

## **ANEXO 14**

### **ALCANCES DEL ANÁLISIS DE FÓSFORO**

## INTRODUCCIÓN

*Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt diatomea foco del presente estudio, forma una masa mucilaginosa de células que pueden extenderse por más de 1 kilómetro y persistir por meses en ríos oligotróficos (Kilroy & Bothwell 2012; Bothwell *et al.* 2012), por su comportamiento altamente invasivo ha sido objetivo de diversos estudios, entre estos, Kilroy & Bothwell en 2012 documentaron la importancia de los niveles de fósforo en la productividad de esta especie, este hecho es relevante ya que el fósforo es considerado como un parámetro crítico en la calidad de las aguas, por ser un nutriente esencial para el crecimiento de los organismos en un sistema acuático, determinando la producción microplanctónica de un ecosistema (Wetzel & Likens 2000; Essington & Carpenter 2000), por lo anterior es muy importante conocer su rol químico en la naturaleza y su real asociación con el desarrollo de Didymo.

Del fósforo presente en la columna de agua se logran reconocer dos grupos principales, fósforo particulado y fósforo disuelto. En el primer grupo se encuentran todas las especies de fósforo orgánicas y las provenientes de lixiviación, mientras que en el fósforo disuelto se encuentra todo el fósforo inorgánico, mayoritariamente como fosfatos (Fuentes & Massol-Deyá 2002). Las especies orgánicas de fósforo son derivadas fundamentalmente de la descomposición de la materia orgánica. Por otro lado, el fósforo inorgánico en el agua proviene de diversas fuentes, como agentes floculantes de procesos de tratamiento de aguas, lavado con detergentes a nivel industrial y doméstico, aguas residuales de procesos agrícolas, etc. (Cárdenas 2005). En tanto, el fósforo total es estimado a partir de la suma de los fósforos anteriores (Wetzel & Likens 2000).

La relación entre *D. geminata* y el fósforo ha sido estudiada en diversos trabajos a nivel mundial (Steinman & Mulholland 1996). Si bien, siempre se ha relacionado Didymo a ríos oligotróficos (ver tabla 1), los estudios más concluyentes al respecto, señalan que la tasa de división celular está relacionada positivamente con valores de fósforo reactivo disuelto (FRD), mientras que el aumento de la capa mucilaginosa necesariamente ocurre a bajos niveles de FRD (Kilroy & Bothwell 2012). Esta conclusión se repite en otros estudios (tanto manipulativos como de terreno) de los mismos autores.

El FRD, es una medida de la concentración del fósforo inorgánico biológicamente disponible y por ende de la calidad del cuerpo de agua. No todo el fósforo disuelto está realmente disponible para los organismos; la disponibilidad biológica del elemento depende de muchos factores, incluyendo las especies presentes y sus concentraciones (Murphey & Riley 1962). El FRD disponible en los cuerpos lóticos (ríos), evidencia el aporte antrópico proveniente de actividades agrícolas (fertilizantes, herbicidas, pesticidas), ganaderas (estiércol), industriales y urbanas (aguas residuales, vertidos). Actualmente en Chile, todos los estudios realizados para Didymo han sido realizados utilizando valores de Fósforo total, orgánico e inorgánico.

El objetivo de este anexo es determinar la viabilidad de la realización de este tipo de análisis en nuestro país, y si verdaderamente presenta ventajas por sobre los estudios de fósforo más comunes en Chile, esto con respecto a la problemática Didymo.

**Tabla 1. Productividad de cuerpos de agua asociada a niveles de fósforo total.**

Productividad	Fósforo total (mg/L)
Ultra - oligotrófico	< 0.005
Oligo - mesotrófico	0.005-0.01
Meso - eutrófico	0.01-0.03
Eutrófico	0.03-0.1
Hiper - eutrófico	> 0.1

Fuente: Wetzel 1992

## METODOLOGÍAS DE DETERMINACIÓN DE FÓSFORO

En la literatura se encuentran diferentes métodos para determinar la cantidad de fósforo en sus diversas formas. El método estándar (Murphey y Riley, 1962) para la determinación de FRD se basa en la reacción del fósforo con iones molibdeno y antimonio para formar un complejo el cual puede ser reducido utilizando cloruro de estaño o ácido ascórbico resultando una coloración azul característica que puede ser detectada mediante colorimetría. La absorbancia a 882 nm se relaciona directamente con la concentración de ortofosfato.

El fósforo orgánico generalmente se determina mediante la diferencia entre dos mediciones de FRD, antes y después de la digestión de la materia orgánica.

Para la determinación del fósforo total, todo el fósforo contenido en la muestra debe estar como ión ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), ya que el método espectrofotométrico es esencialmente específico para este ión. La materia orgánica de la muestra es destruida por medio de una digestión con persulfato de amonio y ácido sulfúrico, rompiendo las ligaduras orgánicas del fósforo (C-P y/o C-O-P), e hidrolizando los polifosfatos a ortofosfatos.

Otros métodos de detección colorimétrica usan otros reactivos. Por ejemplo, el método colorimétrico de ácido vanadio, mediante vanadato-molibdato genera un reactivo de color amarillo. La intensidad de este color es proporcional a la concentración de fosfato (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 16th Edition).

En general, todas las mediciones de fósforo utilizan fosfato como estructura química intermediaria en el proceso de medición (Cárdenas 2005). Por otro lado, en la naturaleza, la cantidad de fósforo disuelto es inestable, transformándose constantemente en fosfato, de esta manera, no existe diferencia real en las interpretaciones biológicas de los resultados a partir de niveles de fósforo o fosfato, ambos representan la cantidad de fósforo orgánico e inorgánico

presente en el sistema. La diferencia principal entre estas especies químicas se ve reflejada en sus masas, esto determinado por el peso molecular del oxígeno en el fosfato, la cual se puede sustraer para obtener valores de fósforo.

## ANÁLISIS DE FÓSFORO EN CHILE

Actualmente en Chile, las mediciones de fósforo, tanto gubernamentales como en trabajos limnológicos, son realizadas por medio de medición de fósforos totales, siendo muy poco común la metodología FRD que se utiliza a nivel mundial para el análisis del fenómeno Didymo.

Para determinar la viabilidad y calidad de estos análisis en Chile, se consultó a diferentes laboratorios que análisis de fósforo realizaban.

De 15 laboratorios consultados, 11 realizan análisis de fósforo en muestras de agua superficial, ya sea fósforo total, fósforo orgánico o fósforo inorgánico, y 3 laboratorios indicaron realizar análisis de fósforo disuelto (tabla 2). Al consultar a estos últimos si se trataba de fósforo reactivo disuelto, no especificaron.

Sólo un laboratorio indicó realizar análisis de fósforo reactivo disuelto. La concentración mínima detectable de FRD es de 0,2 mg P/L. Este punto es importante, ya que los límites de detección en estudios que correlacionan FRD y Didymo son mucho menores (0,001 mg P/L) y los valores registrados para ríos en estos estudios son menores a 0,016 mg P/L. Por otra parte, para su análisis se efectúa el método de colorimetría de ácido vanadio. En el presente estudio los análisis de fósforo fueron realizados por el laboratorio ANAM, contando con límites de detección de 0,001 mg/l para fósforo total, y 0,0004 mg/l para fósforo inorgánico. Estudios anteriores de Didymo realizaban los mismos análisis, pero con límites de detección de 0.6 mg/l para ambos casos.

Tabla 2. Laboratorios químicos en Chile y análisis de fósforo que realizan.

Laboratorio	FRD	Fósforo disuelto*	Fósforo total	Fósforo orgánico	Fósforo Inorgánico
Silob Chile	x	x	✓	x	x
SGS	x	✓	✓	x	x
DICTUC	x	x	✓	x	x
ANAM	x	x	✓	✓	✓
Laura Borgel y Cía. Ltda.	x	x	x	x	x
SERNAGEOMIN	x	x	x	x	✓
ALS global	x	✓	✓	x	x
AGQ Chile	x	x	✓	✓	✓
Alfred H. Knight	x	x	x	x	x
Stewart Blaitt y Cía. Ltda.	x	x	✓	x	x
Quiteca	x	x	x	x	x
Reccius Ltda.	x	x	x	x	x
CESMEC	x	✓	✓	x	x
Universidad de Concepción	x	x	x	x	x
Biodiversa	x	x	✓	x	x
Hidrolab	✓	x	✓	x	x

\*Laboratorio no especifica si análisis hace referencia a fósforo reactivo disuelto (FDR).

## CONCLUSIONES

El fósforo reactivo disuelto (FRD), efectivamente representa un buen indicador de la calidad de las aguas, logrando medir el fósforo biodisponible. Su comparación con valores de fósforo total es complicada, debido a todas las condiciones físico-químicas que afectan la biodisponibilidad, como metales, pH y el oxígeno (Fuentes & Massol-Deyá 2002). Sin embargo, para el caso del Didymo, su relación con esta medición de fósforo es determinada por una aproximación correlativista, no mecanicista, pudiéndose encontrar con otras mediciones de fósforo.

En Chile, el FRD, es un indicador poco estudiado, en este contexto, solo un laboratorio de los consultados lo analiza, y su límite de detección es más alto que los valores registrados de FRD en ríos con Didymo estudiados en Nueva Zelanda (Kilroy & Bothwell 2012), y más alto que la mayor parte de los valores de Fósforo total registrados en este estudio (Fuentes & Massol-Deyá 2002). Por otra parte, ese límite de detección hace referencia a sitios en condiciones eutróficas, alejándose de las condiciones naturales donde habita Didymo.

El monitoreo de la calidad de cuerpos de aguas requiere el análisis de un gran número de muestras, lo que incrementa los riesgos de contaminación. Una solución para ello, es realizar técnicas *in situ*, ya que tienen la ventaja de minimizar la manipulación de las muestras y requieren menos tiempo. Sin embargo, estos métodos resultan complicados y costosos, lo que ha impedido su uso en análisis rutinarios (Sánchez de Fuentes 2001).

Un estudio en Nueva Zelanda que relaciona Didymo con FRD realiza estos análisis *in situ* utilizando instrumentos diseñados para ello, con un bajo límite de detección. El acceso a esta tecnología significaría un avance en el estudio de *Didymosphenia geminata* y su relación con el fósforo. Además, análisis de FRD en ríos con Didymo permitiría realizar estudios comparables internacionalmente.

Se sugiere que, debido a los bajos niveles de fósforo registrados en Chile para los estudios Didymo, mientras no exista tecnología adecuada para la realización de análisis FRD que soporte límites de detección realistas para condiciones oligotróficas, los análisis de fósforo total, orgánico o inorgánico de bajos límites de detección siguen siendo los más adecuados para estos estudios.

## BIBLIOGRAFÍA

BOTHWELL M, C KILROY, B TAYLOR, E ELLISON, D JAME, C GILLIS, K BLADON & U SILINS. 2012. Iron is not responsible for *Didymosphenia geminata* bloom formation in phosphorus-poor rivers. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 69: 1723-1727.

CÁRDENAS J. 2005. Calidad de aguas para estudiante de ciencias ambientales. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Colombia.

ESSINGTON TE & SR CARPENTER. 2000. Nutrient cycling in lakes and streams: Insights from a comparative analysis. *Ecosystems* 3: 131-143.

FUENTES F & MASSOL-DEYÁ A. 2002. Manual de laboratorio para ecología de microorganismos. Universidad de Puerto Rico.

KILROY C & M BOTHWELL. 2012. *Didymosphenia geminata* growth rates and bloom formation in relation to ambient dissolved phosphorus concentration. *Freshwater Biology* 57: 641-653.

MURPHY J & JP RILEY. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27: 31-36.

SÁNCHEZ DE FUENTES J. 2001. El fósforo, parámetro crítico de calidad de agua, técnicas analíticas y de muestreo. XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Brasil.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 16th (Ed) American Public Health Association.

WETZEL RG & LIKENS GE. 2000. *Limnological Analyses*. 3rd Ed. Springer, New York.

STEINMAN A & P MULHOLLAND. 1996. Phosphorus limitation uptake, and turnover in benthic stream algae. En: Hauer FR & GA Lamberti (eds) *Methods in stream ecology*: 187-212. Second Edition, Academic Press, San Diego.