

# ESTUDIO SOBRE LA CALIDAD DE AGUA DE RED EN BAHIA BLANCA, ARGENTINA.

**Ricardo Omar Echenique, Leda Giannuzzi<sup>2</sup>, Luis Alberto Ferrari<sup>3</sup> y Diana Mary González<sup>4</sup>**

## **Sobre los autores:**

**Ricardo Echenique** es Doctor en Ciencias Naturales (UNLP) y se desempeña como Investigador Adjunto de la CIC (Prov. De Buenos Aires). Lugar de trabajo, Departamento Científico Ficología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). [rechen@museo.fcnym.unlp.edu.ar](mailto:rechen@museo.fcnym.unlp.edu.ar) / (0221) 425-7744, INT 128.

**Leda Giannuzzi** es Doctora en Ciencias Químicas (UBA). Se desempeña como Profesor Adjunto (a cargo) de Toxicología y Química Legal y es Investigador Adjunto CONICET. Lugar de Trabajo: Centro de Investigación y Desarrollo en Criótecnología de Alimentos (CIDCA). [leda@biol.unlp.edu.ar](mailto:leda@biol.unlp.edu.ar) / (0221) 425-4853.

**Luis Alberto Ferrari** es Licenciado en Ciencias Químicas (Universidad de Morón). Se desempeña como Jefe del Laboratorio de Toxicología y Química Legal de la Asesoría Pericial de la Suprema Corte de Justicia de la Provincia de Buenos Aires. Es Profesor Asociado, Interino (a cargo) de Toxicología y Química Legal (Universidad de Morón). [laferrari@unimoron.edu.ar](mailto:laferrari@unimoron.edu.ar) / (0221) 422-3332.

**Diana Mary González** es Doctora en Bioquímica (UNSL). Se desempeña como Profesor Asociado dedicación exclusiva, (a cargo) de Toxicología y Química Legal (para Bioquímica), de Química Toxicológica y Legal (para Lic. en Química) y de Toxicidad de Medicamentos (optativo para Farmacia) (UNSL). [dgonza@unsl.edu.ar](mailto:dgonza@unsl.edu.ar) / (02652) 423-789, int. 112.

Palabras Clave: Cyanobacteria, Calidad de agua de red, compuestos volátiles, Eficiencia Depuradora, toxicidad aguda, trihalometanos

## RESUMEN

En abril de 2000, en Bahía Blanca (Argentina) se detectaron alteraciones en la calidad del agua de bebida (turbidez; olor semejante al del pesticida organoclorado "Gamexane"). Esto coincidió con manifestaciones dérmicas y problemas respiratorios en la población. Se analizaron muestras, tomadas en el embalse Paso de las Piedras; en la entrada y salida de las plantas potabilizadoras y en domicilios particulares de la ciudad. El total fitoplanctónico en el embalse, fluctuó entre 49440 y 84960 cél.ml<sup>-1</sup> y la especie dominante resultó *Anabaena circinalis*. Fue cuantificada la efectividad depuradora (ED). En el agua domiciliaria, se realizaron estudios cualitativos y cuantitativos del fitoplancton, análisis bacteriológicos; plaguicidas, THM, BTEX y toxicidad aguda. Bacteriológicamente el agua era potable, sin embargo, se encontraron individuos de *Anabaena circinalis* y *Microcystis aeruginosa*. Los valores de THM, BTEX y plaguicidas, resultaron menores a valores guías para agua potable. Se detectó la presencia de Geosmina, responsable del olor. Se halló otro compuesto volátil, Copaene, que podría llegar a considerarse precursor de la Geosmina. Los resultados de los ensayos de toxicidad aguda fueron negativos. Se menciona por primera vez la presencia de Cyanobacteria en aguas de consumo en Argentina.

## INTRODUCCIÓN

Las Cyanobacteria suelen producir una amplia serie de metabolitos secundarios entre los que se incluyen hepatotoxinas, neurotoxinas y citotoxinas. En general, el estudio de estas toxinas se realiza con especies de aguas continentales, donde las toxinas son responsables de provocar problemas agudos y/o crónicos en animales, llegando a ocasionarles la muerte (Francis, 1878; Odriozola *et al.*, 1984; Cook *et al.*, 1989; García de Emiliani & Emiliani, 1997 y Carmichael & Falconer, 1993), generando en muchas oportunidades, el deterioro de los limnotopos que sirven de fuente de agua potable o para uso recreativo. (Carmichael, 1989; Codd, 1995; 1999 y Falconer, 1993). Los efectos sobre la salud humana atribuidos a las cianotoxinas, mayormente ocasionados en cuerpos de agua continentales, han sido discutidos por varios autores (Carmichael, 1997; Falconer, 1996; Carmichael & Falconer, 1993 y González *et al.*, 2001). Los incidentes incluyen, entre otros trastornos, hepatoenteritis, gastroenteritis, problemas en las conjuntivas y disturbios respiratorios, ya sea por contacto o por ingesta de agua con altas concentraciones algales en agua de bebida o en ambientes recreativos. Se han registrado incidentes como consecuencia de exposiciones, únicas o por un corto período, con floraciones de Cyanobacteria y sus toxinas. Mediante ensayos de laboratorio en cobayos, se ha comprobado que estas toxinas pueden provocar teratogénesis y actúan como precursoras de tumores en hígado (Carmichael & Falconer, 1993; Codd, 1994; Carmichael, 1994, Falconer, 1996; 1998; Falconer & Humpage, 1996 y Echenique, 1999). Según

investigaciones realizadas en China, las consecuencias sufridas como resultado de largos períodos de consumo de aguas conteniendo cianotoxinas (microcistinas), han provocado una alta incidencia en el desarrollo de cáncer de hígado en habitantes de la región (Falconer 1998). Asimismo, en la localidad de Caruaru, Brasil, se ha producido el único suceso de muerte de seres humanos relacionado con cianotoxinas (Carmichael, 1996; Jochimsen et al. 1998). En esa ocasión una serie de pacientes de una clínica de hemodiálisis fallecieron luego de ser tratados con agua de red proveniente de un embalse donde se hallaban poblaciones de Cyanobacteria las que estaban liberando microcistinas.

Las comunidades planctónicas responsables de la eutroficación con una baja biodiversidad, esta caracterizada en muchas ocasiones por la predominancia de algas verde-azules y el consecuente desarrollo de floraciones. La presencia de Cyanobacteria tóxicas ha sido reportada en al menos 44 países . (Carmichael & Falconer, 1993; Chorus & Bartram, 1999 y Codd, 1995). En Argentina, entre los taxones más comúnmente mencionados como responsables de floraciones algales, tanto en ecosistemas naturales como en ambientes artificiales, son *Anabaena circinalis* y *Microcystis aeruginosa* (Echenique & González, 1998 y Echenique, 1999). En Pizzolon, 1996 y Pizzolon *et. al.*, 1999, se enumeran una serie de ambientes de aguas continentales de Argentina con riesgo de intoxicación por Cyanobacteria, resultando responsables, en la mayoría de los casos, especies pertenecientes a los géneros *Microcystis* y *Anabaena*. Sin embargo, la ocurrencia de especies cianotóxicas en de agua de red no ha sido bien estudiada.

La presencia de cianotoxinas en ambientes que sirven como fuente de abastecimiento de agua potable ha provocado un incremento en el desarrollo de metodologías que sirven para detectar e identificar las toxinas (Hrudey *et al.*, 1993). Estos avances han incrementado nuestro conocimiento del potencial riesgo que estas toxinas pueden acarrear.

Farlow (1983) indica que las algas verde-azules fueron las responsables de los cambios de sabores y olores en aguas generalmente descriptos como semejantes al generado por la tierra húmeda. Con relación a la generación de olores y sabores, las Cyanobacteria son capaces de generar dos compuestos volátiles, la geosmina y el metilisoborneol, los cuales suelen contribuir a importantes cambios en las características organolépticas del agua e incluso de los organismos acuáticos (Slater & Block, 1983; Jüttner, 1988; Silva *et al.*, 1995 y González *et al.*, 2001).

Asimismo, una serie de sustancias suelen acompañar la descomposición de las cianobacterias o pueden ser metabolitos producidos por ellas. Entre estos se encuentran los trihalometanos (THM) y benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX).

Durante los meses de abril y mayo de 2000 se detectó la presencia de un fuerte olor, similar al producido por el insecticida organoclorado comercialmente conocido como "Gamexane", tanto en el área del embalse, como en el ámbito urbano, en Bahía Blanca, asociado a la presencia de una gran cantidad de material particulado en el agua de distribución domiciliaria.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- 1) Identificar y cuantificar las algas, bacterias y compuestos de interés toxicológico en las muestras de agua del embalse, de las plantas de tratamiento y del agua de red domiciliaria, correspondiente a la ciudad de Bahía Blanca, Argentina.
- 2) Evaluar la presencia de compuestos biogénicos volátiles.
- 3) Verificar la existencia de toxicidad algal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El agua de bebida de la zona proviene del embalse Paso de las Piedras y es potabilizada en dos plantas de tratamiento ubicadas en la zona: Planta 1 (P1) y Planta 2 (P2). El embalse está situado a los 61°12' W y 38° 22' S, con una superficie de 27.52 Km<sup>2</sup>. Abastece de agua potable a dos ciudades, Bahía Blanca y Punta Alta, con una población aproximada de 400.000 personas.

Fueron recolectados un total de 20 muestras de agua. En el embalse, se obtuvieron en las proximidades de la toma de agua; en las plantas potabilizadoras se tomaron en las entradas y salidas y en la red, en 14 domicilios particulares dentro de la ciudad de Bahía Blanca, determinados al azar.

**1. Análisis microscópico del fitoplancton.** Las muestras para el estudio cualitativo del fitoplancton, en el embalse y en las plantas potabilizadoras, se colectaron utilizando red de plancton de malla de 30 µm de poro. Para el análisis cuantitativo, las muestras se obtuvieron, en el embalse y en las plantas potabilizadoras, con botella del tipo van Dorn y en los domicilios particulares en forma directa en las canillas de ingreso. Las muestras cualitativas se estudiaron “*in vivo*” con microscopio fotónico Wild M20 provisto de cámara de dibujo y fotográfica; las cuantitativas, se fijaron “*in situ*” con solución de lugol al 1% y se estudiaron con microscopio invertido Carl Zeiss, siguiendo la metodología propuesta por Utermöhl (1958).

**2. Análisis físicos, químico y bacteriológico.** El estudio físico y químico consistió en el análisis cuantitativo de nitratos, nitritos, cloruros, sulfatos empleando las técnicas descriptas en Standard Methods (APHA, 1998).

El análisis bacteriológico se efectuó sobre las muestras de agua domiciliarias utilizando sobre 1 ml de muestra con el fin de determinar el recuento de bacterias heterótrofas totales mesófilas en medio Agar Nutritivo (Pour Plate Procedure) por incubación a 37°C durante 48 hs., Método 9215B. Se efectuó la cuantificación de bacterias coliformes totales y coliformes termo resistentes siguiendo el procedimiento de NMP según Método 9221B y 9221C (APHA, 1998). Se investigó la presencia de microorganismos patógenos: *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (APHA, 1998)

**3. Detección de plaguicidas organoclorados, fosforados y carbamatos.** La técnica empleada para la detección de estos compuestos corresponde a la descrita por Moffat & Clarke's, 1986 y Ferrari, 1985. La presencia de plaguicidas se analizó mediante técnicas de extracción en columnas de fase sólida, Extrelut (Merck). Se acidificaron 20 ml de muestra con solución saturada de ácido tartárico hasta pH 4.0, transfiriendo a la columna y dejando reposar 15 minutos, luego se eluyó la columna con 40 ml de éter de petróleo y luego con 40 ml una mezcla de éter de petróleo-éter etílico (50:50). El líquido se concentró en evaporador rotatorio. El residuo se redisolvió en 0.5 ml de éter etílico/etanol absoluto (50:50). Para la identificación cuali-cuantitativa, se utilizó cromatoplasmas de HPTLC de fase estacionaria silicagel 60 con indicador de fluorescencia (Merck). Como fase móvil se utilizó ciclohexano/n-hexano/cloroformo/acetona (40:40:10:10). Se sembraron testigos de concentración conocida de  $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$  (Paration, Heptacloro, Diclorodifeniltricloroetano (DDT), diclorodifenilvinilfosfato (DDVP) y carbofuran). Para la detección se realizó primero la observación con luz ultravioleta a 254 nm y luego una aspersion con solución de difenilamina al 0,2% en alcohol absoluto para el revelado de los pesticidas organoclorados, exponiendo a continuación a la luz solar o luz de Wood durante una hora. Seguidamente se realizó el revelado de los pesticidas carbámicos empleando solución de hidróxido de potasio 1N y luego solución saturada de 4-nitrobenzenodiazoniotetrafluorborato en etilenglicol/etanol (1:9). Finalmente se empleó como revelador solución de cloruro de paladio 0.5% P:V en ácido clorhídrico al 10%. Estos últimos reactivos cromógenos se aplican en forma secuencial, teniendo en cuenta la zona donde se resuelven las máculas.

**4. Detección y cuantificación de compuestos biogénicos volátiles.** Las muestras para el análisis químico fueron obtenidas con frascos de color caramelo de 250 ml de capacidad previamente lavados con mezcla sulfocrómica y posteriormente, tres veces, con agua bidestilada. Inmediatamente de recolectadas las muestras fueron mantenidas a 2-4 °C durante tres horas. Las extracciones fueron realizadas mediante el uso de fibras para microextracción en fase sólida (SPME), marca Supelco (100  $\mu\text{m}$  polidimetilsiloxano), sumergiendo la microfibra en las muestras previa agitación magnética durante 20 minutos. La identificación y estimación de las concentraciones fueron efectuadas por Cromatografía gaseosa, con un equipo Shimadzu GC-17A, con columna capilar DB-5 J & W y detector de masas (MS) Shimadzu QP-5000. Las condiciones cromatográficas fueron: temperatura de inyección: 150 °C; temperatura inicial de horno: 40 °C, durante 2 min.; con un gradiente de 10 °C/min. hasta 250°C y de 25°C/min hasta 300°C hasta 2 min.

**5. Ensayos de toxicidad aguda.** Los análisis de toxicidad aguda se llevaron a cabo con las muestras obtenidas en la red domiciliaria. La concentración del material algal se efectuó por centrifugación a 10000 rpm y el residuo fue lavado con NaCl al 0.9%. La biomasa fue liofilizada previa suspensión en solución fisiológica estéril a una concentración de 20 g/l en un liofilizador Termovac FD 6 (FRS Inc., Island Park, New York, USA) utilizando vacío de

300 millitorr. El material se mantuvo a  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior uso. La resuspensión del mismo se realizó en solución fisiológica y sometido a ultrasonido empleando un sonicador Sonic & Materials, Inc., Danbury, Connecticut, USA seguida de centrifugación a 40000 rpm y posterior inyección intraperitoneal de 0.5 ml de sobrenadante a un lote de 12 ratones machos adultos cepa Rockland. Los animales fueron controlados durante 5 días luego de la inyección para la observación de los síntomas característicos de intoxicación aguda (Repavich *et al.*, 1990). Los animales testigos fueron inyectados con 0.5 ml de solución fisiológica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**1. Embalse Paso de Las Piedras.** En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos mediante el análisis cuantitativo del fitoplancton en las 2 muestras de aguas provenientes del embalse Paso de las Piedras. La densidad celular, del total fitoplanctónico, fluctuó entre 49440 y 84960  $\text{cél.ml}^{-1}$ , valor muy por encima de los valores de referencia a escala mundial.

Asimismo, se detectó *Anabaena circinalis* en muy altas concentraciones siendo la especie dominante, con valor de entre 48320 y 84032  $\text{cél.ml}^{-1}$ . El resto de las algas identificadas se presentaron con valores muy bajos, resultando su presencia escasa o rara.

Las autoridades australianas encargadas de la provisión de agua de red han adoptado un sistema de alerta toxicológico basado en tres niveles de densidad celular de Cyanobacteria en fuentes de provisión. Según este sistema, el Nivel 1 esta entre 500-2000  $\text{cel.ml}^{-1}$ , el Nivel 2 entre 2000-15000  $\text{cel.ml}^{-1}$  iniciándose los testeos de toxicidad aguda y se advierte a los responsables de las plantas potabilizadoras, a fin de que las mismas adviertan sobre el consumo a la población. El Nivel 3 esta cuando las concentraciones de Cyanobacteria se encuentran entre 15000-20000  $\text{cel.ml}^{-1}$ , estas condiciones indican un fuerte riesgo para la salud, por lo cual se indica la total abstención de consumo domiciliario del agua y la prohibición de los limnotopos donde se encuentren estas concentraciones, para su uso recreacional (Carmichael & Falconer, 1993).

Como puede observarse las concentraciones de especies cianotóxicas en las muestras del embalse analizadas superaron ampliamente el Nivel máximo de alerta sugerido por las autoridades australianas.

**1.2. Plantas de tratamiento de agua (Planta 1 y Planta 2).** En la Tabla 2 se presentan los valores de densidad fitoplanctónica hallados a partir del análisis de las muestras provenientes de las entradas y salidas de las plantas potabilizadoras, P1 y P2. Puede observarse que en la entrada de ambas plantas, *Microcystis aeruginosa* se presenta en mayor proporción (90.5 y 88.9%) luego *Chroomonas sp.* (5.2 y 4.0%) y *Anabaena circinalis* (2.1 y 2.2%) respectivamente. En la salida, la presencia de *Microcystis aeruginosa* disminuyó ligeramente (49.0 y 87%) mientras que *Anabaena circinalis* aumentó en número (50.5 y 12.0%) para P1 y P2 respectivamente. Por ello, se evaluó la efectividad depuradora

(ED) de las plantas de tratamiento mediante su capacidad de retener células de las algas estudiadas usando la siguiente expresión:

$$ED = ((N^{\circ}cel)_e - (N^{\circ}cel)_s) / (N^{\circ}cel)_e \quad (1)$$

Donde  $(N^{\circ}cel)_e$  y  $(N^{\circ}cel)_s$  corresponde al número de células de cada especie algal determinada a la entrada y a la salida de las plantas respectivamente.

Si la planta funciona en forma adecuada, a la salida de la planta el número de células debiera ser cero (no detectado) y ED es igual a 1. Si la planta no retiene células, el número de células a la entrada y salida de planta son iguales y ED es igual a cero. En el caso de aumentar el número de células, ED es negativo y mayor a medida que el número de células a la salida de la planta aumenta. En la Tabla 2 se presenta el valor de ED para las dos plantas y para cada tipo de algas analizadas. Puede observarse que P1 presenta un ED= -29 para el caso de *Anabaena circinalis* lo cual indica que en la planta se presenten condiciones favorables para el crecimiento de este tipo de algas; para *Microcystis aeruginosa* el valor de ED= 0.32 indica eficiencia del funcionamiento del 32%. En P2 se observó un valor de ED= -0.2 para *Anabaena circinalis* por lo cual la planta también resulta ineficiente en la retención algal, mientras que para *Microcystis aeruginosa* presenta ED= 0.79, representando un 79% de eficiencia depurativa. El resto de las algas estudiadas presentan ED= 1 con eficiencia del 100% en ambas plantas (1 y 2). El análisis de ED realizado con el número total de células indicó que P1 presenta una eficiencia en la depuración de -26% indicando proliferación en el número total de algas mientras que en P2 la eficiencia fue mayor, alcanzando un 78%.

Esta situación observada en algas de potencial toxicogénico (*Anabaena circinalis* y *Microcystis aeruginosa*) con un aumento en el número de células no es coincidente con lo esperado según el tratamiento de agua por floculación y sedimentación junto con filtración por arena, lo cual debiera remover las células y restos celulares de Cyanobacteria, en este caso la formación de compuestos odoríferos en cuerpos de agua es el resultado de la actividad biológica de bacterias, Cyanobacteria, otras algas y macrofitas (Carmichael & Falconer, 1993).

La densidad algal detectada, principalmente de *Anabaena circinalis* y de *Microcystis aeruginosa*, encontrada en la salida de las plantas potabilizadoras y la presencia de compuestos olorosos en las mismas llevó a estudiar las muestras de agua domiciliarias como potencial riesgo a la salud de los consumidores.

**1.3. Agua domiciliaria. 1.3.1. Análisis Fitoplanctónico.** El agua del embalse es utilizada para abastecer de agua a la población, previa potabilización. Considerando la alta concentración de algas encontradas, tanto en el embalse como en las salidas de las plantas, se realizaron estudios de identificación y cuantificación de Cyanobacteria en muestras domiciliarias. En la Tabla 4 se presentan los resultados de la cuantificación de algas halladas en 14 muestras de agua de red tomadas en la ciudad de Bahía Blanca. Las algas predominantes en todos los casos fueron *Anabaena circinalis* y *Microcystis*

*aeruginosa* variando su relación entre 52.0-99.8% del total de muestras analizadas. Se analizó la relación existente entre *Anabaena circinalis*/*Microcystis aeruginosa* en función de la cantidad total de algas estudiadas (Fig. 1). Puede observarse que la mayoría de las muestras presentan una relación entre algas mayor que 1 y solo en 3 muestras la relación fue menor a uno. Ello confirma que en las muestras de agua de red resultó predominante *Anabaena circinalis*, pudiendo así determinarse una distribución del tipo de algas en función de la densidad fitoplanctónica total. Para un valor total menor a 5000 cel.ml<sup>-1</sup> predomina *Anabaena circinalis*, mientras que si el recuento es mayor, el predominio corresponde a *Microcystis aeruginosa*.

En la República Argentina existen distintas normas que regulan la calidad del agua de red. En las mismas se hace referencia a la presencia de algas fitoplanctónicas. A nivel nacional, el Código Alimentario Argentino indica que el agua potable de uso domiciliario, no deberá contener sustancias o cuerpos extraños de origen biológico, orgánico, inorgánico o radiactivo en tenores tales que la hagan peligrosa para la salud. Asimismo, explicita que deberá presentar sabor agradable y ser prácticamente incolora, inodora, límpida y transparente.

Por su parte en la Provincia de Buenos Aires, la Ley 11820 regula que en el agua potable el fitoplancton deberá estar ausente. Como puede observarse ambas normativas hacen referencia a la presencia de elementos algales, pero ninguna da pautas sobre controles de la presencia de toxinas algales y específicamente de cianotoxinas.

**1.3.2. Ensayo de toxicidad aguda.** Los resultados encontrados mediante los estudios de toxicidad aguda realizados con las muestras de suspensión de algas liofilizadas provenientes de las muestras de agua de bebida indicaron resultado negativo, no observándose la muerte de ninguno de los animales tratados. Además, ninguno de los animales manifestó modificación de su conducta alimentaria ni en el sueño. La evolución en el peso corporal de los animales durante la experiencia fue similar a la de los animales control, al igual que el alimento consumido. Del mismo modo no se observaron los síntomas típicos provocados por la presencia de neurotoxinas o de hepatotoxinas de cianobacterias. Si bien los ensayos en ratones pueden detectar niveles de toxinas relacionados con niveles de toxicidad aguda en animales, estos ensayos no son sensibles para detectar concentraciones de toxinas que representen riesgos de toxicidad crónica. Los principales síntomas observados por la población que consumió este tipo de aguas fueron náuseas, cefaleas, gastroenteritis y reacciones alérgicas por contacto como dermatitis, irritación ocular e incluso procesos asmáticos, todas ellas típicas de la ingestión de agua con cianotoxinas.

**1.3.3. Ensayos físicos, químicos y bacteriológicos.** El análisis microbiológico realizado indicó que en todas las muestras domiciliarias estudiadas el recuento de microorganismos heterótrofos totales fue menor a 500 UFC.ml<sup>-1</sup>, Coliformes totales y fecales resultaron ser

menor 2NMP.100ml<sup>-1</sup>. Asimismo, no se detectó la presencia ni de *Escherichia coli* ni de *Pseudomonas aeruginosa* en 100 ml de muestra. Las muestras analizadas resultaron ser microbiológicamente potables (Código Alimentario Argentino, 1996).

El análisis físico-químico indicó que las muestras presentaban niveles de nitratos, nitritos, sulfatos y cloruro menores a los máximos permitidos en los parámetros analizados (Código Alimentario Argentino, 1996). A pesar de la potabilidad microbiológica y físico-química así como la ausencia de toxicidad observada en ratón en las muestras de agua de bebida analizadas, los florecimientos de Cyanobacteria observados resultaron ser concomitantes con el fenómeno del olor percibido por la población. Por ello, se analizaron los compuestos biogénicos volátiles en las muestras de aguas de la zona afectada.

**1.3.4. Detección de compuestos biogénicos volátiles.** Numerosas fuentes contribuyen al origen de compuestos biogénicos olorosos en los cuerpos de agua. Las Cyanobacteria producen una serie de compuestos orgánicos volátiles, muchos de los cuales pueden contribuir al deterioro de la calidad del agua. Existen amplias evidencias que implican a las algas verde-azuladas como importantes fuentes de olores y sabores en el agua. En este trabajo, el fuerte olor, semejante al "Gamexane" llevó a realizar estudios de compuestos volátiles e investigar la presencia de pesticidas de tipo organoclorados, organofosforados y carbamatos.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos mediante el análisis de los compuestos volátiles, THM (cloroformo, bromoformo y dibromoclorometano) y BTEX en las muestras de agua estudiadas. Los valores encontrados de THM y BTEX resultaron ser menores a los valores informados como guía para agua potable (OMS, 1995). Asimismo, no se detectó la presencia de pesticidas organoclorados, organofosforados y carbamatos en ninguna de las muestras estudiadas (menor al límite de detección de 5 µg, 0.1µg., 20 ng., respectivamente). Asimismo, a la salida de P2, se detectó bromociclohexano (19 µg/l).

En las muestras provenientes de las plantas potabilizadoras y del embalse, pudo detectarse la presencia de geosmina, en concentración de 0.5 µg.l<sup>-1</sup>. Este es un compuesto volátil el cual resulta el más frecuentemente asociado a olores desagradables en el agua. Es producido por actinomicetes (Gerber, 1968 y Persson, 1980) y en muy pequeñas cantidades es responsable de causar problemas en el agua. Geosmina es el compuesto más frecuentemente encontrado en cultivos puros o mixtos y en muestras de agua ambiental (Slater & Block, 1983; Jüttner, 1988 y Silva *et al.* 1995). Es posible que otros productos metabólicos de degradación de las algas verde-azuladas puedan ser los causales de la alteración de la calidad organoléptica en el agua (Slater & Block, 1983). Silva *et al.* (1995) encontraron que geosmina es el principal responsable de los olores detectados en agua potable proveniente del embalse Cruz de Piedra, San Luis.

Durante el presente trabajo se consideró también otra sustancia detectada la que pudo asignarse con alta similitud en el espectro de masas, al Copaene. Este compuesto (triciclo 4.4.0.02,7 dec-3-ene,1,7-dimetil-8-(1-metiletil)-esteroisomero) (CAS n°: 3856-25-5) (Fig. 2).

Estructuralmente, corresponde a un terpenoide ( $2 \times 5 + 2$ )C. El Copaene es un sesquiterpeno ( $3 \times 5$ C) aislado de distintos aceites esenciales de plantas superiores exóticas, sin embargo, no se han encontrado reportes de aislamiento a partir de extractos de cultivos de algas verde-azules o actinomycetes. Al encontrarse en asociación con Geosmina surge la posibilidad de una vinculación metabólica entre ambos compuestos, pudiéndose vincular en forma preliminar, al Copaene como un precursor de la Geosmina. Obviamente esta propuesta requiere de mayores investigaciones. Dado que la Geosmina ha sido aislada de cultivos puros de algas es improbable que ésta se forme por degradación extracelular y correspondería adjudicar su origen a una vía metabólica de naturaleza oxidativa en donde la Geosmina es el producto final y la dimetil cetona un posible producto secundario (Fig. 3). Si el Copaene resultara ser un precursor de la Geosmina esto sería de significativa importancia su detección temprana, ya que la geosmina ocasiona serios trastornos en la calidad del agua, tal como ocurriese en esta oportunidad.

## CONCLUSIONES

Como consecuencias de los estudios desarrollados, pudo comprobarse que el fuerte olor detectado en el agua de red de la ciudad de Bahía Blanca, era debido a la presencia de geosmina, compuesto volátil producido por *Anabaena circinalis*. Esta especie algal se encontró en todas las muestras estudiadas, incluso en algunas de ellas en altas concentraciones. Los análisis de toxicidad aguda efectuados, indicaron que tanto la cepa de *Anabaena circinalis* como la de *Microcystis aeruginosa*, halladas en las muestras, no eran productoras de toxicidad. Por otra parte, tanto los análisis bacteriológicos, como los de pesticidas y los de THM y de BTEX indicaron que, según esos parámetros el agua de consumo domiciliario resultó microbiológicamente potable y con registros menores a los valores guías. Asimismo, de los resultados hallados y del análisis de las normas legales, surge que en cuanto a la calidad del agua potable en la Provincia de Buenos Aires existe una notable deficiencia y que a dichas normas se les debería modificar lo relacionado con la frecuencia de muestreos de fitoplancton en las fuentes de provisión, así como el control de presencia de organismos algales en la red domiciliaria, así como agregarle las pautas referidas al control de presencia de cianotoxinas, en virtud de los riesgos que su ingesta pueden ocasionar a la salud de la población.

## BIBLIOGRAFIA

- APHA, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater . 20<sup>th</sup> Edition. American Public Health Association, Washington, DC.
- Carmichael W.W. & Falconer I.R., 1993. Diseases related to freshwater blue-green algal toxins, and control measures. In Falconer I.R. (Ed.) *Algal toxins in seafood and drinking water*: 187-209. Academic Press.

- Carmichael W.W., 1994. The toxins of Cyanobacteria. *Scientific American* **270**, 78-86.
- Carmichael W.W., 1996. Liver failure and human deaths at a haemodialysis centre in Brazil: microcystins as a major contributing factor. *Harmful Algae News* **15**, 11.
- Carmichael, W.W., 1997. The Cyanotoxins. *Advances in Botanical Research* **27**: 211-256.
- Chorus I. & Bartram J., 1999. The Cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. E & FN Spon. London.
- Codd G.A., 1994. Blue-green algal toxins: water-borne hazard to health. In Golding, A.M.B.; Noah N. and Stanwell-Smith (Eds.) *Water and public health: 271-278*.
- Codd G.A., 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Wat. Sci. Tech.* **32**, 149-156.
- Codd G.A., Bell S.G., Kaya K., Ward C.J., Beattie K.A. & Metcalf J.S., 1999. Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *Eur. J. Phycol.* **34**: 405-415.
- Codigo Alimentario Argentino. De La Canale y Asociados, 1996.
- Cook W.O., Beasley V.R., Novell R.A., Dahlem A.M., Hooser S.B., Mahmood N.A. & Carmichael W.W., 1989. Consistent inhibition of peripheral cholinesterases by neurotoxins from the Freshwater cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*: studies of ducks, swine, mice and a steer. *Environmental Toxicology and Chemistry* **8**: 915-922.
- Echenique R.O. & González D.O., 1998. Las cianofitas: microalgas causantes de toxicidad. *Rev. Museo* **2**: 77-80.
- Echenique R.O., 1999. Cyanophyta toxicas, antecedentes y estudios actuales en la República Argentina. *Notas Botánicas de la Soc. Arg. Bot.* **3-7**.
- Falconer I.R., 1996. Potential impact on human health of toxic cyanobacterial. *Phycologia* **35**: 6-11.
- Falconer I.R., 1998. Algal toxins and human health. In Hrubec J (Ed.) *The handbook of environmental Chemistry 5(C), Quality and Treatment of drinking water II*: 53-82.
- Falconer I.R. & Humpage A.R., 1996. Tumour promotion by cyanobacterial toxins. *Phycologia* **35**: 74-79.
- Farlow W.G., 1983. Relation of certain forms of algae to disagreeable tastes and odours. *Science* **2**, 333-336.
- Ferrari L.A., 1985. Cromatografía zonal y relevado secuencial diferenciado. *Biblioteca Roberts Alcorta. Poder Judicial*, **2** 16-21.
- Francis, G., 1878. Poisonous Australian Lake. *Nature* **444**: 11-12.
- García de Emiliani M.O. & Emiliani F., 1997. Mortandad de ganado y aves silvestres asociada con una floración de *Anabaena spiroides* Kleb. *Natura Neotropicalis* **28**, 150-157.
- Gerber N. N., 1968. A volatile metabolite of actinomycetes, 2 methylisoborneol. *J. Antibiot.* **22**, 508-509.
- González D.M., Echenique R.O. & Silva H.J., 2001. Toxicidad y producción de metabolitos volátiles en Cyanophyta o algas verde-azuladas. *Acta Toxicol. Argent.* **9**: 68-81.

- Hrudey S.E., Kenefick S. L., Lambert L. W., Kotak B. G. , Prepas E. E. and Holmes C. H. F. B., 1993. Sources of uncertainty in assessing the health risk of Cyanobacterial blooms in drinking water supplies. *Proc. First Internat. Symp. Det. Meth. Cyanob. Toxins*, 1-5.
- Jochimsen E.M., Carmichael, W.W., An, J., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, M., Bernardete de C. Antunes, D.A., de Melo Filho, T.M., Lyra, V., Spinelli T. Barreto, S.M.F.O., Azevedo, S.T. & Jarvis W.R., 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N. Engl. J. Med.* **338**: 873-878.
- Jüttner, F., 1988. Biochemistry of biogenic off-flavour compounds in surface waters. *Wat. Sci. Tech.* **20**, 107-116.
- Ley 11820. Marco regulatorio para la prestación de los servicios públicos de provisión de agua potable y desagües cloacales en la Provincia de Buenos Aires.
- Moffat A. & Clarke's, 1986. Isolation and identification of drugs. 2 Ed. Pharmac Press.
- Odrizola, E., Ballabene, N. y Salamanco A., 1984. Intoxicación en ganado bovino por algas verde-azuladas. *Revista Argentina de Microbiología* **16**: 219-224.
- Persson P. E., 1980. Muddy odour in fish from hyperthrophic waters. *Dev. Hydrobiol.* **2**, 203-207.
- Pizzolon L., 1996. Importancia de las cianobacterias como factor de toxicidad en las aguas continentales. *Interciencia* **21**, 239-245.
- Pizzolon L., Tracanna B., Prósperi C. & Guerrero J.M., 1999. Cyanobacterial blooms in argentinean inland waters. *Lakes & Reservoir: Research and Management* **4**: 101-105.
- Repavich W. M. Sonzogni W. C. Standridge J. H.; Wedephol R. E. & Meisner, L. E., 1990. Cyanobacteria (blue green algae) in Wisconsin waters: acute and chronic toxicity. *Wat. Res.* **24**, 225-231.
- Ringuelet R.A. Olivier S.R. Guarrera S.A. & Aramburu R.H., 1955. Observaciones sobre antoplankton y mortandad de peces en la Laguna del Monte (Buenos Aires, República Argentina). *Notas Mus. La Plata* **18**: 71-80.
- Silva J.H., Luco J. M., González D.M. & Baudino O.M., 1995. Detección de compuestos biogénicos-volátiles en un lago eutrófico de San Luis-Argentina . *Acta Toxicol. Argent.* **3**: 38-42.
- Slater G.P. & Block V., 1983. Volatile compounds of the Cyanophyceae. A review. *Wat. Sci. Tech.* **15**, 181-190.
- Utermöhl, H., 1958. Vervollkommung der quantitative Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Verein. Limnol.* **9**, 1-38.

**Tabla 1:** Algas presentes en muestras (1) y (2) del embalse Paso de las Piedras. Los valores se expresan en N° de células por mililitro y porcentaje.

TAXA	Muestra (1)		Muestra (2)	
	cel.ml <sup>-1</sup>	%	cel.ml <sup>-1</sup>	%
<i>Anabaena circinalis</i>	48.320	97.7	84.032	99.5
<i>Aulacoseira granulata</i>	320	0.65		
<i>Aulacoseira ambigua</i>	64	0.13		
<i>Ceratium hirundinella</i>	64	0.13	224	0.26
<i>Chlamydomonas sp.</i>			32	0.037
<i>Closterium aciculare</i>	32	0.065	352	0.41
<i>Closterium sp.</i>	32	0.065		
<i>Cyclotella aff. glomerata</i>	64	0.13		
<i>Eutetramorus fottii</i>			Presente	
<i>Fragilaria sp.</i>	32	0.065		
<i>Kirchneriella aperta</i>	32	0.065		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	384	0.77	Presente	
<i>Navicula sp.</i>			32	0.037
<i>Nitzschia sp.</i>			Presente	
<i>Oocystis lacustris</i>	Presente *		64	0.075
<i>Oocystis parva</i>	Presente			
<i>Pediastrum duplex</i>	Presente			
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i>	32	0.065		
<i>Pseudotetraedron limneticum</i>			Presente	
<i>Scenedesmus sp.</i>	Presente			
<i>Staurastrum planctonicum</i>	Presente		Presente	
<i>Synedra sp.</i>	64	0.13	96	0.13
<b>Total de células/ mililitro</b>	<b>49.440</b>		<b>24.960</b>	

\* **Presente:** indica presencia muy escasa de material en la muestra.

**Tabla 2:** Densidad fitoplanctónica (cél.ml<sup>-1</sup>) y Eficiencia Depuradora (ED) hallada en las plantas potabilizadoras: entrada planta 1 (EP1), salida planta 1 (SP1) y entrada planta 2 (EP2), salida planta 2 (SP2).

TAXA	EP 1	SP 1	ED	EP 2	SP 2	ED
	cél.ml <sup>-1</sup>	cél.ml <sup>-1</sup>		cél.ml <sup>-1</sup>	cél.ml <sup>-1</sup>	
<i>Anabaena circinalis</i>	225	6850	- 29	350	420	-0.20
<i>Aulacoseira granulata</i>	112.5	50	0.56	150	ND	1
<i>Chroomonas sp.</i>	562.5	ND	1	650	ND	1
<i>Closterium aciculare</i>	37.5	ND	1	100	ND	1
<i>Cryptomonas sp.</i>	37.5	ND	1	450	ND	1
<i>Fragilaria sp.</i>	ND	ND	0	50	30	0.40
<i>Microcystis aeruginosa</i>	9712.5	6650	0.32	14500	3030	0.79
<i>Staurastrum planctonicum</i>	ND	ND	0	50	ND	1
<i>Navicula sp.</i>	37.5	ND	1	ND	ND	0
<b>Total de células</b>	10725	1355	0.26	16300	3480	0.78

**ND:** No detectada

**Tabla 3:** THM (concentración total) y BTEX ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ ) en muestras de aguas tomadas a la entrada (E) y a la salida (S) de las plantas de tratamiento P1 y P2

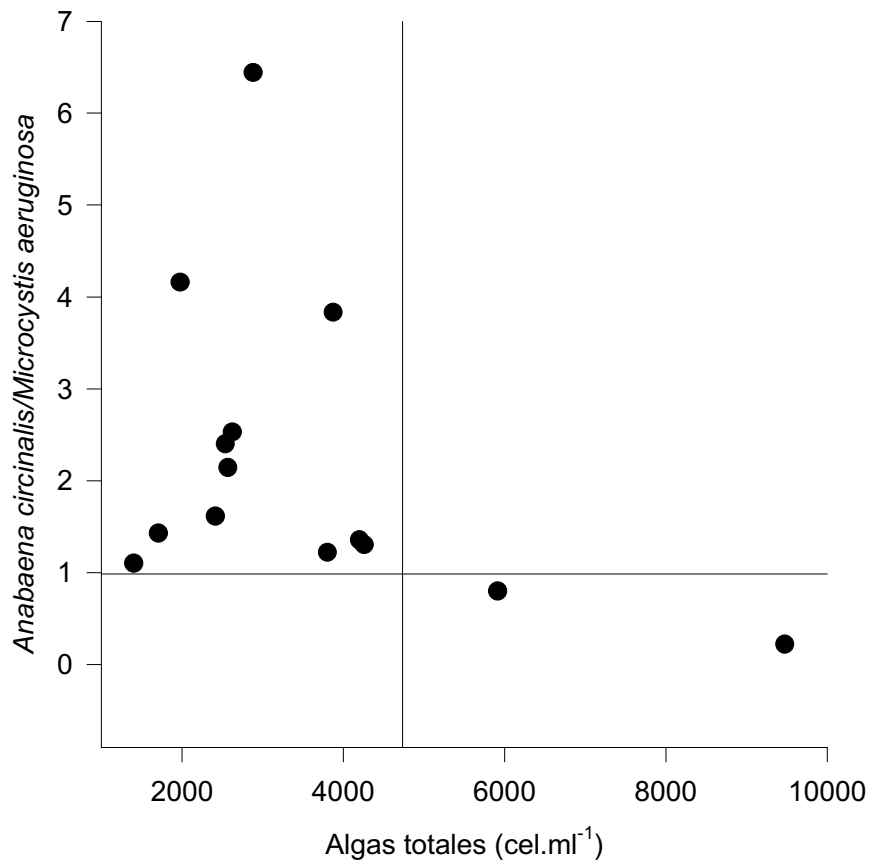
<b>Estación</b>	<b>THM</b>	<b>Benceno</b>	<b>Tolueno</b>	<b>Etil benceno</b>	<b>Xilenos</b>
<b>EP 1</b>	ND	ND	ND	ND	108.13
<b>SP 1</b>	59	ND	ND	79.08	110.95
<b>EP 2</b>	ND	ND	ND	ND	108.14
<b>SP2</b>	77	ND	1557	77.63	110.11
<b>Embalse</b>	ND	ND	159.3	77.86	109.51

**ND=** no detectable

**Tabla 4:** Algas presentes en muestras de agua de red (cél.ml<sup>-1</sup>), Bahía Blanca.

TAXA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>Cyanophyta</b>														
<i>Anabaena circinalis</i>	2388	1500	2472	2034	276	2364	1755	1002	1704	1644	1860	1314	678	1470
<i>Microcystis</i> sp. *	1764	360	3096	1668	72	1812	729	702	7752	768	738	204	690	912
<i>Oscillatoria</i> aff. <i>ornata</i>			12											
<b>Chlorophyta</b>														
<i>Closterium aciculare</i>			12	6	12						X			X
<i>Closterium</i> sp.	12		12									X		
<i>Coelastrum microporum</i>					96					96				
<i>Eutetramorus fottii</i>													X	
<i>E. planctonicus</i>		96												
<i>Oocystis lacustris</i>						48								
<i>Pediastrum duplex</i>										X		168		
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i>	12		12	6			3							
<i>Staurastrum planctonicum</i>					12								X	
<b>Pyrrophyta</b>														
<i>Ceratium hirundinella</i>	12	6	12	12	12		9	6	X	6	12	6	X	6
<i>Chroomonas</i> sp.		6					6							
<i>Peridinium willeii</i>									6	X				
<b>Chrysophyta</b>														
<i>Achnanthes</i> aff. <i>minutissima</i>					12									
<i>Aulacoseira granulata</i>	12	6	156	54	1080	24	21	X	12	54	18	480	X	42
<i>Caloneis</i> sp.												X		
<i>Cocconeis placentula</i>			12							X		6		
<i>Cocconeis</i> sp.						12	6							
<i>Cyclotella</i> aff. <i>glomerata</i>			12											
<i>Cyclotella meneghiniana</i>				12										
<i>Cyclotella</i> sp.													6	
<i>Cymatopleura solea</i>					12							X		
<i>Cymbella</i> aff. <i>tumida</i>												6		
<i>Diatoma</i> sp.										X				
<i>Epithemia sorex</i>					12							X		
<i>Gyrosigma</i> sp.			12											
<i>Navicula</i> aff. <i>radiosa</i>												6		
<i>Navicula</i> sp.			12		24		3			X				X
<i>Nitzschia sigmoidea</i>					12							X		
<i>Rhoicosphaenia abbreviata</i>					24									
<i>Stephanodiscus</i> sp.			72	12	2220		3					696		
<i>Surirella</i> aff. <i>guatimalensis</i>		6												
<i>Surirella</i> sp.							3							
<i>Synedra acus</i>			12							X				
<b>Total</b>	<b>4200</b>	<b>1980</b>	<b>5916</b>	<b>3804</b>	<b>3876</b>	<b>4260</b>	<b>2538</b>	<b>1710</b>	<b>9474</b>	<b>2568</b>	<b>2628</b>	<b>2886</b>	<b>1404</b>	<b>2418</b>

(X): Taxa presentes y no cuantificadas durante los recuentos



**Fig. 1:** Relación entre el número total de algas y el cociente entre *Anabaena circinalis* y *Microcystis aeruginosa* en las muestras de agua de red.

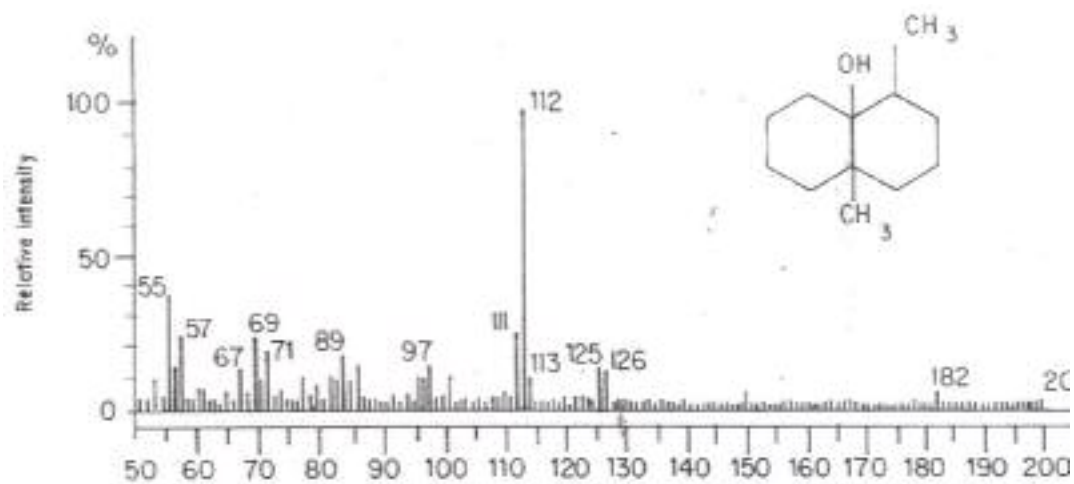


Fig. 2: Espectro de masas y estructura de Geosmina

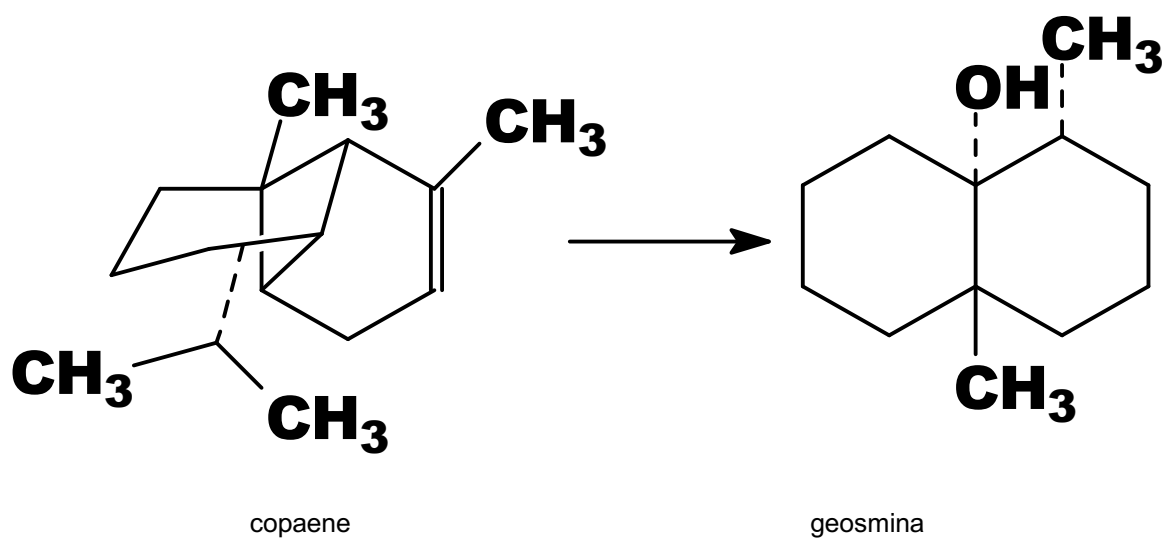


Fig. 3: Camino metabólico propuesto para la formación de geosmina