

# Aplicación de una técnica sencilla para determinación de fitoplancton en agua de red

*Maza, Natacha<sup>1</sup>; Ullmer, Florencia<sup>1</sup>; Ruibal Conti, Ana Laura<sup>1,2</sup>; Ruiz, Marcia<sup>1,2</sup>; Rodriguez, Maria Inés<sup>1</sup>*

1 INA-CIRSA, Ambrosio Olmos 1142, Córdoba Argentina

2 Universidad Católica de Córdoba. Facultad Ciencias Químicas.

E-mail: natigmaza@gmail.com

## RESUMEN

La presencia de fitoplancton en la fuente natural para abastecimiento de agua potable, puede causar en ésta numerosos problemas relacionados con las propiedades organolépticas (olor y sabor), presencia de toxinas y dificultades en el proceso de tratamiento entre otros. Por esta razón, el agua potabilizada cuya fuente natural tiene riesgos o antecedentes de floraciones algales, requiere tanto en planta como en red de distribución, de un control continuo de su calidad por parte de los organismos que la proveen y aquellos que regulan su calidad. Para tal fin, existen diversas técnicas de identificación y cuantificación de algas. En el presente trabajo se presentan resultados, dificultades y ventajas en la experiencia de aplicar una técnica sencilla para determinar presencia, composición y abundancia de fitoplancton en agua de red de abastecimiento proveniente de distintas fuentes y potabilizadoras. El 99,6% de las muestras presentaron resultados positivos en cuanto a la presencia de fitoplancton, identificándose 52 géneros, 3 de los cuales pertenecen a cianobacterias potencialmente productoras de toxinas.

*Palabras claves: calidad de agua, algas, potabilización.*

## INTRODUCCIÓN

Todos los seres vivos dependemos de un aporte de agua para desarrollar funciones vitales. Desde las civilizaciones antiguas hasta las más modernas, las personas han buscado fuentes de agua que puedan cubrir sus necesidades. Con el surgimiento de las grandes ciudades en la edad moderna, comenzaron a desarrollarse extensas redes de distribución de agua que permitan a los numerosos habitantes de éstas el acceso al agua. Sin embargo, la accesibilidad al agua no es la única preocupación, la calidad de ella es fundamental para la salud de las personas como se menciona en numerosos estudios científicos (Rojas, 2002 y Lozada, et al. 2009).

En nuestro país, la calidad del agua está regulada por entes estatales provinciales, que ejercen vigilancia sobre el recurso y las empresas proveedoras. En Argentina existen normativas como la actual vigente en la Provincia de Córdoba (Norma Provincial de Control y Calidad de Agua para Bebida Decreto 174/2016), en donde en relación al fitoplancton indica que “si bien aún no hay datos suficientes para establecer un límite numérico, debe evitarse la presencia de organismos o sus metabolitos perjudiciales en el agua”. A nivel nacional el Código Alimentario Argentino (Ley 18284) indica que el agua potable “no deberá contener sustancias o cuerpos extraños de origen biológico, orgánico, inorgánico o radiactivo en tenores tales que la hagan peligrosa para la salud”. Las Guías de Calidad para Agua Potable de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017) sugieren una lista de parámetros de monitoreo operativo que pueden utilizarse para la vigilancia de las medidas de control entre las que se incluye a las algas, sus toxinas y metabolitos tanto en el agua cruda como en el sistema de distribución.

La presencia de fitoplancton en las fuentes de agua superficiales (lagos, embalses y ríos) es natural, y tanto su abundancia como su diversidad son específicas de cada cuerpo de agua. Sin embargo, la presencia de fitoplancton en fuentes de abastecimiento puede provocar problemas de salud como así también sabores y olores desagradables.

Las cianobacterias pueden otorgar al agua olor a tierra (geosmina), moho (2-Metil Isoborneol) y sulfuroso (mercaptanos). Las diatomeas pueden dar un olor frutal o fragante (aldehídos de alto peso molecular) y a pescado (n-Heptanal). Este último también es característico de flageladas como *Ceratium* (n-Hexanal). Durante el proceso de potabilización, oxidantes como el ozono, permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno y cloro son efectivos para la remoción de olores, como así también

el carbón activado. La elección del tratamiento depende de los compuestos involucrados en la generación de olores y sabores y de las instalaciones de la planta de tratamiento (Busso, 2009).

Por otro lado, las cianobacterias pueden provocar reacciones de tipo alérgica al producir distintas cianotoxinas que según el órgano blanco al cual se dirijan se clasifican en hepatotoxinas, neurotoxinas y dermatotoxinas. Las cianotoxinas más conocidas son las microcistinas, cilindrospermopsinas, saxitoxinas, nodularinas y anatoxinas. La eficiencia en la eliminación de estos compuestos tóxicos depende de la implementación y combinación de distintos tratamientos (ej: ozonización, carbón activado, cloración) (USEPA, 2012; Izaguirre et al., 2009).

Debido a lo expuesto anteriormente, se destaca la importancia en la detección y cuantificación de fitoplancton. Para ello existen diferentes métodos que varían en su complejidad, algunos más simples como el método de Utermöhl y otros más complejos como los métodos de hibridación del ARN. La elección de cada método depende de los objetivos de trabajo así como las disponibilidades de recursos (Karlson et. al.2010).

### *Objetivos*

1. Mostrar resultados obtenidos en la aplicación de una técnica sencilla para determinar presencia, composición y abundancia de fitoplancton en agua potable de diversas fuentes de aguas superficiales.
2. Revisar bibliográficamente las técnicas actuales posibles y comparar la aplicada indicando beneficios y dificultades de la misma.

## MATERIALES Y METODOLOGÍA

Se analizaron 92 muestras de agua potabilizada tomadas inmediatamente a la salida de la planta potabilizadora de 13 localidades durante un año (un promedio entre 7 y 8 muestras al mes).

Se tomaron 2 L de muestra en envases plásticos, limpios, debidamente rotulados con cámara de aire y se conservaron a 4°C para su traslado al laboratorio (APHA, 2005: 10200 B); las muestras fueron concentradas por filtración (APHA 2005: 10200 C). De cada muestra, se tomaron dos volúmenes diferentes que fueron filtrados con equipo de bomba de vacío, obteniendo dos réplicas por muestra. Luego, se acondicionó el filtro con aceite de inmersión en una caja de Petri y se lo colocó en una cámara de desecación para evitar el polvo y humedad ambiente durante un mínimo de 48 horas. Posteriormente, se realizó la identificación y recuento de fitoplancton en el microscopio según lo indicado en la técnica (APHA, 2005: 10200 F). El análisis de los filtros consistió de dos etapas, en la

primera, se realizó un barrido en el microscopio y se registró presencia o ausencia de fitoplancton, materia orgánica e inorgánica, se definió para cada uno de estos un estado abundante o escaso, teniendo de referencia si en el filtro se contabilizaron  $\geq 10$  o  $\leq 10$  unidades, respectivamente. En una segunda etapa, se determinó la abundancia de organismos presentes, para ello se contabilizó el número de individuos presentes de cada género de fitoplancton, en dos transectas  $255\mu\text{m}$  de ancho por  $30000\mu\text{m}$  de longitud. La identificación a nivel de género se realizó con el apoyo de claves taxonómicas de Prescott (1954) Lopretto y Tell (1995) Streble y Krauter (1987) y Bourelly (1957). El recuento fue realizado en un microscopio provisto de ocular 10x graduado y objetivos de 25x y 40x. El valor reportado en cél/mL se obtuvo por cálculo en relación al volumen filtrado y al número de campos contados del área total del filtro.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presenta una breve revisión de técnicas de cuantificación de fitoplancton, necesaria para evaluar la conveniencia de la técnica aplicada.

### ***a) Toma de muestra***

En esta etapa, es importante considerar la condición de la fuente natural para determinar la frecuencia y los momentos en el proceso de potabilización en que se deben tomar las muestras para fitoplancton. La Organización Mundial de la Salud sugiere realizar este análisis en el agua de entrada (cruda) y también a la salida, en el sistema de distribución. En el caso de agua cruda el volumen sugerido por APHA (American Public Health Association) es muy amplio, de 0.5 a 6 L (APHA 2005 :10200 B). Para el control de fitoplancton y zooplancton en aguas filtradas o tratadas, la normativa local vigente en Córdoba (Decreto 174 /16) sugiere concentrar una cantidad de 50 a 150 L a través de mallas de plancton de  $25\mu\text{m}$  de porosidad, procediéndose a su examen microscópico de forma cualitativa o cuantitativa, según metodología descrita para esta determinación.

La toma se realiza en envase de plástico o vidrio con cámara de aire y se conserva en oscuridad a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  para ser analizada dentro de las 24 hs. Caso contrario puede conservarse en Lugol (3 mL/L) hasta tres meses.

**b) Concentración**

Hay diferentes métodos para la concentración de fitoplancton; ésta puede ser por sedimentación, filtración o centrifugación. La Tabla 1 resume las distintas opciones de concentración de muestra. (APHA, 2005: 10200 C; McNabb, 1960).

**Tabla 1.-** Diferentes opciones de concentración de la muestra para análisis de fitoplancton.

	Sedimentación (APHA,;,10200 C)	Centrifugación (APHA,;,10200 C)	Filtración (APHA,;,10200 C)
Ventajas	No es selectiva. No es destructiva.	Insume menor tiempo.	Permite retener una mayor diversidad de organismos. Insume menor tiempo.
Desventajas	Puede que el nano, picoplancton y los móviles no sedimenten. Insume mayor tiempo.	Puede dañar los organismos más frágiles.	Algunos organismos pueden verse distorsionados.
Volumen	De 100 mL a 1 L dependiente del origen.	10-15 mL.	Dependiente del grado de turbidez, abundancia y cantidad de detrito.
Tiempo	Dependiente del volumen, puede requerir trasvase y nueva sedimentación (1h por mm de columna).	Inmediata.	Inmediata.
Equipo e insumos	Cámaras de Uthermol o Probetas.	Centrífuga Tubos de 10 mL. (Tiempo=1000g/20 min).	Filtro de celulosa 0.45 µm de diám. de poro. Equipo de filtración con bomba de vacío. (Presión no mayor a 50 kPa).

**c) Recuento**

El recuento en microscopio puede realizarse en cámaras de recuento o en filtro, dependiendo del objetivo del análisis. En la Tabla 2 se resumen algunos de los principales métodos de recuento, junto con sus requerimientos y las ventajas y desventajas de cada uno.

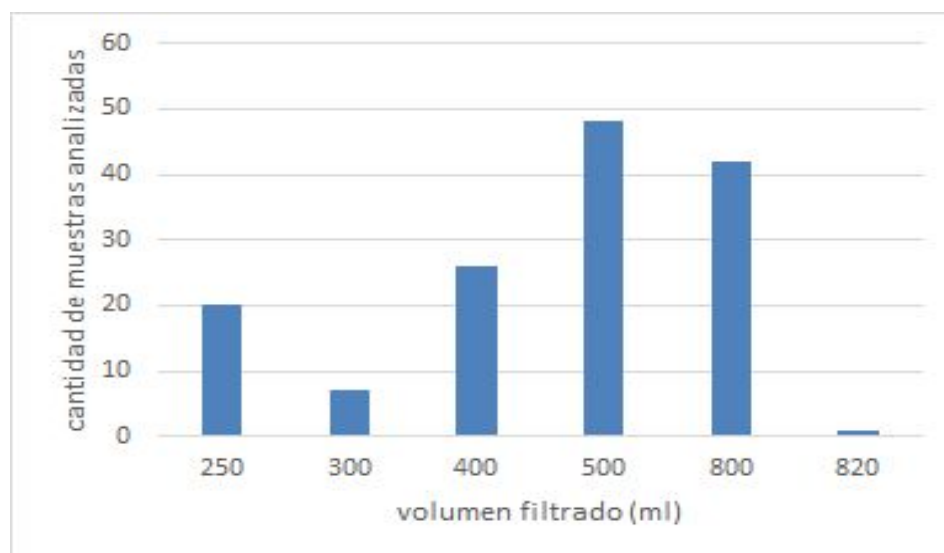
**Tabla 2.-** Métodos de recuento y requerimientos.

<b>REQUERIMIENTOS</b>	<b>MÉTODOS</b>		
	<b>Cámara de recuento</b>	<b>Filtro de membrana</b>	<b>LCM (Lackey drop-transect method)</b>
<b>Microscopio</b>	Invertido.	Compuesto estándar.	Compuesto estándar.
<b>Aumento requerido</b>	Dependiendo del fitoplancton a analizar, desde 20x a 400x.	Dependiendo del fitoplancton a analizar, desde 20x a 400x.	Dependiendo del fitoplancton a analizar, desde 20x a 400x.
<b>Retículas y reglas</b>	Es necesario el uso de rejillas de recuento.	Es necesario el uso de rejillas o reglas oculares para recuento.	Es necesario el uso de rejillas o reglas oculares para recuento.
<b>Elementos necesarios</b>	Tubos de sedimentación, pipetas, cubreobjetos.	Filtros de membrana , bomba de vacío, cubreobjetos, portaobjetos.	Pipetas, cubreobjetos, portaobjetos.
<b>Ventajas</b>	Las células no se deforman, lo que facilita el conteo y la determinación de especies.	Los filtros pueden preservarse para un recuento posterior. Puede filtrarse un gran volumen. Se puede diferenciar células vivas de las que no lo están.	Puede realizarse en un corto periodo de tiempo. Las células no se deforman.

<b>Desventajas</b>	El tiempo necesario para la sedimentación previa al análisis es de 48 horas.	Las células pueden deformarse. En muestras con otras partículas, éstas pueden interferir en la detección de fitoplancton.	El volumen usado es muy pequeño (40 mL). Las muestras se secan rápidamente.
--------------------	--	---	---

### ***Resultados de la técnica aplicada***

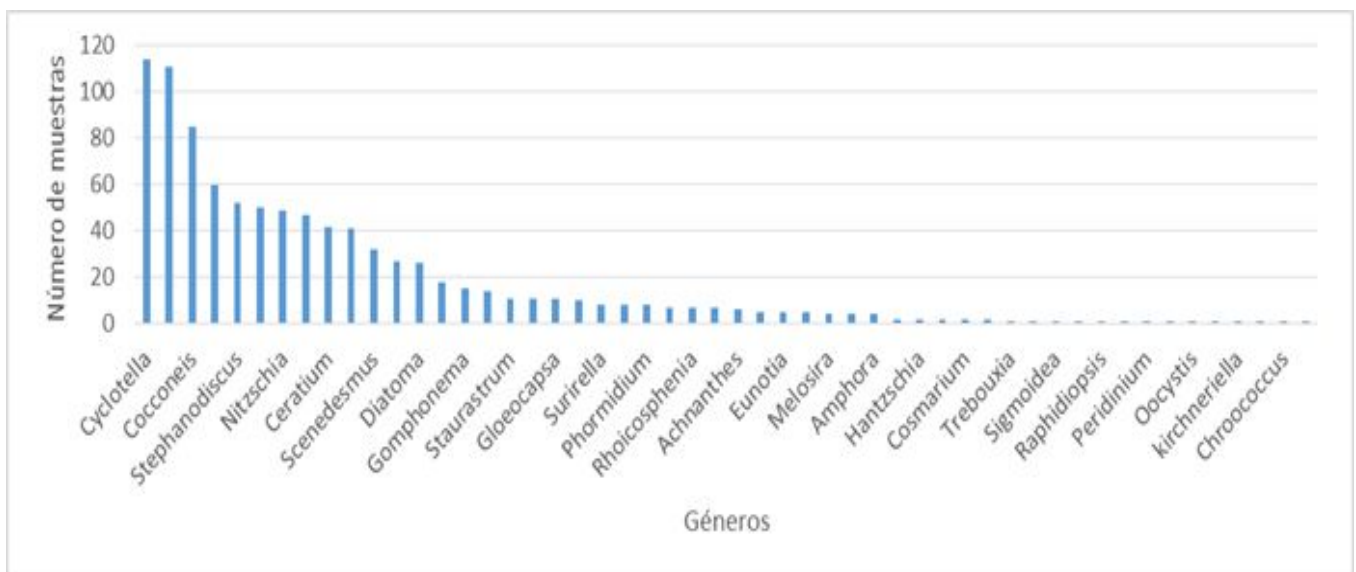
Los volúmenes filtrados variaron en un rango de 250 mL hasta 820 mL (Figura 1), siendo los volúmenes de 500 y 800 mL los más frecuentes. Teniendo como objetivo la detección de fitoplancton en la muestra, se puso como meta filtrar el volumen máximo próximo a la saturación del filtro y ante la posibilidad de que se dificulte la visualización en microscopio, se optó por obtener un segundo filtro igual a la mitad del primer volumen. En esta etapa se utilizaron filtros de nitrocelulosa, y filtros de acetato de celulosa de 0.45µm diámetro de poro, resultando mejores los primeros ya que los últimos se curvaron, dificultando el análisis. Se consideró la cantidad de volumen y la coloración del filtro como primer indicador cualitativo de material superior a 0,45 µm. Un aspecto a tener en cuenta es que se debe agitar bien la muestra antes de filtrar, de modo que sea homogénea. La presión de vacío también es importante ya que si es mayor a la indicada puede dañar las células o deformarlas.



**Figura 1.-** Variedad de volúmenes en la etapa de concentración (filtración).

El tiempo total destinado a la técnica y a su análisis fue cercano a una hora y media por muestra. La filtración insumió aproximadamente 30 minutos por muestra y estuvo afectada por la cantidad de material en el agua que obtura el filtro. En el análisis el tiempo que se empleó fue en promedio una hora por muestra, dependiendo la abundancia de fitoplancton presente en los filtros. Esta técnica presenta como ventajas la posibilidad de analizar los filtros en una fecha posterior a la toma de la muestra y el procesamiento conjunto de éstas.

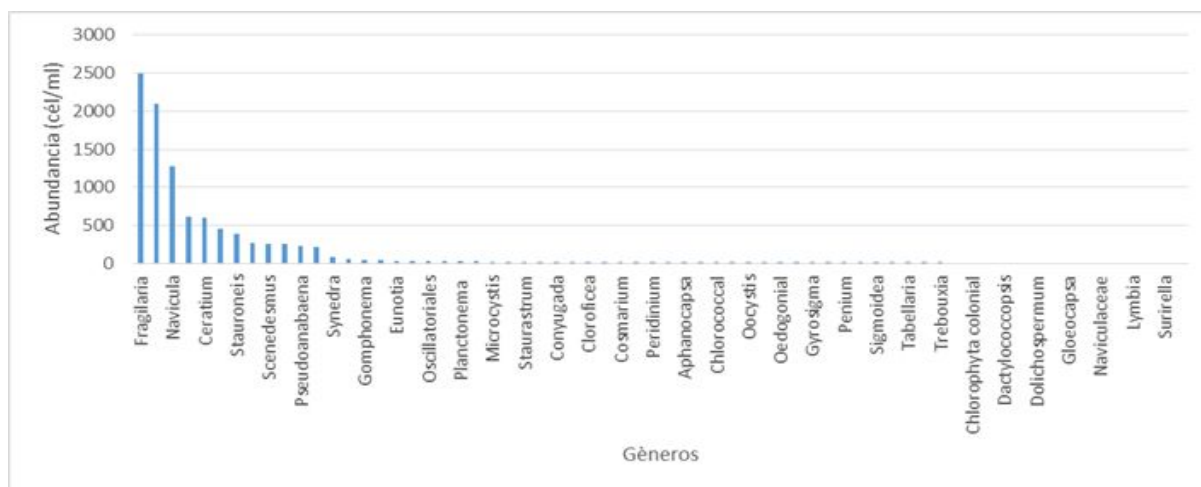
El 99.6% de las muestras resultaron positivas para la presencia de fitoplancton, las muestras que resultaron negativas fueron las provenientes de fuentes de agua subterránea. En las muestras analizadas se lograron determinar 52 géneros, 7 órdenes y 7 familias de fitoplancton. Los géneros más frecuentes de las diatomeas fueron *Cyclotella*, *Navicula*, *Cocconeis*, *Stauroneis* y *Stephanodiscus* (Figura 2).



**Figura 2.-** Géneros detectados con mayor frecuencia en muestras de agua de red.

Las algas más abundantes (Figura 3) se ubicaron dentro de las Chlorophytas coloniales, seguidas por los géneros *Fragilaria*, *Cyclotella*, *Navicula* y *Aulacoseira*. Se puede observar que sólo dos de los géneros más frecuentes presentaron una abundancia alta.





**Figura 3.-** Abundancia de géneros registrados en muestras de agua de red.

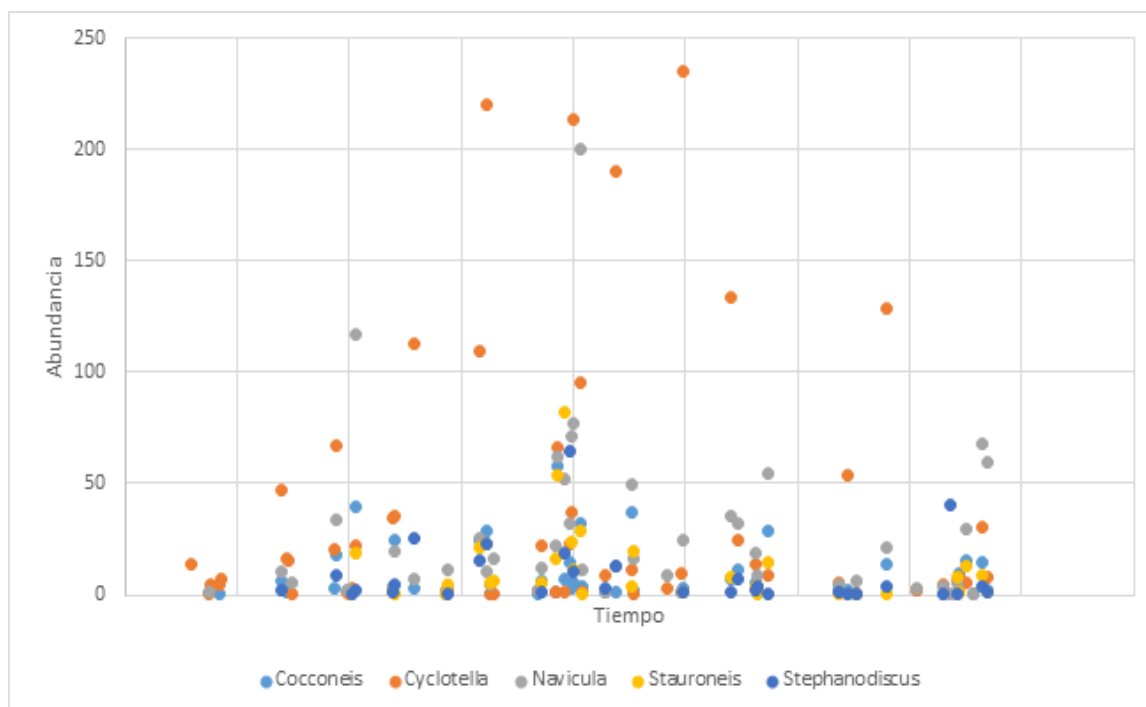
En relación con el total de muestras analizadas, el 31% de las mismas resultaron positivas para cianobacterias. Los géneros que se detectaron fueron *Dactylococcopsis*, *Dolichospermum*, *Gloeocapsa*, *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Microcystis*, *Oscillatoriales*, *Pseudoanabaena* y *Raphidiopsis*. Con respecto a la abundancia total, el porcentaje representativo de la familia Cyanophyceae fue de 8.23%. En la Tabla 3 se muestran los géneros cuyas abundancias contribuyen en más del 1% a la abundancia total de las muestras, en la misma se destacan los géneros de cianobacterias.

**Tabla 3.-** Lista de los grupos hallados en las muestras de agua de red ordenados por género dentro de las diferentes clases como grupo taxonómico superior.

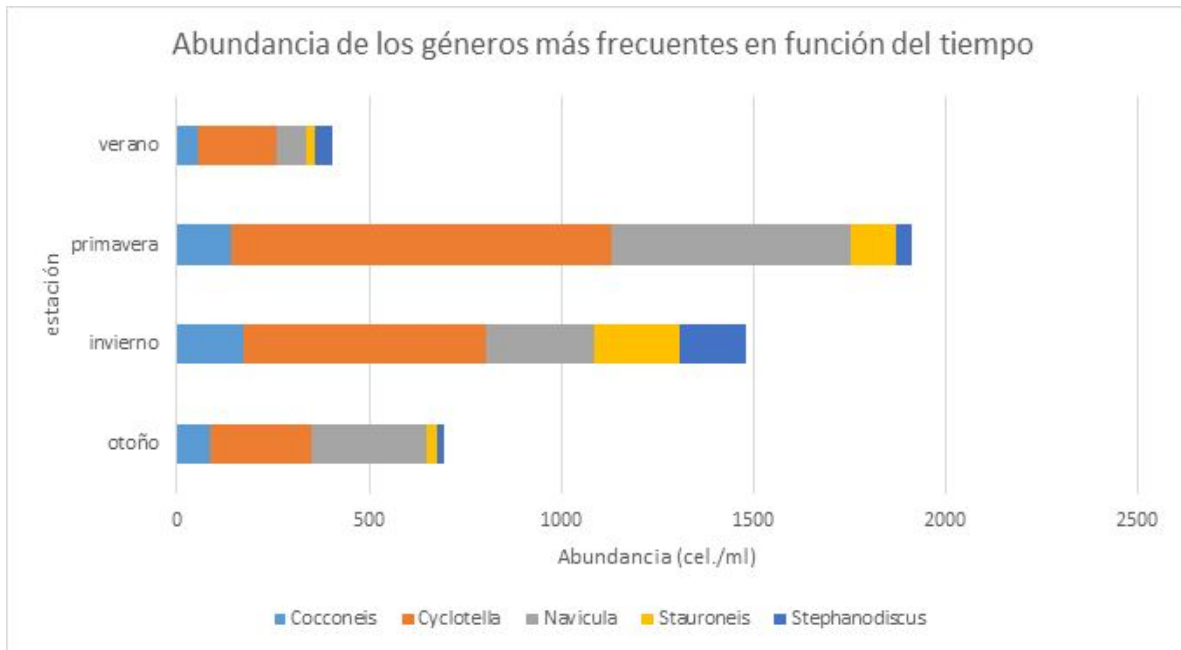
GRUPO TAXONÓMICO SUPERIOR	GÉNEROS	%
Dinophyceae	Ceratium	4,0
<b>Cyanophyceae</b>	<b>Dolichospermum</b>	<b>3,8</b>
	<b>Gloeocapsa</b>	<b>2,0</b>
	<b>Pseudoanabaena</b>	<b>1,6</b>
Chlorophyceae	Scenedesmus	1,8
	Chlorophyta colonial	22,8
	Pediastrum	1,8
Pennales Bacillariophycidae	Aulacoseira	4,2
	Cocconeis	3,1

	Cyclotella	14,1
	Cymbella	1,4
	Navicula	8,7
	Naviculaceae	1,4
	Nitzschia	1,3
	Stauroneis	2,6
	Stephanodiscus	1,8
	Otros (géneros con abundancia menor a 1)	5,4
Pennales Fragilariophycidae	Fragilaria	16,9
Pennales		1,4

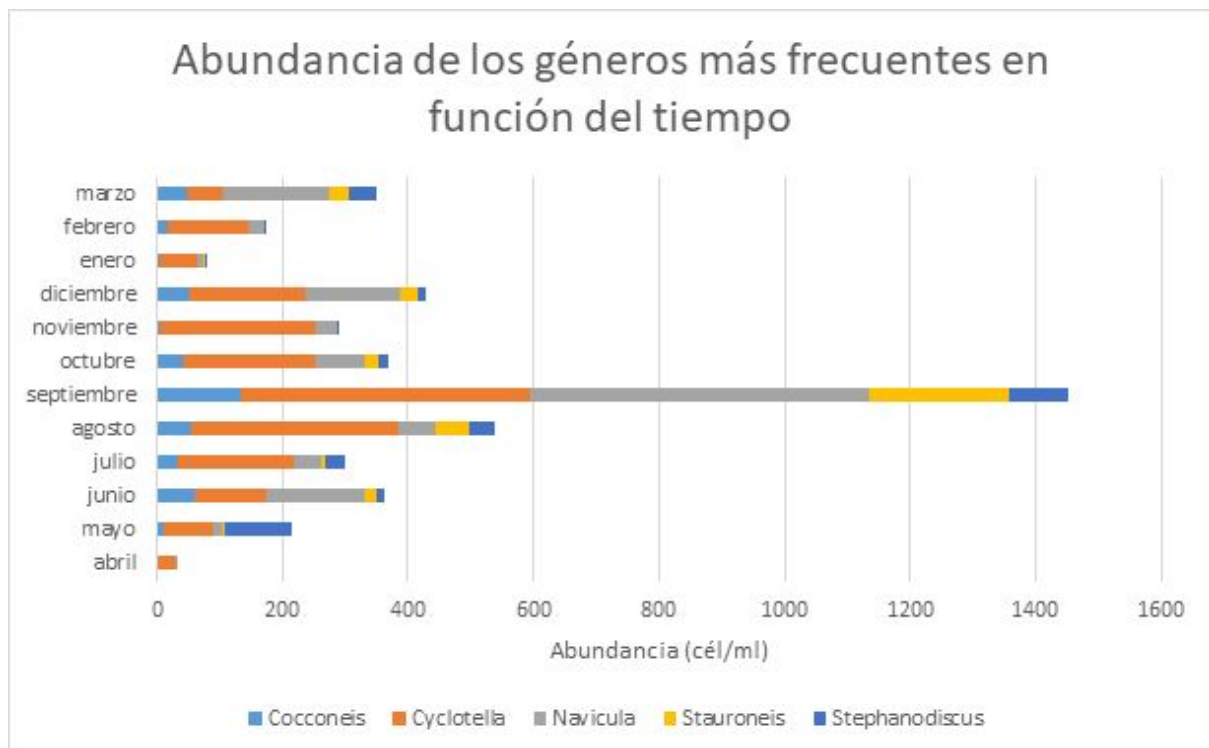
La abundancia de los géneros encontrados no fue estable y, presentó una variación a lo largo del tiempo de análisis. En la Figura 4 se presenta la variación de los géneros más frecuentes, en este caso se puede observar un incremento en la abundancia de fitoplancton, siendo más notoria en el caso del género *Cyclotella*.



**Figura 4.-** Variabilidad en la abundancia de principales géneros registrados.



**Figura 5.-** Abundancia de los géneros más frecuentes en las estaciones de verano, primavera, invierno, otoño.



**Figura 6.-** Abundancia de los géneros más frecuentes en cada mes del año.

Se observa un pico en la abundancia en primavera (Figuras 5 y 6). En esta estación, se produce un incremento en las densidades poblacionales, que se relacionan con el aumento en la disponibilidad de luz, temperatura y la estabilización de la columna de agua, en lo que se conoce como el “bloom” de primavera de las diatomeas (Karlson, B et al. 2010).

## CONCLUSIONES

La técnica aplicada resultó útil para el análisis de fitoplancton en agua potable, principalmente en lo que respecta al control del agua para consumo, que se mostró como un análisis expeditivo y confiable. A su vez permite cumplir con lo exigido por el Decreto 174/16, en donde se estipula que si hay presencia de algas potencialmente productoras de cianotoxinas, se debe realizar también control y análisis de presencia de microcistinas y de Geosmina.

De todas las muestras analizadas sólo el 0,4% presentó ausencia de fitoplancton, indicando que el proceso de potabilización debería ser ajustado para garantizar la calidad sanitaria. La abundancia algal aumentó notoriamente a partir de septiembre; debido a que las mismas se elevaron en las fuentes de provisión, por el aumento de la temperatura ambiente, por lo que es aconsejable que las plantas potabilizadoras en este período realicen ajustes más eficientes en el proceso y controles más estrictos para evitar el incremento de estos valores durante los meses más críticos.

## REFERENCIAS

APHA (2005) Parte 10200. Plankton. En *Métodos Estándar para el Examen de Agua y Aguas Residuales*, 21<sup>st</sup> Ed.. Asociación Americana de Salud Pública, Washington, DC.

APHA (2005) Parte 10200B. Recolección de muestras. En *Métodos Estándar para el Examen de Agua y Aguas Residuales*, 21<sup>st</sup> Ed. Asociación Americana de Salud Pública, Washington, DC.

APHA (2005) Parte 10200C. Técnicas de concentración . En *Métodos Estándar para el Examen de Agua y Aguas Residuales*, 21<sup>st</sup> Ed Asociación Americana de Salud Pública, Washington, DC.

APHA (2005) Parte 10200F. Técnicas de recuento de Fitoplancton. En *Métodos Estándar para el Examen de Agua y Aguas Residuales*, 21<sup>st</sup> Ed. Asociación Americana de Salud Pública, Washington, DC.

Busso, Fanny (2009) Olores y Sabores en Agua, Cap 5 en Cianobacterias y Cianotoxinas, Identificación, toxicología, monitoreo y evaluación de riesgo. pp. 79-89. Ed. de autor, Corrientes, Argentina.

Izaguirre, C; Román N. y Bogarin C.G. (2009) Tratamiento para disminuir la incidencia de cianobacterias y cianotoxinas en plantas potabilizadoras Cap. 10 en Cianobacterias y Cianotoxinas, Identificación, toxicología, monitoreo y evaluación de riesgo. pp. 193-220. Ed. de autor, Corrientes, Argentina.

Karlson, B., Cusack, C., & Bresnan, E. (2010). Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis. Intergovernmental Oceanographic Commission of ©UNESCO. Paris, UNESCO. (IOC Manuals and Guides, no. 55.) (IOC/2010/MG/55).110 pages.

Lopretto E., Tell G. (1995) Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio. Tomo II. Ediciones sur, 895p.

McNabb, C. D. (1960). Enumeration of freshwater phytoplankton concentrates on the membrane filter1. *Limnology and Oceanography*, 5(1), 57-61.

Prescott, G. (1954) How to know the fresh-water algae. WM. C. Company. Dubuque, Iowa. 211 p.

Rojas, R. (2002). Guía para la vigilancia y control de la calidad del agua para consumo humano. Lima: CEPIS/OPS. Lozada, P. T., Vélez, C. H. C., & Patino, P. (2009). Índices de calidad de agua en fuentes superficiales utilizadas en la producción de agua para consumo humano. Una revisión crítica. *Revista de Ingenierías: Universidad de Medellín*, 8(15), 3.

SRHyC-MAAySP-Gob. Pcia de Cba, (2016) Normas Provinciales de Calidad y Control de Aguas para Bebida N° 174.

Streble, H.; Krauter, D. (1987) Atlas de los Microorganismos de Agua Dulce. La vida en una gota de agua. Ediciones Omega, 365p. Bourelly, P. (1957) Les algues d'eau Douce. Initiation á la Systématique. Tome I: Les Algues Vertes. Éditions N. Boubée & Cie. 570p.

Swanepoel, A., du Preez, H., Schoeman, C., Janse van Vuuren, S., & Sundram, A. (2008). Condensed laboratory methods for monitoring phytoplankton, including cyanobacteria, in South African freshwaters. Report to the Water Research Commission BY Rand Water, 117p.

OMS (2017) Organización Mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable. Vol. 1: Recomendaciones. Cuarta edición.

Resolución 174/16 Normas Provinciales de Calidad y Control de Aguas Para Bebida de Córdoba. Ministerio de agua, ambiente y servicios públicos. Secretaría de Recursos Hídricos. Resolución N° 174 Córdoba, 3 de Agosto de 2016.

USEPA. (2012). Cyanobacteria and Cyanotoxins: Information for Drinking Water Systems. *United States Environmental Protection Agency EPA-810F11001, Office of Water.*