPC (Marine Environment Protection Committee) ikke klarte å oppnå konsensus om biologisk effektivitet av testing om bord på skip. Denne delen vil derfor bli utelatt i denne omtalen. Komiteen sa seg likevel enig om resten av retningslinjene, slik at disse blir omtalt som om vedtatt selv om formell godkjenning som etter planen skal skje i juli 2005 gjenstår.

I ballastvannkonvensjonens vedtekt D-3 blir det stilt betingelser om at behandlingssystemer for ballastvann som skal brukes til å oppfylle konvensjonens krav må være godkjent av landenes forvaltning, og at deres godkjenningsprosesser skal legge disse retningslinjene til grunn. Retningslinjene henvender seg derfor primært til landenes forvaltninger og deres utnevnte organer som skal attestere overensstemmelse med ytelsesstandarder i vedtekt D-2 i

den ballastvannkonvensjonen. Selvfølgelig, som i Knutsen OAS's tilfelle, er retningslinjene også av interesse for systemutviklere.

Et overordnet krav i retningslinjene er at systemdrift ikke skal utgjøre noen fare for sikkerheten til skip, personell, miljø eller folkehelse, og dette skal evalueres sammen med systemers anvendelighet og biologisk effektivitet. Retningslinjene har i denne sammenheng anbefalinger for design, installasjon, ytelse, testing og godkjenning av behandlingssystemer.

Ballastvannbehandlingssystemer kan bli nedskalert for landbasert testing, men da må konstruktøren bevise at dette ikke påvirker effekten, og nedskaleringen kan ikke gi en behandlingsskapasitet på mindre enn 200 m<sup>3</sup>/h, hvis systemet da ikke er bygget for mindre kapasitet enn dette.

Et behandlingssystem for ballastvann som på alle måter oppfyller kravene i retningslinjene kan bli godkjent for montering om bord på skip. Først må systemutvikleren levere omfattende dokumentasjon vedrørende systemet. Godkjenningen skjer så i form av et typegodkjenningssertifikat. Etter at det typegodkjente behandlingssystemet er montert om bord skal det gjennomføres en installasjonsinspeksjon. Spesifikasjonene for evalueringen av før-test-dokumentasjonen er beskrevet i del 1 i annekset tilknyttet retningslinjene. Denne dokumentasjonen inkluderer tekniske manualer, tegninger og forventede virkninger på miljøet og folkehelsen. Del 2 og 3 omtaler test-, ytelses- og miljøytelses-spesifikasjoner for godkjenningen av behandlingssystemet. Både skipsbasert og landbasert testing er omtalt, men den skipsbaserte testingen er det som nevnt uklarheter rundt, samtidig som de landbaserte spesifikasjonene er mer interessante i den systemutviklingsfasen det undersøkte systemet er i.

Retningslinjene sier at en landbasert testsyklus bør inkludere:

1. Opptak av ballastvann ved pumping;
2. Lagring av ballastvann i minst 5 dager;
3. Behandling av ballastvann i behandlingssystemet, unntatt i kontrolltanker; og
4. Utslipp av ballastvann ved pumping

Testoppsettet bør operere tilfredsstillende gjennom minst 5 gyldige testsykluser med forskjellige vannbetingelser. Systemet må også bestå av en kontrolltank, slik at behandlet vann kan undersøkes opp mot ubehandlet vann som ellers har vært oppbevart på samme måte. Systemet som testes skal være så representativt som mulig for de bruksområder det er tiltenkt, og tanker som simulerer ballasttanker skal minimum ha en kapasitet på 200 m<sup>3</sup>. Før hver testkjøring og mellom testsykluser må oppsettet trykkvaskes med ferskvann, få tørke og bli feid over for å fjerne organismer og annen materie. Retningslinjene stiller krav til mengden løst organisk karbon, partikulært organisk karbon og total mengde løste stoffer i testvannet avhengig av vannets salinitet. Vannet må også inneholde:

- Organismer > 50 µm i en totalkonsentrasjon på helst 10<sup>6</sup>/m<sup>3</sup>, men ikke mindre enn 10<sup>5</sup>/m<sup>3</sup>, og minst 5 arter fra minst 3 inndelinger.
- 10 < Organismer < 50 µm i en totalkonsentrasjon på minst 10<sup>4</sup> individer/ml, og minst 5 arter fra minst 3 inndelinger.
- Heterotrofe bakterier i en konsentrasjon på minst 10<sup>4</sup> levende bakterier/ml.

Det tillates tilsats av arter i kultur til testvannet. Slik tilsats er ikke påkrevd av følgende bakterier, men disse må måles både ved inntak og utslipp:

- Koliforme
- *Enterococcus*-gruppen



- *Vibrio cholerae*
- Heterotrofe bakterier

Miljøparametere som pH, temperatur, salinitet osv. skal måles samtidig som prøvene tas. Prøvene skal tas like før behandlingsutstyret, like etter behandlingsutstyret, og ved utslipp. Ved hver anledning skal det tas tre prøver, og det skal tas forskjellige prøver for organismer større enn 50 µm, mellom 10 og 50 µm, og for heterotrofe bakterier. Prøvestørrelsen for organismer større enn 50 µm er 20 liter ved inntakspunktet og 1 m<sup>3</sup> behandlet vann. For organismer mellom 10 og 50 µm er størrelsene 1 liter og 10 liter, og for bakterier 500 ml både ved inntaks- og utslippspunktet. Prøvene skal analyseres så fort som mulig etter prøvetaking, og "levende" undersøkelser innen 6 timer hvis ikke prøvene behandles på en slik måte at analyse likevel kan gjennomføres.

Et eksperiment bør bestå av en sammenligning mellom kontrollvann og behandlet vann, og minst tre prøver fra hver vanntype for å et godt statistisk estimat. Retningslinjene anbefaler bruk av statistiske metoder slik som t-tester eller tilsvarende.

Del 4 av annekset sier hvilke analysemetoder som skal benyttes under testing for å bestemme det biologiske innholdet i ballastvann. Disse metodene skal være anerkjente standardmetoder for innsamling, behandling, lagring og analyse. Organismers levedyktighet kan bli avgjort gjennom levende/død-vurdering med passende metoder, inkludert, men ikke begrenset til: morfologisk endring, mobilitet, farging og molekylære teknikker. En behandlingssyklus er å anse som vellykket hvis det gjennomsnittlige utslippsresultatet fra kontrollvannet er av en konsentrasjon høyere enn verdiene angitt i ballastvannkonvensjonens D-2, mens det behandlede vannet oppfyller konsentrasjonskravene nevnt tidligere.

### 2.2.2 Norge

I en artikkel i Fiskeriteknisk fagblad blir det hevdet at: "I Norge er effektive tiltak mot introduksjoner ennå ikke satt i verk. Det er derfor stor risiko for introduksjoner i årene som kommer. Det er særlig grunn til å peke på problemet med fremmede arter som kan skade fiskeri- og havbruksnæringen." (Botnen & Jelmert, 2002 s.39)

Norge har to tungtveiende motiver for å interessere seg for problemstillingen rundt ballastvann. For det første er vi en stor sjøfartsnasjon. Pr. 1. oktober 2004 bestod den samlede norske utenriksflåten av 1.593 skip (Norges Rederiforbund, 2004). Disse skipene og deres rederier vil i årene framover måtte forholde seg til både internasjonale reguleringer og retningslinjer samt et spekter av lokale nasjonale lovbestemmelser. For å kunne være konkurransedyktige vil det da være helt nødvendig med gode kunnskaper om ballastvannproblematikken og løsninger som oppfyller alle kravene som etter hvert vil bli stilt. For det andre er Norge verdens tredje største eksportører av olje og gass (Larstad red., 2004), og en stor del av dette transporteres ut av landet sjøveien. Skip som legger til norske terminalhavner for å hente olje og gass bringer sjelden med seg noen last til Norge, og har følgelig fulle ballasttanker. Mens norsk olje og gass tas om bord, pumpes ballastvannet ut i vår kystzone.

Fra Norge har bl.a. Sjøfartsdirektoratet spilt en aktiv rolle i arbeidet med utviklingen av ballastvannkonvensjonen. I St.meld. nr. 12 (2001-2002) *Rent og rikt hav* kap. 3 "Utviklingstrekk og tiltak på utvalgte områder" peker regjeringen på spredning av fremmede

organismer og genmodifiserte organismer i ballastvann som en del av trusselbildet mot et rent og rikt hav. Videre blir det hevdet at inntak og utslipp av ballastvann i dag er den aktiviteten som medfører størst risiko for utilsiktet introduksjon og spredning av fremmede marine organismer. Som tiltak blir det skissert rask ferdigstillelse av IMOs ballastvannkonvensjon, nasjonale tiltak i tråd med denne konvensjonen og tilhørende retningslinjer, samt iverksetting av overvåking av det marine miljøet. Aktuelle krav å stille i et norsk regelverk vil ifølge stortingsmeldingen kunne være rapportering fra skip som tømmer ballastvann i norske farvann, og i forlengelsen av dette krav om forsvarlig håndtering av ballastvann og sedimenter. Andre mulige tiltak er utskifting av ballastvann og mottaksanlegg på land (St.meld. nr. 12 2001-2002).

I 2002 fikk Sjøfartsdirektoratet i brevet *Oppfølging og utredning av tiltak overfor ballastvann* fra Miljøverndepartementet en forespørsel om å utarbeide et forslag til forskrift om kontroll med ballastvann og sedimenter. Dette i tråd med overnevnte stortingsmelding. Videre står det at forskriften skal baseres på IMOs regelverk og retningslinjer for kontroll med ballastvann og sedimenter. Krav til behandling skal enten være utskifting på åpent hav eller rensing om bord, og alle skip må ha en behandlingsplan for ballastvann og rapportere til myndighetene. I brevet blir det bedt om at forslaget ferdigstilles innen 1. desember 2002, slik at høring kan gjennomføres og forskriften tre i kraft i løpet av 2003 (Stokland & Schive, 2002). Forskriften er likevel ikke mulig å oppdrive (pr. våren 2005). Ifølge rådgiver i miljøverndepartementets forurensningsavdeling seksjon hav, Andreas Mæland<sup>2</sup>, skyldes dette at en slik forskrift ennå ikke er vedtatt. Departementet legger opp til å sende ut på høring et forslag til endring av sjødyktighetsloven i løpet av våren for å skaffe tilstrekkelig hjemmelsgrunnlag for en slik forskrift. En forskrift kan altså ikke ventes med det første.

### 2.2.3 USA

Som et eksempel på et land som har innført nasjonale bestemmelser for behandling av ballastvann er her valgt USA. I USA finnes lovgrunnlaget for regulering av ballastvannbehandling i National Invasive Species Act (NISA) som ble innført i 1996. The Great Lakes har hatt obligatoriske påbud siden 1993, og i 1998 ble det innført frivillige retningslinjer for resten av landet sammen med påbudt rapportering og prøvetaking, men retningslinjene ble ikke blitt fulgt opp i den grad det var ønsket (US Coast Guard, 2005b). Kystvaktens respons er et omfattende nasjonalt program for ballastvannbehandling. Programmet gjelder for alle ballastvannførende skip som opererer i amerikanske farvann eller som er på vei til amerikanske havner (US Coast Guard, 2005a).

De tre hovedpunktene i programmet er (US Coast Guard, 2005a):

1. Påbudt praksis for behandling av ballastvann for alle skip som opererer i USAs farvann
2. Tilleggspraksis for skip som entrer USAs farvann etter å ha operert utenfor USAs økonomiske sone
3. Rapportering om og arkivering av informasjon om ballastoperasjoner fra alle skip

Dette innebærer bl.a. å unngå ballastoperasjoner i eller nær skjøre økosystemer, unngå eller minimere opptak av ballastvann når og hvor vannet trolig er forurenset (om natten, nær kloakkutslipp osv.), regelmessig rensing av ballasttanker for sedimenter, planer for

---

<sup>2</sup> Mæland, Andreas, rådgiver i Miljøverndepartementet. E-post 08.02.05.

ballastvannbehandling og opplæring av personell. Tilleggspraksisen for skip som kommer til USA innebærer utskifting av ballastvann i åpent hav, ombordhold av ballastvann under hele oppholdet eller bruk av andre alternativer som er godkjent av kystvakten (US Coast Guard, 2005a).

#### **2.2.4 Problemer knyttet til håndheving av regelverk**

Et viktig spørsmål som ennå ikke synes å ha fått så mye oppmerksomhet er hvordan det kommende internasjonale regelverket skal håndheves, og da spesielt hvordan målinger skal foretas for å undersøke ballastvannets innhold. Spesielt vil mikrobiologiske undersøkelser med dagens standardmetoder være tidkrevende å gjennomføre, samt at ingen enkeltprosedyre er tilgjengelig for deteksjon av vannbårne patogener (Singh & McFeters, 1992). Flere indikatorer og krav om statistisk holdbarhet vil kreve et relativt stort antall prøver. Samtidig sier ballastvannkonvensjonen at analysetiden ikke er grunnlag for å forsinke skipets operasjoner og bevegelser urimelig (IMO, 2004). Sett i sammenheng med det enorme omfanget av skipsbevegelser kan dette bli en utfordring.

En metode som ser lovende ut i denne sammenheng er såkalt flowcytometri. Denne metoden er relativt rask og samtidig nøyaktig med sin 5 % feilmargin. I tillegg til denne kvantitative nøyaktigheten kan metoden påvise ikke bare levedyktige mikroorganismer slik som ved dyrkning, men også den like helsefarlige gruppen levedyktige men ikke-dyrkbare mikroorganismer. Forberedelsen til analyse består i fiksering av prøven og tilsats av en mengde mikrokuler med kjent størrelse og mengde som referanse. Denne blandingen sendes så gjennom et cytometer hvor den blir bestrålt av en rød diodelaser og en blå laser. En sammenligning av celleantall og mikrokuleantall muliggjør så en kalkulasjon av cellekonsentrasjon basert på lysspredning i et histogram (Joachimsthal et al., 2003).

En gruppe metoder som ennå ikke ser ut til å ha fått sitt bruksområde knyttet opp mot ballastvann, men som vil kunne fungere svært effektivt pga. sin spesifisitet, er DNA-baserte tester. Nukleinsyreprober er et kraftig verktøy for identifikasjon og kvantifisering av mikroorganismer (Madigan, Martinko & Parker, 2003), og baserer seg på at merkede genprober som er komplementære til gener (på DNA eller RNA) hos den organismen man leter etter assosierer seg med organismens gener. Ved hjelp av merkingen kan genproben så peke ut organismen man leter etter. Merkingen kan for eksempel være fluorescerende stoffer som i FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) (Madigan, Martinko & Parker, 2003). En annen styrke med flere av disse metodene er analysetid. DNA-baserte oppformeringsmetoder (PCR) og deteksjon gjør det mulig å identifisere mikroorganismer direkte fra kliniske prøver i løpet av 1 time (Bergeon & Ouellette, 1998). Genteknologien er i en rivende utvikling, og innen ballastvannkonvensjonen trer i kraft vil slike metoder trolig være utviklet til flere anvendelsesområder enn i dag.

### **2.3 Forskning og utvikling**

#### **2.3.1 Dokumenterte og antatte konsekvenser**

##### **Verden**

En av de best dokumenterte overføringer av arter er spredningen av sebraskjellmusling (*Dreissena polymorpha*) fra Europa til de store sjøene i Nord-Amerika. I løpet av 18- og

1900-tallet spredte denne arten seg fra områdene rundt Svartehavet til store deler av Europa via kanaler og elver. På slutten av 1980-tallet etablerte sebraskjellmuslinger seg i Lake St. Claire. Formeringen gikk her raskt, og store strandområder ble snart fullstendig tildekket. Deler av lokal fauna ble utradert da skjellene festet seg til og hemmet naturlig adferd og næringsopptak hos innfødte dyr. Det er satt inn store mottiltak, men sebraskjellmuslingene har nå spredt seg til størstedelen av Mississippi og de fleste av sideelvene. Kostnadene av skadene dette forårsaker er anslått til 4 milliarder dollar årlig (Botnen & Jelmert, 2002).

På 1980-tallet var det rike ansjos- og sardin fiskerier i Svartehavet. Dette fikk en brå slutt da kammaneten *Mnemiopsis* ble overført med ballastvann fra østkysten av Amerika. Maneten beitet på fiskenes egg og i tillegg utkonkurrerte den fiskeyngelen i kampen om næringsgrunnlaget. Resultatet ble at fiskepopulasjonen avtok betraktelig og fiskeriene ble redusert med 90 %. Noen år senere, i 1999, ble samme kammanet identifisert i Det kaspiske hav. En frykter nå at sardin fisket etter hvert skal lide samme skjebne her (Botnen & Jelmert, 2002).

I 1996-97 ble et Stillehavsvirus fraktet med ballastvann gjennom Panamakanalen og rammet en kråkebolleart i det Karibiske hav. Populasjonen antas nå å være tilnærmet utryddet, og dette er karakterisert som den hittil verste ballastvannkatastrofen for en art (Setreng & Album, 2001).

I sedimentene fra et norsk skip som kom fra Singapore til Queensland i Australia ble det i 1990 funnet *Clostridium botulinum C* (Setreng & Album, 2001). Bakterien, som er kjent fra bl.a. hermetikk og rakefisk, er kjent som et av de mest potente patogener som finnes. En alvorlig koleraepidemi brøt ut i Peru i 1991 med 300000 tilfeller og over 3000 dødsfall det første året (Flaten, 1998). Årsaken var trolig overføring av kolerabakterien med ballastvann fra Asia. Epidemien spredte seg til en rekke land i Sør-Amerika og avtok ikke før i 1997. Likeledes er kolerabakterien påvist i ballastvann som ankom USA, men her klarte en å forhindre at sykdommer brøt ut (Setreng & Album, 2001).

## Norge

Flere av artene som er innført til Norge er skadelige planktonalger. Generelt har en for lite bakgrunnskunnskap om artssammensetningen og årsvariasjonen av planktonorganismene i norsk kystfarvann. Det er derfor vanskelig å fastslå eksakt hvor mange introduserte arter som finnes. Algearten som har gjort mest skade er *Chattonella* som forårsaket død av om lag 1000 tonn oppdrettsfisk til en verdi av 25 millioner kr i 2001 (Botnen & Jelmert, 2002).

Seksjon for anvendt miljøforskning ved Universitetet i Bergen har foretatt en undersøkelse av plante- og dyrelivet i ballastvann fra skip som anløp oljeterminalen på Sture i Øygarden. Undersøkelsen gjaldt også sedimentinnholdet i ballasttankene av større dyr og av vekstdyktige mikroorganismer. I tillegg ble det foretatt søk i fjæra ved havneanleggene på Kårstø, Sture og Mongstad etter introduserte dyre- og plantearter. Tilnærmet alt ballastvann og sedimenter fra ballasttankene inneholdt levende organismer. Det ble registrert krepsdyr, planktonarter, kiselalger, fureflagellarter, tøffeldyr, skjell, snegler og fiskeegg. Riktignok fantes de fleste arter i våre farvann fra før, men det ble også oppdaget fremmede arter. Ballastvann som bare var noen dager gammelt inneholdt flest organismer. Dette er urovekkende fordi det meste av ballastvannet som blir tømt ut i våre farvann er ungt. De fleste

skip kommer fra omlastningshavner i Europa der ballastvann fra alle verdensdeler kontinuerlig blir dumpet (Botnen & Jelmert, 2002).

Europeiske havner som Norge eksporterer petroleumsprodukter til fungerer som omlastningshavner for båter fra Asia. Det faktum at arter er funnet i Nederland og i Norge men ikke langs kysten mellom disse landene kan indikere at europeiske havner fungerer som omlastningssted for ballastorganismer. Den asiatiske havbruksnæringen har en annen holdning til bruk av antibiotika enn hva som er vanlig i vår del av verden. Dette kan en tenke seg vil medføre at vi kan få innført antibiotikaresistente bakterier og sykdommer vi til nå har vært spart for i norsk havbruksnæring. Slike fremmede sykdommer vil det ikke finnes vaksiner mot, noe som medfører økt bruk av antibiotika også her (Havbruk, 2001).

I en undersøkelse foretatt ved Høgskolen Stord/Haugesund ble det påvist *Salmonella*- og *Campylobacter*-arter i ballastvann hentet fra båter som ankom Kårstø. I den mengden de ble påvist utgjorde bakteriene ingen fare (Hansen, Hafstad & Klyve, 2001), men en vet at disse bakteriene kan konsentreres opp til sykdomsfremkallende nivå dersom de spises av filtrerende skjell. Dette kan i forlengelsen gi sykdomsrisiko for mennesker som spiser skjellene. (Botnen & Jelmert, 2002)

### **Tungmetaller**

I likhet med mikroorganismer er tungmetaller et relativt lite beskrevet kapittel i forskningshistorien om ballastvann. Ingen av rensesystemene eller -metodene studert under arbeidet med dette prosjektet (se neste underkapittel) har presentert løsninger på eller nevner det miljømessige problemet tungmetaller utgjør. Den overnevnte undersøkelsen ved Høgskolen Stord/Haugesund omtaler også tungmetallnivåer i det undersøkte ballastvannet. Det ble her funnet høye nivåer av tungmetaller, særlig kadmium, kobber og sink. Årsaken er trolig bruken av offeranoder av sink for å hindre korrosjon i ballasttankene (Hansen, Hafstad & Klyve, 2001).

### **2.3.2 Eksisterende metoder for behandling av ballastvann**

I prinsippet finnes det fem strategier for å minimere og redusere introduksjon av fremmede akvatiske arter fra ballastvann (ICMES/SNAME, 2000):

- Utskiftning av ballastvann på åpent hav
- Redusere antall organismer som tas om bord
- Behandling av ballastvann om bord
- Behandling av ballastvann på land
- Tilbakehold av ballastvann, dvs. ingen utskiftning mens skipet ligger til kai

Sammensatte løsninger synes å peke seg ut. Filtrering/separasjon anses å være et nødvendig første trinn i en behandling (primærbehandling). Dette vil også begrense sedimentering i ballasttankene, et stort problem for mange skip. Derrest er desinfeksjon i mange tilfeller brukt som sekundær behandling. Stort sett dreier det seg om bruk av ozon, termisk behandling, UV-lys og andre metoder som er kjent teknologi fra vannbehandling i andre sammenhenger, men det blir også forsket på alternative teknologier. For en mer omfattende framstilling av metoder under utprøving vises det til Global Ballast Water Management Programme (2004).

## Utskifting av ballastvann

Dette er metoden IMO anbefaler i sine retningslinjer for behandling av ballastvann. Utskifting vil si at skip bytter ut kystvannet i tankene med vann fra åpent hav. Dette bygger på kunnskap om at arter som hører hjemme i kystfarvann ikke lever lenge i vann på åpent hav, og omvendt. For eksempel kan mange ferskvanns- og brakkevannarter som ikke tåler saltholdigheten i dyphavsområdene fjernes slik. I tillegg skjer utskiftingen så langt fra land at sjansene for smitteoverføringer er minimale. Det nye vannet som blir tatt om bord inneholder også mikroorganismer, men de aller fleste av disse vil ikke tåle den lave saltholdigheten i havnevannet hvor ballastvannet pumpes ut. Metoden vil derimot være mindre effektiv dersom vannbyttet skjer i grunne havområder, for eksempel ved overfarer innad i nordsjøområdet (Bergesen, 2002).

IMO anbefaler to metoder for utskifting av ballastvann (Bergesen, 2002 s.78):

- 100 % empty-refil-metoden, der tankene tømmes for kystvann og deretter fylles med vann på åpent hav. Dette er den raskeste og rimeligste formen for utskifting. Dessverre er dette også den metoden som gir størst belastning på skipets struktur.
- 300 % flow-through-metoden, hvor havvann pumpes kontinuerlig inn i bunnen av tanken mens overskuddsvannet går ut gjennom luker på dekk. Kravet er at tre tankvolum med havvann går gjennom hver tank.

Begge metodene innebærer en sikkerhetsrisiko for mannskap og skip, og det jobbes derfor i dag med å videreutvikle disse (Setreng & Album, 2001). I stedet for å tømme tankene helt, og med det risikere skrogskade, blir det forsket på mulighetene for å pumpe nytt vann inn mens det gamle vannet pumpes ut. En slik metode baserer seg på en kartlegging av vanntyngden ute på havet. Tyngden varierer etter saltinnhold og temperatur, og det er utarbeidet kart over områder hvor vannet er lett og hvor det er tungt. Lett havvann pumpes inn i tankene ovenfra og fortrenger dermed det eksisterende ballastvannet. Er havvannet tungt blir det pumpet inn i bunnen av tankene. Hvis prosessen blir gjentatt tre ganger skal de fleste organismene være byttet ut. Ikke alle organismene vil ikke forsvinne i en slik prosess. Noen vil sannsynligvis henge fast i tankveggene, men det hevdes at dette er en metode som vil redusere faren for spredning av fremmede arter betraktelig (Jomaas, 2003).

Ifølge IMO bør utskifting om mulig foregå lenger enn 200 nm (nautiske mil) fra kysten og på et havdyp større enn 200 m. Om dette ikke er mulig kan skip gjennomføre utskiftingen i tråd med IMOs retningslinjer så nær land som 50 nm og på større havdyp enn 200 m. Skip skal ikke gjennomføre utskifting av vannet dersom operasjonen truer skipets sikkerhet (IMO, 2004).

## Redusere mengden organismer som blir tatt om bord

Ultrafiolett bestråling og ultralydbombardering både alene og sammen med ulike filtertyper er kjent fra drikkevannsbehandling, men metoden er kostbar. Det norske firmaet OptiMarin prøver ut en kombinasjon av hydrosyklon og UV. Prinsippet går ut på at sedimentpartikler mindre enn 40  $\mu\text{m}$  fjernes vha. hydrosyklonen mens UV-strålingen dreper organismene (Josefsen, 2004). UV-bestråling ødelegger deler av organismens DNA. Behandlingen endrer ikke vannets fysiske karakteristika og er miljøvennlig ved at det ikke dannes giftige biprodukter. Dette er en metode som har lang fartstid fra bl.a. behandling av drikkevann. Marine bruksområder inkluderer rensing av vann til nedpumping i oljebrønner og sterilisering



av sjøvann for å hindre sykdomsutvikling i fiskeoppdrettsanlegg (Mackey, 2001). Ballastvannet kan behandles på denne måten både ved inn- og utpumping. OptiMarin sitt system rapporteres å være driftsikkert og kan skaleres til alle aktuelle ballastvolum. Dette systemet er installert på flere skip og har en kapasitet på 200-500 m<sup>3</sup>/h. Biologisk effektivitet er undersøkt ved normal drift og en mener å kunne bevise at tilnærmet 90 % av bakteriene blir inaktivert. Dette systemet synes pr. dags dato å være det eneste hvor det foreligger et rimelig erfaringsmateriale fra praktisk drift. En annen kombinasjon fra samme selskap består av selvrensende filter og UV-bestråling. Prinsippet her går ut på at filteret fjerner partikler større enn 30-40 µm og om lag 90-95% plankton. UV strålingen dreper deretter organismer som passerer filteret. Teknisk sett er dette systemet ikke egnet for store ballastvolum og/eller vann med for stort innhold av partikler. Systemet er installert på skipet Coral Princess og har en kapasitet på 250 m<sup>3</sup>/h. Biologisk effektivitet er testet om bord på skipet, og det er anslått at plankton blir fjernet med 95-99 % og bakterier med tilnærmet 90 % (Josefsen, 2004).

Mange ulike filtertyper er under utprøving. Et av disse bærer navnet Advanced Oxidation Technol. Prinsippet i dette systemet er et selvrensende filter som fjerner partikler og større organismer. Organismene drepes vha. katalytisk genererte OH-radikaler. Også her er behandlingen av vannet ment å skulle foregå både ved inn- og utpumping. Skalermulighetene for dette systemet er ukjent, men prefiltrering indikerer begrensninger med hensyn til ballastvolum og/eller partikkelrikt vann. Pr. november 2004 var en prototyp installert på M/S Don Quijote med en kapasitet på 500 m<sup>3</sup>/h. Biologisk effektivitet er kartlagt ved landbaserte studier med sjøvann og er for bakterier generelt 97-99,9 % og for *E. coli* 99,9 %, begge målt umiddelbart (Josefsen, 2004).

Nok en mulighet som nevnes blant de metodene som utprøves er fjerning av oksygen. Under ballasting blir oksygen løst i vannet strippet. Dette kan skaleres til alle aktuelle ballastvolum og er ikke påvirket av partiklene som måtte være i vannet (Josefsen, 2004). Fra en mikrobiologisk vinkel er dette ugunstig da det kan fremme vekst av de sulfatreduserende bakterier som finnes i akvatiske anaerobe miljøer (Madigan, Martinko & Parker, 2003). Det er kjent at disse bakteriene stimulerer anaerob korrosjon av jernrør (HAa, 2000b).

### **Behandling av ballastvann om bord**

En mye uttestet angrepsvinkel er å behandle ballastvannet med biocider. Motforestillingene her er at en erstatter én miljøtrussel med en annen. Dessuten er det vanskelig å nå alle ballastorganismene på denne måten pga. sedimenter og avkroker i tankene. Det mest effektive kjemikaliet, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hydrogenperoksid), er altfor kostbart. I tillegg fremmer det korrosjon (Setreng & Album, 2001). SeaKleen er et biocid som har blitt testet ut om bord på skip. Det tilsettes under ballasting, vanligvis i en mengde på 2 g/m<sup>3</sup>. Teknisk sett kan dette skaleres til alle aktuelle ballastvolumer. Stoffet anses som svært rimelig og er ufarlig å håndtere for mannskapet. Den virksomme ingrediensen er vitamin K3 som også er kjent fra tilsetning i dyrefor og munnvann, samt at det benyttes i medisinsk behandling av blødninger. Stoffet påvirker ikke vannets kvalitet og virker heller ikke korrosivt. Tester om bord på USS Cape May viste en biologisk effekt på plankton på 98 % ved 1 ppm og 100 % ved 2 ppm, begge behandlingene målt etter 24-48 timer. Testorganismene inkluderte i tillegg til plankton også spesifikke bakterier som *E. coli* og *V. fischeri*, men resultatene mht. effekten på disse blir ikke omtalt (Wright, u.å.).

Varmebehandling er enda en utprøvd metode. Ballastvann stiller tradisjonelle vannbehandlingsteknikker overfor store utfordringer. Systemene må kunne behandle store vannmengder på kort tid og samtidig være plass- og mannskapseffektive. Det er forsøkt å bruke ballastvannet som kjølevann for motorene. Dette krever et ganske avansert og dermed kostbart høytteknologisystem for å bli fullstendig effektivt for alt ballastvannet. Dessuten krever det et strengt regime for inntaket av ballastvann hvor ingen sedimenter tas om bord. Det betyr at innpumping må skje på dypt vann, hvor bl.a. været vil spille en rolle i forhold til sikkerheten (Setreng & Album, 2001).

Firmaet Downstream Services i Bergen utvikler en maskin som er ment å skulle ta livet av alle organismene i ballastvannet. Prinsippet her går ut på at alle organismer større enn 0,1 mm blir filtrert bort. Alger, virus, bakterier og sporer som passerer filteret får et kraftig strømsjokk som fjerner tilnærmet alle organismer. Strømgeneratoren kan behandle 10 000 tonn ballastvann i timen. I tillegg til strømsjokket blir vannet behandlet med oksidanter som klor, ozon og hydrogenperoksid som produseres av den elektriske strømmen. Metodens ulemper er rustdannelse i tanken og utslipp av klor som er et avfallsstoff fra prosessen (Jomaas, 2003).

### **Behandle ballastvann i land**

I tillegg til de over beskrevne metodene som for det meste retter seg mot behandling under opptak og i tank, ligger det en mulighet i avlevering av ballastvann til tette bassenger på land med påfølgende behandling i disse. Alternativet er kjøp av rensed ballastvann i ballasteringshavn. For eksempel kan vannet renses ved UV-stråling på landbaserte anlegg. Dette vil begrense kostnadene i forhold til å rens ballastvannet på hvert enkelt skip. Metoden er avhengig av at alle havner har utstyr for det, noe det er tvilsomt at havner i fattige land vil kunne skaffe seg (Setreng & Album, 2001).

### **Status quo**

Alle metodene som er beskrevet medfører en kostnad for næringen. Flere firmaer og forskningsinstitusjoner jobber i dag med utprøving av teknologi for å rens ballastvann. Standarden for behandling av ballastvann er meget streng og er ikke oppnåelig med den teknologi som er kjent i dag. Det er imidlertid håp om at dette skal skje innen noen år.

### **2.3.3 Ballastfrie skip**

Alle overnevnte teknikker for behandling av ballastvann er eksperimentelle og under utvikling, og ingen har vist full effektivitet under fullskalaforsøk om bord på skip. Ballastfrie skip er et forsøk på et aleksanderhugg for å løse ballastvannets gordiske knute, og vil representere et paradigmeskifte innen skipsbygging hvis tilfredsstillende løsninger blir utviklet.

Forskere ved University of Michigan har gjennom en laboratoriestudie ved bruk av numerisk modellering undersøkt et konsept for ballastfrie skip. Det nytenkende er å tilnærme seg ballastoperasjoner som reduksjon av oppdrift heller enn tilførsel av vekt. De tradisjonelle ballasttankene byttes ut med langsgående ballastkanaler som er tilknyttet et inntakskammer i baugen og et utslippskammer ved akterspeilet. Vannfylling av kanalene gir ballastegenskaper, og trykkdifferansen mellom baug og akterspeil utnyttes til å drive en liten gjennomstrømning av kanalene slik at de alltid inneholder "lokalt" sjøvann. Ved





havneankomst isoleres kanalene og pumpes tomme vha. konvensjonelle ballastpumper (Ballast Water News, 2004).

En slik løsning vil hindre forflytning av så store vannvolumer som vi ser i dag, men pga. strukturelle behov vil utformingen fortsatt medføre fortsatt transport fra havn til havn av noe vann og sedimenter, og dermed organismer. En bedre beskrivelse enn ballastfrie skip ville derfor vært kontinuerlig spykende ballastsystem (Ballast Water News, 2004).

### 3 Behandlingssystemet

#### 3.1 Systemoppsett

Figur 3-2 viser behandlingssystemets oppbygning grafisk. En pumpe plassert i sjøen (under tarebeltet) pumper sjøvann opp til to seriekoblede pumper som skaper trykkøkning opp mot toppen av kolonnen. På vei opp måles gjennomstrømningen av en flytmåler, og et injeksjonspunkt muliggjør tilsats av nitrogengass. På toppen av kolonnen er det montert et manometer i forkant av en manuelt justerbar strupeventil. Deretter går rørsystemet ned igjen og vannet passerer gjennom et filter med antrasitt og dolomitt/marmor. Så går prosessen opp igjen mot toppen av kolonnen hvor det er lagt inn enda et injeksjonspunkt. Mellom kolonnens to toppunkter er det montert en bypass kuleventil. Fra andre toppunkt går strømmen ned igjen til to tanker på ca. 200 l hver på bakkenivå. I forkant av tankene er det plassert to prøvetakingspunkter, og fra tankene går det overløp til sjø. Hele prosessen kan også sirkuleres i en lukket sløyfe.

#### 3.2 Behandlingsteknikker

Rensesystemet er satt sammen av ulike teknikker som er tenkt å virke hver for seg og å forsterke hverandre. Systemet er designet for å prøve ut en rekke metoder; kun fire ble testet i oppgaven.

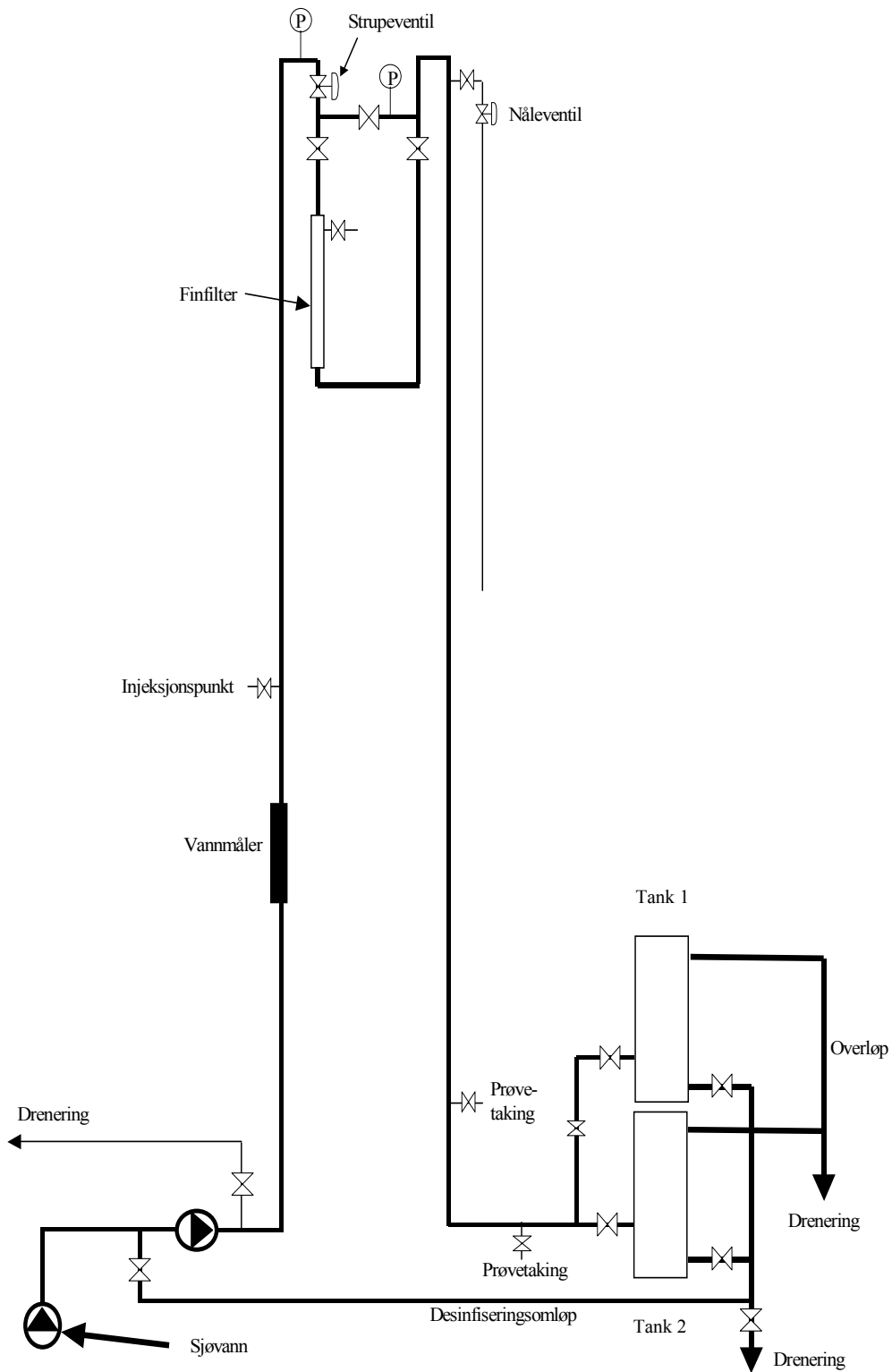
##### Strupeventil/blende (skjærkraft)

Skjærkraft i strømming defineres som den friksjon som oppstår mellom de ulike væskelagene. Ved lav gjennomstrømningshastighet vil friksjonskreftene mellom veggene i rensesystemet og sjøvannet føre til at vannet har minst fart langs veggene i røret, mens farten er størst langs rørets midtakse. Ved slike lave strømningshastigheter er strømmingen laminær og hastighetsprofilen til de enkelte vannlagene kan fremstilles som en parabel (Figur 3-1 a) (Ese, 1998).

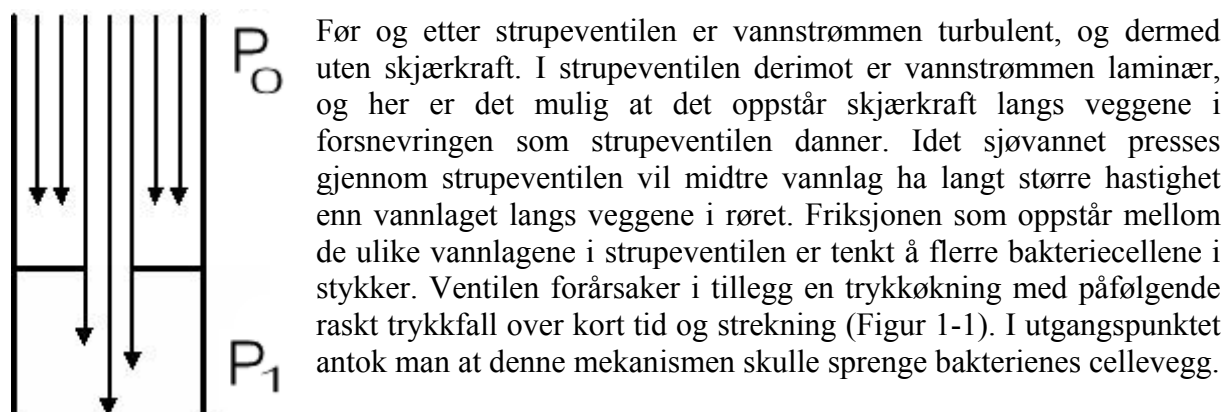


Figur 3-1: Hastighetsprofiler: a) Laminær strømming, b) Turbulent strømming

Dersom strømningshastigheten i rørsystemet kommer over et kritisk punkt blir strømmingen turbulent. Da varierer farten med tiden på en tilfeldig og kaotisk måte. I turbulent strømming blir hastighetsprofilen flat, dvs. at det ikke oppstår friksjon mellom vannlagene og derfor heller ikke skjærkrefter. Skjærkraft er også avhengig av viskositeten i sjøvannet. Denne varierer fra fluid til fluid og er avhengig av trykk og temperatur (Ese, 1998).



**Figur 3-2: Systemoppsett**



**Figur 3-3:** Trykkfall som resultat av forsnevring,  $P_0 \gg P_1$ .

### Antrasitt

Antrasitt er en type naturlig forekommende kull som inneholder 92-98 % karbon (storenorskeleksikon.no). Typen som er benyttet i dette systemet har fargen dyp svart og består av pyramideformede biter på 1-2 mm i diameter. Antrasitt er mye brukt i ett- eller flermediefiltre for partikkelfiltrering av bl.a. drikkevann, prosessvann og vann til svømmebasseng. Antrasitt gir gode resultater ved humusfjerning når det benyttes i flermediefilter, jfr. drikkevannsbehandling. Det er vanlig praksis i vannverkene at drikkevann filtreres gjennom et filter bestående av antrasitt, kvartssand og marmor.

I rensesystemet skal kullet skape ytterligere skjærkraft. Mellom de pyramideformede kullbitene dannes en mengde kanaler/rør. Langs veggene i disse små kanalene står sjøvannet tilnærmet stille, mens det har stor hastighet midtstrøms i kanalen. Hypotesen var at det mellom disse vannlagene oppstår en friksjon og dermed skjærkraft som skal flerre mikroorganismene i stykker.

### Marmor

Marmor er en form for kalk og består oftest av mineralet kalsiumkarbonat (Heldal, 2002). Marmor benyttes i korrosjonskontroll i vannverk og ledningsnett fordi det har kjent reduserende effekt på vannets  $\text{CO}_2$ -innhold og dermed gir pH-økning. I tillegg vil det kunne redusere vannets jern- og manganinnhold (Folkehelseinstituttet, 2004a).

Drikkevann med lav pH-verdi og høyt  $\text{CO}_2$ -innhold virker tærende på rørsystem og armatur og kan derfor forårsake utløsning av tungmetaller samt føre til lekkasjer. I dette rensesystemet er marmoren kun tiltenkt en rolle som pH-økende teknikk. Hensikten er å forstyrre en av bakterienes miljøfaktorer slik at vekstforholdet i ballasttankene skal bli mindre gunstig.

### Dolomitt

Dolomitt er et mineral bestående av kalsium-magnesium-karbonat ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ) og er hovedbestanddel i bergarten dolomittmarmor og dolomittkalkstein. Dolomitt er et viktig råstoff i industriell sammenheng, og i jordbruket benytter man dolomitt for å tilføre



magnesium og kalsium, nedsette surhetsgraden i jordsmonnet (storenorskeleksikon.no). I dette systemet er det tenkt at filtrering av sjøvannet gjennom dolomitt skal øke vannets pH. Formålet med dette er det samme som beskrevet for marmor.

### **Andre mulige metoder**

Systemet er utformet med mulighet for tilsetning av klor, som er det mest brukte desinfeksjonsmiddelet på verdensbasis. Klorering anses for å være en enkel og rimelig desinfeksjonsteknikk og har en utbredt anvendelse bl.a. innen drikkevannsbehandling hvor tilsats av klor hindrer spredning av en del vannbårne patogene mikroorganismer. Parasitter og bakteriesporer sikrer det ikke imot (Folkehelseinstituttet, 2004b). For å unngå oppbevaring av klor i skipet er denne tenkt produsert om bord gjennom elektrolyse av sjøvann.

Rensesystemet åpner også for å tilføre nitrogen i det innpumpede sjøvannet. Hensikten er å fortrenge oksygenet i vannet og med det eliminere aerobe mikroorganismer. Dette vil på den annen side favorisere vekst av anaerobe mikroorganismer som finnes i bunnsedimentene i havner og ballasttanker. Konsekvensene av dette er uklare. Eksempler her er den fakultativt anaerobe tarmbakterien *E. coli* samt Clostridier. Et enda større potensielt problem er sulfatreduserende bakterier som kan medføre korrosjonsproblemer (HAa, 2000).

## 4 Metoder

### 4.1 Prøvetaking

Rensesystemets effekt ble først forsøkt testet ved å ta prøver av ubehandlet sjøvann fra Smedasundet og av vannet etter behandling i rensesystemet. Disse prøvene ble undersøkt og sammenlignet i laboratoriet ut fra analyseparameterne kimtall og totaltall. Funnene viste mange signifikante økninger, og det ble gjennomført to nye forsøk med tilsats av bakteriekulturer. På denne måten ble bakterieinnholdet økt med rundt en faktor 10. Her ble bakterieinnholdet i prøver fra tank med innblandet bakteriekultur sammenlignet med innholdet av bakterier i prøver tatt etter behandling.

#### Tilsats av mikroorganismer

For å øke konsentrasjonen av bakterier i vannet som skulle behandles ble det i laboratoriet dyrket en stamme med *Escherichia coli* og en stamme *Vibrio fischeri* etter følgende fremgangsmåte:

##### *E. coli*

- I 150 ml flytende KPG-medium ble det tilsatt en stamme *E. coli*
- Stammen ble inkubert i 3 døgn ved 30 °C
- 4 kolber á 250 ml KPG ble tilsatt 5 ml hver av disse suspensjonene og inkubert i 3 døgn ved 30 °C
- Vha. totaltallstelling før tilsats i tank ble konsentrasjonen av totalt antallet bakterier i kolbene estimert til ca.  $10^9$ /ml. Dette burde gi en totaltallskonsentrasjon på  $10^6$ - $10^7$ /ml i tankene etter tilsats

##### *V. fischeri*

- I 150 ml flytende MB-medium ble det tilsatt en stamme *V. fischeri*
- Stammen ble inkubert i 6 døgn ved 15 °C
- 4 kolber á 250 ml MB ble tilsatt 5 ml hver av disse suspensjonene og inkubert i 5 døgn ved 15 °C.
- Vha. totaltallstelling før tilsats i tank ble konsentrasjonen av totalt antallet bakterier i kolbene estimert til ca.  $10^9$ /ml. Dette burde gi en totaltallskonsentrasjon på  $10^6$ - $10^7$ /ml i tankene etter tilsats

#### Anvendte flytende medier

- *E. coli*-stammen ble dyrket i KPG-medium (Kjøtt-Pepton-Gjær-ekstrakt) som er egnet til dyrking av et bredt spekter av heterotrofe mikroorganismer. KPG er lite selektivt og svært næringsrikt (Hansen, 2004).
- *V. fischeri*-stammen ble dyrket fram i laboratoriet i MB-medium (Marine Broth, samme medium som MBA, men uten agar)

#### Anvendte agarmedier

- I forsøket med *E. coli* ble det benyttet McConkey-medium som er et selektivt medium som gir spesielt god vekst av tarmbakterier pga. innholdet av galledalter. Mediet

differensierer mellom koliforme og ikke-laktosefermenterende bakterier og hemmer Gram-negative mikrokokker (Atlas, 1993).

- Til dyrkning av sjøvannsprøver med og uten tilsats av *V. fischeri* ble det benyttet MBA-medium (Marine Broth Agar), et generelt medium for sjøvannsbakterier. MBA benyttes til å isolere og dyrke et spekter av heterotrofe marine bakterier (Atlas, 1993).

### **Klorering av behandlingssystem**

Før prøvetakingen startet ble systemet desinfisert en gang med klor etter følgende prosedyre:

- Tankene ble tappet tomme for vann og skurt
- Tankene ble så fylt med ferskvann og tilsatt 2,0 ml Klorin/l vann, som er klordosen Porsgrunn kommune bruker til desinfisering av cisterner (Krogh, 2002)
- Klorvannet ble sirkulert 10 minutter i rensesystemet
- Klorvannet fikk stå i systemet i 24 timer, jfr. Krogh (2002)
- Før gjennomføring av forsøk ble systemet gjennomstrømmet i 15 minutter med sjøvann for å hindre interferens fra eventuelle klorrester

### **Prosedyre for prøvetaking av sjøvann**

- Prøvetaking av ubehandlet Smedasundvann
- Behandlingen av vann pumpet fra Smedasundet ble startet og kjørt inntil systemet hadde stabilisert seg på ønsket behandlingsteknikk
- Prøvetaking av behandlet vann før utløp til sjø

### **Prosedyre for prøvetaking av sjøvann med tilsats av bakteriene *E. coli* og *V. fischeri***

- For hver behandling ble en av systemets tanker (nummer 1) fylt med ca. 170 l sjøvann, tilsatt en kolbe bakteriekultur og omrørt for å tilstrebe tilstrekkelig blanding
- Prøvetaking fra denne tanken (1 liter)
- Behandlingen av vannet fra tanken ble startet og kjørt inntil systemet hadde stabilisert seg på ønsket behandlingsteknikk
- Prøvetaking av behandlet vann i forkant av tank nummer 2

## **4.2 Kvantifiseringsmetoder og beregninger**

Hvorvidt systemet hadde noen effekt skulle avgjøres av differansen mellom antall bakterier før og etter behandling. Totaltall ble valgt som analyseparameter for å gi svar på om virkningsmekanismen av behandlingen var lysis av celler ved flerring eller sprengning slik hypotesen var. I tilfelle denne forklaringsmodellen skulle vise seg å ikke stemme ble også kimtall analysert. Denne parameteren ville i så fall avsløre eventuelle andre virkningsmekanismer enn lysis, dvs. inaktivering uten brist i cellevegg/-membran.

### **4.2.1 Kimtall**

Kimtall er en parameter som gir antall levende, dyrkbare celler i en prøve. Prinsippet går ut på at én enkelt bakteriecelle (kim) gir opphav til én bakteriekoloni under dyrkning på agarskåler med egnet næringsmedium. Antall bakterier i opprinnelig væske ble beregnet fortrinnsvis ut fra telling av skåler med oppvekst av mellom 30 og 300 kim.

Metodens begrensninger:

- En teller bare antall levende celler, basert på teorien om at ett kim gir opphav til én koloni.
- Resultatet er avhengig av hvilket næringsmedium som blir brukt (dette kan i noen tilfeller være en fordel)
- Det er anslått at bare mellom 0,1 og 1 % av det totale antall bakterier som finnes i miljøprøver vokser på næringsmedium (Hansen, 1997).

### Prosedyre for utplating

- Prøvene med sjøvann ble fortynnet til konsentrasjoner på  $10^{-1}$  og  $10^{-2}$  i sterilt 70 % kunstig sjøvann (Ultra Marin)
- 0,1 ml direkte fra prøven og fra fortynningene ble platet ut på MBA-skåler. Det ble platet ut på 3 parallelle skåler pr. fortynning
- Skålene ble inkubert i 10 dager ved 18 °C og avlest
  
- Prøvene med tilsats av *E. coli* ble fortynnet til konsentrasjoner på  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  og  $10^{-4}$  i sterilt 70 % kunstig sjøvann (Ultra Marin)
- 0,1 ml fra fortynningene ble platet ut på McConkey-skåler. Det ble platet ut på 3 parallelle skåler pr. fortynning
- Skålene ble inkubert i 2 dager ved 30 °C og avlest
  
- Prøvene med tilsats av *V. fischeri* ble fortynnet til konsentrasjoner på  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  og  $10^{-3}$  i sterilt 70 % kunstig sjøvann (Ultra Marin).
- 0,1 ml fra fortynningene ble platet ut på MBA-skåler. Det ble platet ut på 3 parallelle skåler pr. fortynning
- Skålene ble inkubert i 10 dager ved 15 °C og avlest

Begge medietypene ble blindtestet for å utelukke at petriskålene med agar var forurenset.

### 4.2.2 Totaltall

Totaltall er en parameter som viser det totale antall intakte bakterier i en prøve. Prinsippet i metoden går ut på at man merker bakteriene med et fluorescerende fargestoff som binder seg spesifikt til bakterienes DNA. Dersom en så belyser prøven med ultrafiolett lys i et epifluorescensmikroskop vil fargestoffet fluorescere og bakteriene vil være lysende i synsfeltet. Metoden skiller imidlertid ikke mellom levende og døde celler. DNA i døde celler kan være intakt inntil et døgn etter at de er døde (Hansen, 1997).

Totaltall er fordelaktig om en ønsker en rask metode for estimering av antall mikroorganismer i en prøve, men har også disse begrensningene:

- Teller både levende og døde celler
- Små celler kan være vanskelig å se
- Dårlig presisjon
- Nødvendig med fasekontrastmikroskop

### Prosedyre for fiksering, filtrering og telling

- Prøvene ble fiksert med formaldehyd (0,5 ml 36 % formaldehyd til 10 ml prøve)



- Filtrering av prøvene i filtreringsoppsats:
  - Sjøvannsprøver: 2 ml i 3 brønner og 3 ml i 3 brønner.
  - Prøver med tilsats av *E. coli*: 2 ml  $10^{-1}$ -fortynning i 3 brønner og 2 ml  $10^{-2}$ -fortynning i 3 brønner
  - Prøver med tilsats av *V. fischeri*: 1 eller 2 ml  $10^{-1}$ -fortynning i 3 brønner
- Alle filtreringene ble gjort på Irgalan Black-fargede Nuclepore filter (0,2  $\mu\text{m}$ ) med polypropylenfilter som underlagsfilter
- Prøvene ble filtrert i blanding med 6-8 ml steril fosfatbufret salin (PBS)
- Filtervask 2 ganger med 5 ml PBS
- Hver brønn ble tilsatt 10  $\mu\text{g/ml}$  DAPI-løsning som fikk virke i 5 minutter før filtrering
- Filtervask med 5 ml PBS
  
- Filter med immersjonsolje over og under ble plassert på et objektglass med dekkglass over
- Mikroskopering ble gjort i et epifluorescensmikroskop med 100x-objektivet, og det ble talt ca. 200 bakterier pr. filter.
- Totaltall er beregnet etter følgende formel:

$$\frac{\text{bakterier} / \text{ruter} \cdot \text{filterareal} / \text{ruteareal} \cdot \text{fortynning}}{\text{filtreringsvolum}(ml)} = \text{bakterier} / \text{ml}$$

**Formel 4-1:** Beregning av totaltall

Arealet av fotorute ved 100x-objektivet:  $0,098\text{mm} \cdot 0,07\text{mm} = 6,86 \cdot 10^{-3} \text{mm}^2$

Arealet av filterflate (diameter: 18 mm):  $A = \pi \cdot 9^2 = 254,34\text{mm}^2$

$\Rightarrow \text{filterareal} / \text{ruteareal} = 254,34\text{mm}^2 / 6,86 \cdot 10^{-3} \text{mm}^2 = 37075$

### 4.2.3 Dataanalyse

For å redusere det regnemessige analysearbeidet noe ble Excel tatt i bruk. Det er utarbeidet et system for registrering, analyse og presentasjon av innsamlede data. For hver prøve er det brukt ett ark til registrering av prøvetakingsdata og ett ark til innføring av resultatene fra laboratorieanalysene. Registreringsskjemaene for prøvetaking og prøveresultater er bygget opp på samme måte som dem brukt til registrering på laboratoriet som ligger vedlagt til rapporten (Vedlegg B & C). Essensielle data fra alle prøvearkene er samlet og presentert samlet for å lette sammenligninger og statistiske analyser. Resultatene fra sammenligningene er presentert grafisk. Disse Excel-filene ligger vedlagt den elektroniske utgaven av rapporten (Vedlegg J-L) og utskrifter er vedlagt den skriftlige rapporten (Vedlegg A & E-G).

## 5 Resultater

Resultatene fra de tre rundene med forsøk er framstilt hver for seg. Det er brukt 2 mål for biologisk effekt: statistisk signifikante endringer og  $\log_{10}$ -endringer. For hvert forsøk er det presentert en tabell med hypotesetester av bakteriekonsentrasjoner før og etter behandling (signifikansnivå 0,05), samt den logaritmiske endringen:  $\log_{10}(Kimtall_{etter} / Kimtall_{før})$ . Den logaritmiske funksjonen angir altså hvor mange tierpotenser endringen utgjør.

Vanntemperatur og pH ble målt som miljøparametere. Det knyttet seg spesiell interesse til om dolomitt eller marmor endret vannets pH-verdi. Flytdata er viktig for en eventuell oppskalering av oppsettet. Skjærkraft er oppgitt som trykket avlest på manometer i forkant av strupeventil, blende eller filter.

Tabeller med målte miljøparametere, systemdata og utfyllende resultatdata finnes i rapportens vedlegg (Vedlegg A). Kimtalls- og totaltallstillinger er i vedleggene presentert grafisk som 95 % konfidensintervall i normal og logaritmisk skala. Rådatamaterialet disse resultatene bygger på (og nødvendige navneforklaringer samt registreringsskjemaer) ligger også som vedlegg (Vedlegg B-G).

### 5.1 Forsøk med sjøvann

I dette forsøket er bakteriekonsentrasjonen etter behandling holdt opp mot konsentrasjonen i prøven fra Smedasundet. Resultatene fra hypotesetesting av tellingene er vist i Tabell 5-1 sammen med  $\log_{10}$ -endringer.

**Tabell 5-1:** Hypotesetest og  $\log_{10}$ -endringer - forsøk med sjøvann. + : statistisk signifikant økning, - : statistisk signifikant reduksjon (signifikansnivå 0,05)

	Kimtall	Totaltall	$\log_{10}(\text{Kimtall})$	$\log_{10}(\text{Totaltall})$
Skjærkraft 4 bar			+ 0,42	+ 0,04
Skjærkraft 4 bar. Antrasitt 3 cm	+	+	+ 0,25	+ 0,29
Skjærkraft 1 bar		+	+ 0,46	+ 0,23
Skjærkraft 1 bar. Antrasitt 3 cm	+		+ 0,80	+ 0,05
Skjærkraft 1,5 bar. Antrasitt 10 cm			+ 0,81	- 0,09
Skjærkraft ukjent (skulle vært 5 bar). Antrasitt 10 cm	+	+	+ 0,32	+ 0,20

## 5.2 Forsøk med tilsats av *Escherichia coli*

I dette forsøket er bakteriekonsentrasjonen etter behandling holdt opp mot konsentrasjonen i tanken med suspendert bakterieløsning før behandlingen. Resultatene fra hypotesetesting av tellingene er vist i Tabell 5-2 sammen med log<sub>10</sub>-endringer.

**Tabell 5-2:** Hypotesetest og log<sub>10</sub>-endringer - forsøk med tilsats av *E. coli*. + : statistisk signifikant økning, – : statistisk signifikant reduksjon (signifikansnivå 0,05)

	Kimtall	Totaltall	log <sub>10</sub> (Kimtall)	log <sub>10</sub> (Totaltall)
Skjærkraft 3 bar	+		+ 0,11	- 0,06
Antrasitt 20 cm. Marmor 20 cm		+	+ 0,05	+ 0,54
Antrasitt 20 cm. Dolomitt 20 cm			- 0,14	+ 0,46
Antrasitt 40 cm	–		- 0,57	+ 0,25

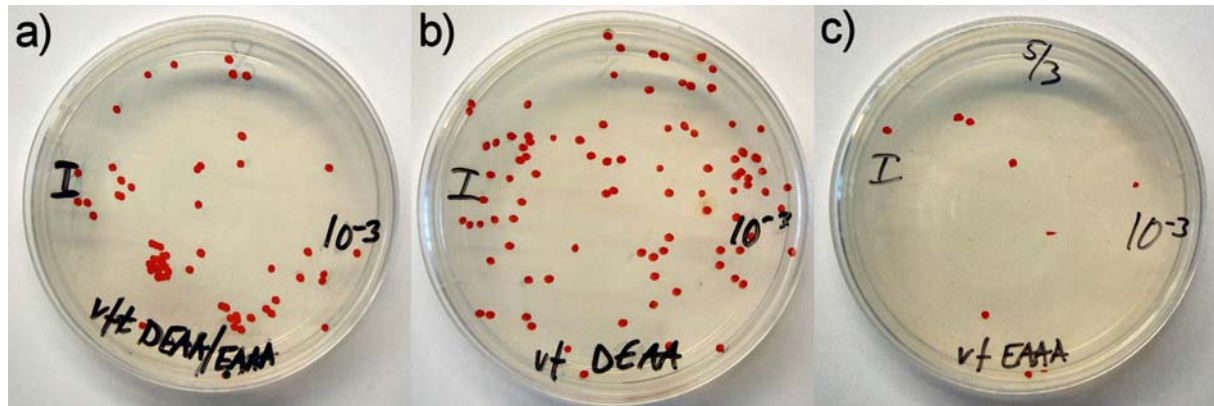
## 5.3 Forsøk med tilsats av *Vibrio fischeri*

Under dette forsøket ble i noen tilfeller én tank tilsatt bakterier brukt til å undersøke to behandlingsteknikker. Ellers blir analysen som for forsøket med *E. coli*. Resultatene fra hypotesetesting av tellingene er vist i Tabell 5-3 sammen med log<sub>10</sub>-endringer.

**Tabell 5-3:** Hypotesetest og log<sub>10</sub>-endringer - forsøk med tilsats av *V. fischeri*. + : statistisk signifikant økning, – : statistisk signifikant reduksjon (signifikansnivå 0,05)

	Kimtall	Totaltall	log <sub>10</sub> (Kimtall)	log <sub>10</sub> (Totaltall)
Antrasitt 40 cm			- 0,03	+ 0,02
Skjærkraft 3 bar	–		- 0,81	- 0,02
Antrasitt 20 cm. Dolomitt 20 cm			+ 0,12	+ 0,04
Antrasitt 20 cm. Marmor 20 cm			+ 0,01	+ 0,05
Antrasitt 20 cm			+ 0,19	+ 0,04
Antrasitt 10 cm		+	- 0,02	+ 0,22
Antrasitt 20 cm. Leca 40 cm			- 0,21	- 0,12

I Figur 5-1 er det tatt med et eksempel på kimtallstelling.



Figur 5-1: *V. fischeri*. a) Tank; b) Antrasitt 40 cm; c) Skjærkraft 3 bar.

## 5.4 Statistiske metoder

I det videre er det gitt en kort forklaring til de statistiske metoder som er brukt i analysearbeidet. For en noe mer omfattende forklaring av konfidensintervaller og hypotesetesting og tolkninger av disse vises det til Vedlegg I.

### Konfidensintervaller

Alle resultater fra kimtalls- og totaltallstellingene er regnet ut som 95 % tosidig konfidensintervall (KI) vha. t-fordelingen. Prøvegjennomsnittet er regnet ut som aritmetisk middelverdi (vektet middel).

### Hypotesetesting (Student t-test)

Som nevnt gjør små prøveutvalg at normalfordelingen ikke kan brukes til konfidensintervall, og det samme gjelder for hypotesetesting. Også her kan t-fordelingen benyttes i det som kalles en Student t-test.

## 6 Drøfting

### 6.1 Resultatenes gyldighet og nøyaktighet

De gjennomførte undersøkelsene er ikke utført i henhold til noen vedtatt mal, standard eller retningslinjer for testing av behandlingssystemer for ballastvann, men slike eksisterer heller ikke pr. i dag. Utkastet til retningslinjer for testing og godkjenning av behandlingssystemer for ballastvann fra IMO er altfor omfattende og krevende for rammene av et hovedprosjekt. Heller ikke systemoppsettet oppfylder kravene i disse retningslinjene. Blant de uoppfylte kravene til systemet er at behandlingssystemet ikke må skaleres ned til en behandlingsskapasitet under 200 m<sup>3</sup>, at ballastvann må lagres i minst 5 dager i tanker på minst 200 m<sup>3</sup> (for å simulere opphold i ballasttanker) og at det skal brukes kontrolltanker. Uoppfylte krav til målinger er at det skal undersøkes for hver av parametrene koliforme, *Enterococcus*-gruppen og *Vibrio cholerae*, samt at det må forestas måling av flere miljøparametere enn pH og temperatur. Et delvis oppfylt krav var at vannet som ble brukt til testing skulle inneholde minst 10<sup>4</sup>/ml heterotrofe bakterier.

På den annen side er dette krav som blir lagt til grunn av organer som skal godkjenne behandlingssystemer for bruk. I den utviklingsfasen systemet befinner seg i så langt er undersøkelsene presentert her for en forstudie å regne. Forsøkene har hatt som mål å avgjøre om forskjellige innstillinger av ulike behandlingsteknikker kan ha en reduserende effekt på bakterier. Det er altså prinsipper og Knutsens måter å bruke disse på som har blitt testet, ikke et ferdig forslag til behandlingssystem.

I mangel av en anerkjent mal for utprøving har testregimet som er gjennomført blitt til gjennom veiledning. Prøvetaking før og etter behandling er delvis i overensstemmelse med overnevnte retningslinjer, som også krever opphold og kontrolltanker. Det er gjort forsøk med sjøvann både med og uten tilsats av bakterier, med samme type resultater. Retningslinjene fra IMO godtar slik tilsats, og tilsats ble gjort i to omganger med to ulike og relevante bakterier. *E. coli* er en tarmbakterie som inngår i en indikatorgruppe for fekal forurensning av drikkevann, og er en av bakterieartene ballastvannkonvensjonen stiller innholds krav til. *V. fischeri* er en marin bakterie i samme slekt som *V. cholerae*, den andre bakteriearten ballastvannkonvensjonen stiller krav til. Den vil derfor sannsynligvis ha likhetstrekk hva angår smertegrense for ulike typer belastning, heriblant mekanisk påkjenning.

Overnevnte til tross; i de undersøkelsene som er gjennomført er det benyttet anerkjente mikrobiologiske og statistiske metoder. I så måte har standardmetoder for dyrkning en feilmargen på 2-58 % (kan overskrides), mens epifluorescensmikroskopi brukt til totaltallstillinger har en feilmargen på 10-30 % (Joachimsthal et al., 2003). For en tolkningsforklaring av og diskusjon om usikkerhet knyttet til konfidensintervall og konklusjoner fra hypotesetestinger vises det til Vedlegg I. De logaritmiske beregningene er kun basert på gjennomsnitt. Her er det ikke tatt hensyn til standardavvik, og dermed er ingen feilmarginer inkorporert i svarene. Usikkerheten knyttet til disse beregningene er derfor relativt stor.

### 6.2 Overensstemmelse med andres resultater

Det er tidligere gjennomført ett forsøk med behandlingssystemet. Dette skjedde 6. mai 2004, og systemoppsettet var da et noe annet enn i dag. Systemet ble den gang testet for effekten på

plankton og bakterier av skjærkraft ved 3 ulike gjennomstrømningshastigheter; 2,75 m<sup>3</sup>/h, 1,5 m<sup>3</sup>/h og 1,6 m<sup>3</sup>/h. Planktonanalysene ble utført av UNIFOB AS Seksjon for anvendt miljøforskning, og bakterieanalysen av AnalyCen AS. Rapporten fra denne testen ligger vedlagt (Vedlegg H), og bakterieprøvene her viser heller ikke noe redusert bakterieinnhold. Testene som er utført er ”totalt antall bakterier” ved 22 og 37 °C samt koliforme bakterier ved 37 °C. Disse resultatene underbygger dermed til en viss grad flere av resultatene i dette prosjektets forsøk.

### 6.3 Slutninger

Resultatene fra de tre forsøkene samlet sett, og i stor grad også hver for seg, tyder på at systemet ikke har en reduserende effekt på mikroorganismer. De reduksjoner som kanskje har skjedd er uansett ikke så betydelige at teknikkene, med de innstillinger som er testet, egner seg til behandling av ballastvann. Ballastvannkonvensjonens krav til *E. coli* er mindre enn 250 koloniformende enheter pr. 100 ml, for enterokokker gjelder mindre enn 100 cfu pr. 100 ml (IMO, 2004). Hvis ballastering skjer i et område som er utsatt for kloakkutslipp vil denne grensen trolig overstiges ganske kraftig, og behandlingen vannet mottar vil måtte garantere en kraftig reduksjon i bakteriekonsentrasjonen. I gjennomgangen av andre utprøvde systemer i kapittel 2.3.2 er det referert til biologisk effektivitet overfor bakterier på 90-99 %, noe dette systemet er et godt stykke fra å kunne hevde.

De signifikant høyere verdiene etter behandlingen av rent sjøvann kan mest sannsynlig forklares med at bakterier som før behandling var bundet til partikler i vannet har blitt ristet løs<sup>3</sup>. Bakterieaggregater på partikler vil ved dyrkning bare gi opphav til én koloni, mens når bakteriene blir ristet løs og fordelt kan de gi opphav til flere kolonier. Dette forklarer det relativt høye antallet tilfeller av signifikant økning i sjøvannsforsøket. I tilsatsforsøkene ble bakteriekonsentrasjonen økt så mye (i de fleste tilfellene en økning med faktor 10) at den relative økningen slik løsristing gav ble neglisjerbar i hypotesetestene. Dette viser seg i at en langt mindre andel av tilsatsforsøkene resulterte i konklusjonen signifikant økning. De signifikante økningene som ble observert i tilsatsforsøkene kan muligens forklares med ujevn fordeling av tilsatsbakterier. Den omrøring som ble utført etter tilsats garanterer på ingen måte jevn innblanding av bakteriene. Tilførsel fra biofilm dannet i systemet kan heller ikke utelukkes.

For de signifikant lavere verdiene i tilsatsforsøkene gjelder trolig samme forklaringsmodell som for de signifikante økningene – dårlig innblanding av tilsatsbakterier. Begrunnelsen for en slik forklaring, heller enn at behandlingsteknikken fungerer, er at resultatene ikke er konsistente for både *E. coli* og *V. fischeri*. Skjærkraft 3 bar gav en signifikant reduksjon av kimtall i forsøket med tilsats av *V. fischeri*, men samme teknikk i forsøket med tilsats av *E. coli* gav en signifikant økning av kimtall. Den ganske høye verdien på log<sub>10</sub>-endringen for *V. fischeri*, - 0,81, kan forklares med den relativt store usikkerheten som er forbundet med alle disse verdiene siden de kun bygger på gjennomsnittsverdier (se kapittel 6.1, siste avsnitt). Hvis behandlingen faktisk hadde fungert burde man ha observert en signifikant reduksjon for begge bakteriene ved samme behandlingsform, eller kanskje signifikant reduksjon for den ene og ingen statistisk endring for den andre. Den signifikante kimtallsreduksjonen med antrasitt 40 cm ved tilsats av *E. coli* hadde en log<sub>10</sub>-endring på - 0,57, men igjen må det pekes på hvor grovt dette målet for effekt er. Det ble ikke målt noen endring for *V. fischeri* ved denne

<sup>3</sup> Torsvik, Terje, Forsker I ved Inst. for Biologi, Universitetet i Bergen. Telefonsamtale 28.04.05.



behandlingsformen, et krav som må kunne stilles til et effektivt system. Konklusjonen om signifikant reduksjon er sikrere enn for skjærkraft 3 bar fordi forsøket med *V. fischeri* ikke gav direkte motstridende resultater, men resultatet er trolig ikke nok til å hevde at reduksjonen skyldes behandlingen.

Hvis de signifikante reduksjonene i kimtall mot formodning skyldes behandlingen er det verdt å merke seg at de tilhørende totaltallstillingene ikke viser noen endring. Dette betyr at den eventuelle virkningsmekanismen ikke er lysis av bakteriecellene gjennom oppflerring eller sprengning, slik hypotesen med bruk av skjærkraft og trykkendring var. Faktisk er begge de to signifikante reduksjonene som er observert reduksjoner i kimtall – ingen totaltallstillinger viste signifikante reduksjoner.

Filtreringen av sjøvannet gjennom marmor og dolomitt gav ingen økning i pH slik det var tenkt å gjøre. Dette betyr nødvendigvis at spørsmålet om hvorvidt en slik miljøfaktorendring har en reduserende effekt ikke kan besvares. Slutningen kan bare bli at måten dette var forsøkt gjort på ikke fungerte etter hensikten.

Resultatene til tross har det kommet nyttige erfaringer ut av arbeidet. For det første er det klarlagt at Knutsen OAS ikke trenger å bruke mer ressurser på å få nåværende systemkonfigurasjon til å redusere bakteriebelastningen. For en videre diskusjon om praktiske konsekvenser av dette punktet henvises det til kapittel 6.5. For det andre viser de mange statistisk signifikante økningene under sjøvannsforsøket at testing med rent sjøvann ikke er en egnet testmetode. Eventuelt må vannet behandles på en måte som gir løsrivning av bakterier fra partikler før det inngår i noe som helst slags testoppsett og prøvetaking. I senere forsøk med tilsats av bakteriekulturer må det bestrebes en god innblanding av slike. For det tredje ser valget av kvantifiseringsparametere ut til å ha vært fornuftig. Totaltallstillingene gav svar på om behandlingen førte til cellelysis slik hypotesen tilsa. Kimtall ville gitt svar på effekten av en pH-økning hvis denne mekanismen hadde fungert. Samtidig undersøkte denne parameteren også eventuelle uforutsette virkningsmekanismer som totaltall ikke ville avslørt, eksempelvis inaktivering av bakterier uten lysis. For det fjerde har registrerings- og dataanalyse-systemet som ble utviklet og brukt under forsøkene forenklet et ellers omfattende analysearbeid. Derfor kan dette med fordel videreutvikles og brukes i påfølgende undersøkelser.

#### **6.4 Hvorfor systemet ikke reduserer bakteriemengden**

Forklaringen på at skjærkraft som skaptes i strupeventilen ikke hadde målbar effekt er enten for lavt trykk eller for stor åpning i strupeventilen. For å ødelegge celleveggen trengs store krefter. Å flerre i stykker cellekulturer ved bruk av skjærkraft er et kjent instrument i bioteknologisk og mikrobiologisk forskning. For å nærme seg en forståelse av størrelsen på tilstrekkelig kraft for sprengning av bakteriemembraner, kan en se på meierienes homogenisator. Prosessen er ikke sammenlignbar i seg selv, det interessante ved en sammenligningen ligger i trykket. I homogenisatoren presses melk under høyt trykk gjennom en smal åpning ved hjelp av en stempelpumpe. Hensikten er å knuse fettpartikler på mikronivå (storenorskeleksikon.no). Trykket i homogenisatorene er 130 bar og melken har en strømning på 4000-6000 l/h<sup>4</sup>. Dette vil resultere i et mange ganger høyere trykkfall enn forsøkene med systemet i Smedasundet. Der varierte trykket fra 2-5 bar og strømningen fra 1600-2800 l/h. Det som er verdt å merke seg er at selv etter behandling med et slikt høyt trykk

---

<sup>4</sup> Halden, Atle, teknisk sjef Tine Meierier Sør. Telefonsamtale 07.04.05

i meieriene går melken gjennom et pasteuriseringstrinn for å fjerne skadelige mikroorganismer.

Dette fører fram til spørsmålsstillingen om hvor mye trykket må økes for å kunne rive i stykker mikroorganismer. Spørsmålet kan besvares ut fra laboratorieforsøk med en såkalt French press. Det er mulig å finne fram til hvilket trykk som skal til for å sprengte bakterier<sup>5</sup>, men det vil ikke være mulig å finne et entydig svar på et slikt spørsmål da bakterier har svært ulike grenser for hva slags belastninger de tåler. Gram-negative bakterier som *E. coli* og *V. fischeri* vil være enklere å ødelegge enn Gram-positive bakterier som pga. de mange tette peptidbindingene i celleveggen peptidoglykan er vanskeligere å åpne. Bakteriesporer vil være enda vanskeligere å ødelegge. Slike forsøk ligger imidlertid utenfor denne oppgavens rammer.

Antrasitt er mye brukt i filtrering av drikkevann i den hensikt å fjerne partikulært materiale og utfelt slam (Folkehelseinstituttet, 2004b). Nå var antrasittfilteret i denne sammenheng ikke tiltenkt noen filtrerende effekt, men heller å skape skjærkraft. I filteret vil dannes det som kan ses på som et utall små kanaler mellom antrasittkornene, som hver for seg vil fungere som en blende. Dernest skulle filteret skape et trykkfall. Hypotesen om at antrasittfilteret skulle ha noe effekt på bakteriene med disse mekanismene var feilslått. Dolomitt og marmor ga heller ikke den ønskede virkningen. Det ble ikke registrert noe pH-økning, noe som kan ha sin forklaring i at vannet gikk for raskt igjennom filteret.

## 6.5 Praktiske konsekvenser av undersøkelsene

Slutningen om at systemet ikke ser ut til å redusere bakteriemengden betyr at gjeldende behandlingsmetoder må endres eller at oppsettet må tilføyes nye ledd. Noen av de undersøkte behandlingsteknikkene har kanskje en reduserende effekt på plankton (se vedlegg H), men hvis de samme teknikkene skal brukes til å redusere bakteriemengden må det gjøres forbedringer.

Fjerning av mikroorganismer blir som oftest omtalt som sekundærbehandling i litteratur som omhandler ballastvannbehandling. De fleste systemer benytter en eller annen form for primærbehandling, vanligvis filtrering eller utskilling i sykron av større partikler. Selv om antrasittfiltrering ikke ser ut til å redusere bakteriemengden kan antrasitt muligens videreføres i en primærbehandlingsrolle.

Kapittel 2.3.2 inneholder en gjennomgang av noen behandlingsteknikker som har blitt utprøvd til ballastvannbehandling, samt en henvisning til en mer fullstendig gjennomgang av slik forskning. Noen sekundærbehandlingseksempler er (Mackey, 2001):

- Fysisk
  - UV-bestråling
  - Varme
  - Ultralyd
- Kjemisk
  - Klor
  - Ozon

---

<sup>5</sup> Torsvik, Terje, Forsker I ved Inst. for Biologi, Universitetet i Bergen. Telefonsamtale 28.04.05.



- Organiske biocider
  - SeaKleen
  - Glutaraldehyd

Knutsen OAS ser allerede nærmere på biocidet SeaKleen. SeaKleen er nærmere omtalt i kapittel 2.3.2, og i tilgjengelig litteratur er det beskrevet som effektivt mot plankton, men det kan synes som om dokumentert forskning mangler mht. effekt overfor mikroorganismer.

Tanken om mekanisk behandling av ballastvannet er svært god sett fra et sikkerhets- og miljømessig perspektiv. Kjemisk behandling er forbundet med utslipp av potensielt farlige stoffer. I tillegg stilles det store krav til mannskapet om sikker behandling av kjemikaliene.

## 6.6 Feilkilder

I det videre er det gjort en oppstilling av mulige feilkilder:

- Prøvematerialet
  - Forurenset
  - For få bakterier til at metodene er relevante
- Systemet
  - Biofilm i systemet som forurenses prøvene
  - Manglende trykktest
  - Feil innstilling
  - Feil i måleinstrumentene
- Prøvetaking
  - Forurensede flasker
  - Ombytting av flasker eller feilmerking
- Laboratoriearbeidet
  - Feil ved eller forurenset dyrkningsmedium
  - Varmeskapsvikt (uheldige temperatursvingninger)
  - Unøyaktighet og forurensning
  - Feil i metode
- Avlesing
  - Feil i telling
  - Feil i utregning
  - Feil innføring i datalister
- Databehandling
  - Feil lenking i Excel-formler

Resultatene er beheftet med en viss usikkerhet. Prøvematerialet kan mangle representativitet eller inneholde for få bakterier til at metodene er relevante. Dernest kan usikkerheten ligge i mangelfulle eller unøyaktige måleinstrumenter eller feil innstilling av disse. Mangel på rutine i bruk av metodene kan medføre både systematiske og tilfeldige feil, noe som ble forsøkt motvirket ved at arbeidsoppgavene ble fordelt slik at samme person gjorde de samme oppgavene under samtlige prøvetakinger. Antall prøver førte til at mengden skåler ble høyt slik at faren for forbytting var til stede. I tillegg kommer kvantifiseringsmetodenes relativt store feilmargin.

## Konklusjon

Ballastvann er en potensiell kilde for overføring og introduksjon av fremmede organismer og patogener. De økologiske, økonomiske og helsemessige konsekvensene av bruken er og kan bli store. Rederibransjen må være forberedt når internasjonale reguleringer for ballastvann om få år trer i kraft, og rederiene krever enkle og lite ressurskrevende løsninger. Å forene tilfredsstillende biologisk effektivitet med kostnadseffektivitet er derfor av stor betydning i utviklingen av behandlingssystemer for ballastvann. I tillegg kommer miljø- og sikkerhetsmessige krav. Dette er forsøkt gjort i det undersøkte systemet.

Forsøk med rent sjøvann viste seg å være problematisk på grunn av interferens fra bakterier som ble løsrevet fra aggregater på partikler i vannet. Løsningen ble å øke bakteriekonsentrasjonen i prøvevannet ved å tilsette oppdyrket bakteriekultur av relevante bakteriearter og derved gjøre slike tilskudd neglisjerbare i statistiske tester. Kvantifiseringsmetodene gav svar på hypotesen om virkningsmekanismer av skjærkraft og antrasitt, og undersøkte i tillegg muligheten for reduksjon i uforutsette prosesser.

Problemstillingen stilte spørsmålet: Har behandlingssystemet for ballastvann utviklet ved Knutsen OAS en reduserende effekt på bakterier, og undersøkelsene har gitt et statistisk solid underbygget svar. Det konkluderes derfor med at systemet, med det oppsett og de innstillinger og kombinasjoner det er undersøkt ved, ikke ser ut til å ha noen reduserende effekt på bakterier. I beste fall er reduksjonen marginal og ikke tilstrekkelig. Det er påvist statistisk signifikant reduksjon i bakteriekonsentrasjon i tilsatsforsøk etter filtrering gjennom 40 cm antrasitt og ved skjærkraft 3 bar, men dette skyldes trolig dårlig dispergering av tilsatsorganismer heller enn systemets behandling.

Fra et miljømessig synspunkt er ideen med mekanisk behandling av ballastvann svært gunstig fordi en slik behandlingsform ikke medfører noen form for utslipp. Derfor kan det oppfordres til videre undersøkelser av utslippsfrie behandlingsteknikker. Dersom slike forsøk skulle vise seg lite fruktbare kan biocidet SeaKleen som Knutsen OAS vurderer å ta i bruk synes miljømessig akseptabelt ut fra litteraturen, men effekten på mikroorganismer er usikker.

Fram mot ikrafttredelse av internasjonale reguleringer for ballastvann vil det skje mye forskning på selve ballastvannproblematikken samt innen utvikling av behandlingssystemer. Fokus vil nok være rettet i aller størst grad mot behandling av ballastvann, men også ideen om å fjerne ballastvann helt er en teoretisk mulighet. Deteksjonsmetoder for bruk til håndheving vil også kreve mer forskning enn hva det ser ut til å ha fått til nå. Flowcytometri ser her lovende ut, men spesifisiteten i DNA-baserte metoder gjør at disse har et enda potensial som bør utnyttes av tilsynsmyndigheter når den tid kommer. Risikoen forbundet med utslipp av ballastvann avhenger blant annet av miljøforhold, og dette åpner for en risikobasert tilnærming og dermed en kostnadseffektiv styring hvis man internasjonalt klarer å enes om akseptkriterier.



## Referanser

- Atlas, R.M. & Parks, L.C. (1993) **Handbook of Microbiological Media**. Boca Raton, Fla. CRC Press Inc.
- Ballastvann med giftproduserende alger og sykdomsfremkallende bakterier og virus (2001) **Havbruk**, november [Internett] Tilgjengelig fra:  
<<http://www.havbruk.no/bladet/infonor/infonor2001/oppdrett/ballastvann1101.html>>  
[Lest 31.01.05]
- Bergeon, M.G. & Ouellette, M. (1998) Preventing Antibiotic Resistance through Rapid Genotypic Identification of Bacteria and of Their Antibiotic Resistance Genes in the Clinical Microbiology Laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**. Vol. 36, No. 8, August, s. 2169-2172.
- Bergesen DY ASA. Annual Report 2002. I: **Research on ballast water** [Internett] Tilgjengelig fra:  
<[http://www.bergesen.no/Bergesen/company.nsf/vdoclink/Reports/\\$FILE/115695.pdf](http://www.bergesen.no/Bergesen/company.nsf/vdoclink/Reports/$FILE/115695.pdf)>  
[Lest 07.01.05]
- Botnen, H. & Jelmert, A. (2002) Ballastvann – en fare for det norske havmiljøet? **Fiskeriteknisk fagblad**, Vol. 9, Nr. 3, s.37-39.
- Carlton, J.T., Geller, J.B. (1993) Ecological roulette: The global transport of nonindigenous marine organisms. **Science**, Vol. 261 Utg. 5117, s.78.
- Dragsund, E. & Andersen, A.B. (2002) **Utredning av helårig petroleumsvirksomhet i området Lofoten – Barentshavet. Konsekvenser av utslipp av ballastvann og sedimenter. ULB-studie nr. 16**. Rapport nr. 2002-1405 [Internett] Det Norske Veritas AS. Tilgjengelig fra: <<http://odin.dep.no/filarkiv/177507/Ballastvann050503.pdf>>  
[Lest 08.01.05]
- Ese, Torleiv (1998) **Kompendium i fluidmekanikk**. HSH trykk.
- Flaten, T.P. (1998) Drikkevann og helse. **Tidsskrift for Den norske lægeförening** [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://www.tidsskriftet.no/tsweb/199830/leder5.html>> [Lest 02.05.05]
- Folkehelseinstituttet (2004a) Vannforsyningens ABC. I: **A. Innledning** [Internett] Tilgjengelig fra:  
<[http://www.fhi.no/custom/loadstate.asp?state=\(%27Area\\_4504%27,%27\\_blank%27,%27-3:46612%27,%274336%27,%2710%27,2\)>](http://www.fhi.no/custom/loadstate.asp?state=(%27Area_4504%27,%27_blank%27,%27-3:46612%27,%274336%27,%2710%27,2)>)> [Publisert 19.05.04]
- Folkehelseinstituttet. (2004b) I: **D. Vannbehandling** [Internett] Tilgjengelig fra:  
<[http://www.fhi.no/custom/loadstate.asp?state=\(%27Area\\_4504%27,%27\\_blank%27,%27-3:46614%27,%274336%27,%2710%27,2\)>](http://www.fhi.no/custom/loadstate.asp?state=(%27Area_4504%27,%27_blank%27,%27-3:46614%27,%274336%27,%2710%27,2)>)> [Publisert 19.05.04]

- forskning.no (2002) **Når fryser havet?** [Internett] Tilgjengelig fra:  
<<http://www.forskning.no/SvarArtikler/1034263657.56>> [Lest 28.04.05]
- Global Ballast Water Management Programme (2004) **R&D Directory**. 2nd Edition.  
Programme Coordination Unit. Global Ballast Water Management Programme.  
International Maritime Organization
- Grønsund, S. & Birkevold, H. (2005) Knutsen OAS bygger LNG-tanker i Spania.  
**Aftenbladet.no** [Internett] 29. januar. Tilgjengelig fra:  
<http://web3.aftenbladet.no/innenriks/okonomi/article173047.ece> [Oppdatert  
29.01.05]
- HAa. (2000a) Anaerob korrosjon. **Botanisk og plantefysiologisk leksikon** [Internett]  
Tilgjengelig fra: <<http://biologi.uio.no/plfys/haa/leks/a/abiotisk.htm>> [Sist oppdatert  
18.02.00]
- HAa. (2000b) Anaerob korrosjon. **Botanisk og plantefysiologisk leksikon** [Internett]  
Tilgjengelig fra: <<http://biologi.uio.no/plfys/haa/leks/a/anaerko.htm>> [Sist oppdatert  
30.05.00]
- Hansen, G.H. (1997) **Laboratoriekurs i Miljømikrobiologi**. Våren 1997. HSH trykk.
- Hansen, G.H. (2004) **Laboratoriekurs i Si 069 Biologiske arbeidsmiljøfaktorer**. Våren  
2004. HSH trykk.
- Heldal, T. (2002) **Norsk marmor – finnes det?** [Internett] Tilgjengelig fra:  
<<http://www.ngu.no/FileArchive/91/marmor.pdf>> [Lest 04.02.05]
- IMO (2005) **GloBallast – The Problem**. [Internett]. Tilgjengelig fra:  
<<http://globallast.imo.org/index.asp?page=problem.htm&menu=true>> [Lest 31.03.05]
- International Conference on Ballast Water Management for Ships. 2004. **International  
Convention for the Control and Management of Ship's Ballast Water and  
Sediments, 2004**. International Maritime Organization.
- International Cooperation on Marine Engineering Systems/The Society of Naval Architects  
and Marine Engineers (ICMES/SNAME) New York Metropolitan Section  
Symposium. 2000. New York, (2000) **Technologies for Ballast Water Management**.  
Mackey, T.P., Tagg, R.D. & Parsons, M.G. [Internett] Tilgjengelig fra:  
<[http://www.optimarin.com/PDF\\_Files/BW\\_ICMES\\_Mar\\_30\\_Final.pdf](http://www.optimarin.com/PDF_Files/BW_ICMES_Mar_30_Final.pdf)> [Lest  
07.01.05]
- International Maritime Organization Assembly, 20th session. 1997. **Resolution A.868(20):  
Guidelines for the Control and Management of Ship's Ballast Water to Minimize  
the Transfer of Harmful Aquatic Organisms and Pathogens**. International  
Maritime Organization.



- International Symposium on Microbial Ecology, 9th (ISME-9). August 2001. Amsterdam.  
**Risk of introducing potential pathogens by release of ballast water.** Hansen, G.H., Hafstad J. & Klyve A.
- Joachimsthal, E.L. et al. (2003) Flow cytometry and conventional enumeration of microorganisms in ships' ballast water and marine samples. **Marine Pollution Bulletin**, 46 (2003), s.308-312.
- Jomaas, B. (2003) **Ballastvannproblemet løses?** [Internett] Tilgjengelig fra: <[http://www.nrk.no/programmer/tv/schrodingers\\_katt/2458477.html](http://www.nrk.no/programmer/tv/schrodingers_katt/2458477.html)> [Sist oppdatert 16.01.03]
- Knutsen OAS. (2004) **KNUT'N Company Magazine for Knutsen OAS Shipping AS**, NO. 2, 7th volume
- Knutsen OAS. **Company**. [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://www.knutsenoas.com/upload/html/company.htm>> [Oppdatert 03.01.05]
- Knutsen OAS. **The history**. [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://www.knutsenoas.com/upload/html/history.htm>> [Oppdatert 03.01.05]
- Krogh, A.T. **Enkel desinfeksjon av brønn/cisterne med KLORIN**. [Internett] Porsgrunn kommune. Tilgjengelig fra: <<http://www.porsgrunn.kommune.no/ITFPRG/add/KnGWebsider.nsf/0/BE029DC6719AFB53C1256B8700320C07?OpenDocument>> [Sist oppdatert 25.10.02]
- Larstad, T. red. (2004) **Faktaheftet 2004 Norsk Petroleumsvirksomhet: 7 Salg av norskprodusert petroleum**. [Internett] Olje- og energidepartementet. Tilgjengelig fra: <<http://odin.dep.no/filarkiv/204421/FaktaOG0704.pdf>> [Lest 21.01.05]
- Mackey, T.P. (2001) **Ballast Water Treatment Technologies: Including a Review of Initial Testing and Lessons Learned Aboard the Regal Princess** [Internett] Tilgjengelig fra: <[http://www.optimarin.com/PDF\\_Files/TPM\\_MEETS\\_Final.pdf](http://www.optimarin.com/PDF_Files/TPM_MEETS_Final.pdf)> [Lest 07.01.05]
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. & Parker, J. (2003) **Brock biology of microorganisms**, 10. utg. Upper Saddle River, N.J., USA. Prentice Hall.
- Marine Environmental Protection Committee, 53rd session. 2004. **Harmful Aquatic Organisms in Ballast Water. Draft Guidelines for the Approval of Ballast water Management Systems. Note by the Secretariat**. International Maritime Organization.
- Norges Rederiforbund (2004) **Kvartalsinformasjon om skipsfart og offshorevirksomhet**. [Internett] Nr. 4, 2004. Norges Rederiforbund. Tilgjengelig fra: <<http://www.rederi.no/file.asp?File=Internetdokumenter/Kvarten/kvartalsinfo%20norsk%20okt%2004.pdf>> [Lest 21.01.05]



- Standard Norge (1990) NS4788:1990 1.utg. **Vannundersøkelse - Koliforme bakterier – Membranfiltermetode.**
- Rederiforbundets miljøseminar. 2004. **Teknologi for ballastvannbehandling – hva er status?** Josefsen, K.D. [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://www.rederi.no/file.asp?File=Internetdokumenter/3%20Josefsen%20BW-teknologi.pdf>> [Lest 07.01.05]
- Ruiz, G.M. et al. (2000) Global spread of microorganisms by ships. **Nature**, Årg. 408 Utg. 6808, s.49.
- Singh, A. & McFeters, G.A. (1992) Detection methods for Waterborne Pathogens. I: **Environmental Microbiology**. Wiley-Liss, Inc.
- Setreng, S.K. & Album, G. (2001) **Hvor fartøy flyte kan... der følger ballastvann**. Nr. 1/2001. Naturvernforbundet
- Spilde, I. (2003) Uskyldig dømt? **Forskning.no** [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://www.forskning.no/Artikler/2003/september/1064495951.99>> [Publisert 29.09.03]
- Stokland, I.G., Schive, P.W. (2002) **Oppfølging og utredning av tiltak overfor ballastvann**. Brev fra Miljøverndepartementet til Sjøfartsdirektoratet. [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://odin.dep.no/md/norsk/temaer/forurensning/022051-110008/dok-bn.html>> [Lest 21.01.05]
- St.meld. nr. 12 (2001-2002) Rent og rikt hav, kap. 3.6 **Spredning av fremmede organismer og genmodifiserte organismer (GMO)** [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://odin.dep.no/md/norsk/dok/regpubl/stmeld/022001-040013/hov004-bn.html>> [Lest 21.01.05]
- The Ballast-Free Ship – Fact of Fancy? (2004) **Ballast Water News**, Issue 17 April-June, s.6.
- United Nations Convention on the Law of the Sea (UNCLOS)**. [Internett] Tilgjengelig fra: <[http://www.un.org/Depts/los/convention\\_agreements/texts/unclos/unclos\\_e.pdf](http://www.un.org/Depts/los/convention_agreements/texts/unclos/unclos_e.pdf)> [Lest 16.02.05]
- US Coastguard. **Aquatic Nuisance Species** [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://www.uscg.mil/hq/g-m/mso/ans.htm>> [Lest 17.01.05]
- US Coastguard. **Coast Guard's Ballast Water Management Program** [Internett] Tilgjengelig fra: <<http://www.uscg.mil/hq/g-m/mso/bwm.htm>> [Lest 17.01.05]
- Wright, D. (u.å.) **The use of SeaKleen as a treatment of Ballast water**. [Internett] Tilgjengelig fra: <[http://wdfw.wa.gov/fish/ballast/jan08\\_wright.pdf](http://wdfw.wa.gov/fish/ballast/jan08_wright.pdf)> [Lest 2005-05-03]



## **Bilder**

Bilde forside: Knutsen OAS

Figur 1-1: Knutsen OAS



## Vedleggsoversikt

- A. Utfyllende resultatpresentasjon
- B. Registreringsskjema for prøvetaking
- C. Registreringsskjema for prøveresultater
- D. Innstillinger for ballastvannsystemet
- E. Resultater fra testing med sjøvann
- F. Resultater fra testing med *Escherichia coli*
- G. Resultater fra testing med *Vibrio fischeri*
- H. Resultater fra UNIFOB-undersøkelse
- I: Statistiske metoder

Referanser

### **Tillegg i elektronisk utgave**

- J. Forsøk med sjøvann.xls
- K. Forsøk med *Escherichia coli*.xls
- L. Forsøk med *Vibrio fischeri*.xls