



*Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas
de los Ríos Limay, Neuquén y Negro*

SECRETARÍA DE GESTIÓN AMBIENTAL

**PROTOCOLO GENERAL DE MUESTREO,
TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS DE
AGUA PARA PROGRAMAS ESPECÍFICOS
(BALNEARIOS, AGROQUÍMICOS, RED BÁSICA, METALES,
FLORACIONES ALGALES)**

CIPOLLETTI, Septiembre de 2017



INDICE

1. OBJETIVO.....	3
2. CONSIDERACIONES GENERALES.....	3
3. MATERIAL DE CAMPO.....	4
4. ENVASES.....	5
5. RÓTULOS.....	6
6. MEDICIONES <i>IN SITU</i> Y PLANILLAS DE REGISTRO.....	6
7. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.....	6
8. PROCEDIMIENTO.....	8
• Programa Balnearios.....	8
• Programa Agroquímicos.....	9
• Programa Red Básica.....	9
• Programa Metales y Cianuros.....	11
• Programa Floraciones.....	12
9. BIBLIOGRAFÍA.....	12
10. ANEXOS.....	13
• Procedimiento de lavado de envases.....	14
• Planilla de caracterización del sitio.....	16
• Planilla de seguimiento de la muestra bacteriológica.....	18
• Protocolo Floraciones Algales.....	19
• Protocolo de Desinfección <i>D. Geminata</i> para muestreos de calidad de agua en ambientes acuáticos.....	25
• Listado de laboratorios encargados de los análisis.....	30
• Descripción de las técnicas y metodologías.....	31



**PROTOCOLO GENERAL DE MUESTREO, TRANSPORTE Y
CONSERVACIÓN DE MUESTRAS DE AGUA PARA PROGRAMAS
ESPECÍFICOS (BALNEARIOS, AGROQUÍMICOS, RED BÁSICA,
METALES, FLORACIONES ALGALES)**

APLICABLE A MONITOREOS EN AMBIENTES LÓTICOS Y LÉNTICOS DE LA
CUENCA DEL RÍO NEGRO

Este protocolo es de cumplimiento obligatorio para todo el personal que lleve a cabo los muestreos correspondientes a los Programas de Calidad del Agua de la AIC, sean éstos empleados de la Institución, de otros Organismos o cualquier otro “operador” que tenga a cargo estas tareas.

1. OBJETIVO

Estandarizar los procedimientos técnicos para obtener muestras de agua representativas para el monitoreo de la calidad de los ambientes lóticos y lénticos de la Cuenca.

2. CONSIDERACIONES GENERALES

Es fundamental cuando se planifica un muestreo precisar claramente cual es el objetivo del mismo (análisis físico-químico, microbiológico, agroquímicos, etc.), ya que éste define los elementos necesarios y las condiciones en que se realizará (envases, procedimiento y precauciones para la toma de la muestra, condiciones de traslado y conservación) que se deberán consensuar previamente con el o los laboratorios que realizarán las determinaciones analíticas.

El muestreo es el primer paso en la determinación de la calidad de un cuerpo de agua, por lo que la persona que colecta una muestra y la lleva al laboratorio es corresponsable de la validez de los resultados. En este sentido debe asegurarse que la muestra sea representativa del cuerpo de agua cuya calidad se desea evaluar, y que no sufra deterioro ni contaminación alguna hasta llegar



al laboratorio, ya que la calidad de los resultados depende de la integridad de las muestras que ingresan al mismo.

Por esto es importante resaltar que la colección de la muestra debe realizarse con sumo cuidado y desarrollar el muestreo cumpliendo con las condiciones requeridas por el laboratorio, a fin de garantizar que el resultado analítico represente la composición real del cuerpo de agua de origen. Otro punto muy importante es coleccionar información ambiental (del entorno) del sitio de muestreo, a fin de poder incorporarla al análisis y evaluación integral de los resultados informados por el laboratorio.

Es imprescindible que los muestreos sean efectuados por **al menos dos personas**, por cuestiones de seguridad principalmente y para facilitar las tareas de campo.

Asimismo, es obligatorio efectuar las tareas de desinfección posterior a la toma de muestra **en cada sitio**, para evitar o minimizar la probabilidad de traslado del alga invasora *Didymosphenia geminata*, a otros cuerpos de agua.

3. MATERIAL DE CAMPO

Indispensable:

- Envases específicos para el muestreo (rotulados o bien elementos para rotular).
- Cuaderno, lápiz/birome, Planillas de registro (datos de campo, caracterización del sitio).

Opcional:

De ser necesario (según objetivo y condiciones del muestreo):

- Conservadora con hielo o refrigerantes.

- Gotero o elementos para incorporar soluciones conservantes a las muestras que lo requieran.
- Botella colectora Van Dorn.
- Dispositivo para la toma de muestra en caso de difícil acceso al cuerpo de agua.
- Equipo portátil para medición *in situ* de parámetros de calidad, y las soluciones necesarias para limpieza y desinfección de las sondas.
- Termómetro.
- Waders, botas, guantes (goma y látex), cabo de seguridad y/o arneses.
- Otros elementos requeridos en función del objetivo del muestreo.

4. ENVASES

Los recipientes/envases a utilizar para la extracción de muestras deberán tener un buen cierre, ser de plástico o vidrio dependiendo del tipo de parámetro que se desea analizar. Su capacidad estará en función del volumen mínimo necesario para la determinación considerando la necesidad de dejar (en análisis microbiológicos) o no (en la mayoría de los análisis) una cámara de aire, o un espacio para mezclas o para el agregado de algún reactivo que permita la conservación de la muestra. En el caso que las muestras deban ser congeladas habrá que dejar un espacio libre en la capacidad del envase para permitir la variación de volumen debido a la congelación.

Los envases a utilizar deberán ser nuevos y sólo se podrán reutilizar envases en algunos casos particulares, debiendo desestimar aquellos que hayan contenido agua contaminada, combustibles, soluciones concentradas, etc. En todos los casos debe asegurarse que el envase a emplear cumpla con el acondicionamiento indicado por el laboratorio encargado de los análisis (ver en anexo procedimientos de lavado). De todos modos, se trate de un envase nuevo o reutilizado, previo a la toma de la muestra deberá enjuagarse con el agua a muestrear (excepto para análisis microbiológicos que requieren envases estériles, o envases que contengan algún tipo de conservante).



5. RÓTULOS

Los envases deben rotularse con un marcador indeleble en la etiqueta plástica colocada en el cuello del envase y en el cuerpo del mismo, indicando **Código de Estación, Operador, Fecha y Hora**. Se recomienda rotular antes de tomar la muestra.

6. MEDIOCIONES *IN SITU* Y PLANILLAS DE REGISTRO

En cada sitio de muestreo se deben medir *in situ* los siguientes parámetros:

- Temperatura del aire
- Temperatura del agua
- pH
- Conductividad eléctrica
- Oxígeno disuelto
- % de saturación de oxígeno

Los datos registrados deben volcarse en un cuaderno de campo, y la información mínima necesaria para la caracterización del sitio en la planilla correspondiente (ver en anexo las Planillas de registro: caracterización del sitio y seguimiento de la muestra bacteriológica). Además se deberá adjuntar registro fotografico representativo de cada uno de los sitios.

Toda esta información deberá ser enviada a la AIC junto con las muestras o en un plazo NO MAYOR a una semana posterior al muestreo.

7. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

La recolección de las muestras es de fundamental importancia ya que deben ser muestras representativas del cuerpo de agua a analizar. Si bien el sitio de recolección de las muestras se define siempre según los objetivos específicos de cada trabajo, la metodología empleada dependerá del tipo de ambiente a muestrear, sean éstos lóticos o lénticos.



En líneas generales, todas las muestras deben ser colectadas **únicamente** con la botella muestreadora (Van Dorn), excepto las muestras para bacteriología, hidrocarburos y agroquímicos. Para colectar la muestra, se coloca la botella Van Dorn abierta (con el sistema de cierre dispuesto) en el sentido de la corriente, a la máxima profundidad que pueda alcanzarse con las manos pero sin tocar el lecho del río. Una vez accionado el sistema de cierre, se retira la botella del agua y se la lleva hasta la orilla en posición vertical, apoyada sobre una de las manos, y con el contenido se llenan completamente los envases previstos para el muestreo, excepto aquellos destinados a nutrientes (se congelan) y bacteriología que deben conservar una pequeña cámara de aire. Se repite el procedimiento de llenado de la botella Van Dorn tantas veces como sea necesario hasta completar el llenado de todos los envases.

No es imprescindible seguir una rutina estricta en cuanto a la secuencia de llenado de los frascos, pero sí es necesario que se vayan completando uno por uno y, en caso que el volumen colectado no sea suficiente para cargar el siguiente, debe descartarse el agua remanente de la botella y tomar una nueva muestra. En síntesis, no es aconsejable completar un envase con agua proveniente de distintos "botellazos".

Ambientes lóticos

La muestra deberá extraerse en el eje del río o en su defecto en la margen en un lugar de turbulencia o en movimiento evitándose el agua estancada. Deberá tenerse la precaución de no remover los sedimentos o sólidos que pudieran haber decantado en el lugar de muestreo ni tampoco de recogerlos con el recipiente.

Ambientes lénticos

Estos tipos de cuerpos de agua están sujetos a considerables variaciones, principalmente por causas tales como la estratificación térmica y la velocidad del viento. Para determinar la representatividad de la calidad del agua en lagos y embalses, muchas veces se requiere la toma de muestras en más de un sitio,



dependiendo las ubicaciones de los objetivos del programa de muestreo, el impacto de las fuentes locales de contaminación y el tamaño del cuerpo de agua. En líneas generales y para muestras superficiales, se debe evitar la colección de las mismas en lugares donde exista acumulación de sedimentos o de material flotante. Para las muestras pelágicas es siempre necesario el uso de embarcación y para monitoreos costeros, sino se dispone de una lancha, se debe recolectar las muestras lo más alejado de la orilla y anotar esta distancia y la profundidad del punto de muestreo. Para el caso de muestreos en profundidad, los elementos a utilizar y la modalidad de colección de las muestras dependerán del diseño muestral y de los objetivos específicos del Programa.

8. PROCEDIMIENTO

MUESTREO PROGRAMA BALNEARIOS

Sitio: las muestras y las mediciones *in situ*, deben ser colectadas en el río en la zona utilizada como balneario y como regla general, el operador deberá ingresar en el sitio hasta una profundidad tal, que el agua llegue hasta sus rodillas.

Envases: se emplean envases de plástico estériles de 125 mL, o bien frascos de vidrio (borosilicato), previamente esterilizados.

Colección de muestra: la muestra debe tomarse manualmente colocando el envase cerrado bajo el agua, con la boca del mismo apuntando hacia aguas abajo. Una vez en esa posición se abre el frasco dejando que ingrese el agua, cuidando que no se llene completamente, es decir dejando una cámara de aire. La tapa debe colocarse bajo el agua ajustándola correctamente, para poder retirar el envase del río y colocarlo en forma inmediata en la conservadora con refrigerantes/hielo. Bajo ninguna circunstancia (ni antes ni después de coleccionar la muestra) el frasco de bacteriología debe ser abierto, ya que se podría



contaminar la muestra quedando inhabilitado el análisis. En caso de producirse lo antedicho se deberá coleccionar nuevamente la muestra con un nuevo envase.

Conservación y traslado: luego de su colección las muestras deben ser colocadas inmediatamente en una conservadora con hielo o refrigerantes para su conservación en frío (temperatura < 4 °C) y a la oscuridad hasta su ingreso en el laboratorio, que debe ser antes de las 24 hs. posterior a su colección.

MUESTREO PROGRAMA AGROQUÍMICOS

Sitio: las muestras y las mediciones *in situ*, deben ser coleccionadas en el río y desagües según corresponda, en los sitios previamente seleccionados.

Envases: se emplean envases de vidrio color caramelo de 1 L y 2 L acondicionados por el laboratorio (ver anexo procedimiento de lavado).

Colección de muestra: la muestra debe tomarse directamente del cuerpo de agua con el mismo envase, sin enjuague previo.

Conservación y traslado: luego de su colección las muestras deben ser colocadas inmediatamente en una conservadora con hielo o refrigerantes para su conservación en frío (temperatura < 4 °C) y a la oscuridad hasta su ingreso en el laboratorio, que debe ser antes de las 24 hs. posterior a su colección.

MUESTREO PROGRAMA RED BÁSICA

Sitio: las muestras y las mediciones *in situ* deben ser extraídas en la ubicación preestablecida para este programa, en el eje del río o en la margen en un lugar donde el agua esté en movimiento evitándose el agua estancada.

Envases, colección, conservación y traslado de muestra: las muestras a coleccionar en el marco de este programa son para analizar distintos parámetros, requiriendo en cada caso envases y procedimientos específicos que se detallan a continuación.

- ✓ **Bacteriológica:** se utiliza un frasco de vidrio (borosilicato) estéril de 250 o 500 mL según los requerimientos metodológicos del laboratorio; es válida también la utilización de envases de plástico estériles (tipo “colectores de orina”). Para la toma de muestra, se destapa el frasco debajo del agua colocándolo con la boca en dirección aguas abajo de la corriente, a una profundidad de 20-30 cm aproximadamente, se deja llenar el frasco dejando una pequeña cámara de aire y se tapa nuevamente debajo del agua. Luego de su colección las muestras deben ser colocadas inmediatamente en una conservadora con hielo o refrigerantes para su conservación en frío (temperatura < 4 °C) y a la oscuridad hasta su ingreso en el laboratorio, que debe ser antes de las 24 hs. posterior a su colección.
- ✓ **lones:** se utilizan dos envases de plástico de 1 L y de 2 L con manija. Se debe enjuagar los envases tres veces con el agua a muestrear y luego se llena con la muestra colectada con la botella Van Dorn. La muestra debe ser conservada en frío (temperatura < 4 °C) y a la oscuridad hasta su ingreso en el laboratorio dentro de las 24 hs. desde su colección.
- ✓ **Nutrientes:** se utiliza un envase de plástico de 1 L con tapa a rosca e inserto. El envase debe ser enjuagado tres veces con el agua a muestrear y luego se llena con la muestra colectada con la botella Van Dorn. La muestra debe ser conservada en frío (temperatura < 4 °C) y a la oscuridad hasta su ingreso en el laboratorio dentro de las 24 hs. desde su colección, sino deberá ser congelada hasta su análisis.
- ✓ **Clorofila/Feopigmentos:** se utilizan envases plásticos de entre 3 a 5 L. El envase debe ser enjuagado tres veces con el agua a muestrear y luego se llena con la muestra colectada con la botella Van Dorn. Conservar a la oscuridad en lugar fresco hasta ser filtrada, preferentemente antes de las 24 hs. desde su colección.

Procedimiento de filtración: se requiere equipo de filtración, filtros de Fibra Vidrio, probeta graduada (1000 mL), papel de aluminio, pinza, papel secante, recipiente tipo colector de orina para contener los filtros a analizar.
Procedimiento: armar el equipo de filtración y filtrar la mayor cantidad de

muestra que sea posible (2 - 3 L mínimo en ríos y más de 3 L en lagos). Luego el filtro debe retirarse con la pinza, plegar al medio de forma que el material colectado quede hacia el interior, secar con papel secante y envolverlo con papel de aluminio, indicando en el mismo fecha, número de estación y volumen filtrado muestra. Colocar el filtro envuelto dentro de un recipiente y mantener en lugar seco y frío hasta su envío al laboratorio.

- ✓ *Hidrocarburos (BTEX, HTP)*: se utilizan envases de vidrio ámbar (color caramelo) de 1 L y un vial de 40 mL, previamente acondicionados (ver anexo Protocolo de lavado). La muestra se colecta en la superficie del cuerpo de agua (pelo de agua) directamente con el envase. Una vez recolectada debe ser conservada en frío (temperatura < 4 °C) hasta su ingreso en el laboratorio lo antes posible posterior a su colección. Si la muestra no será entregada antes de las 24 hs., deberá fijarse mediante el agregado de ácido sulfúrico como preservante hasta su análisis.

MUESTREO PROGRAMA METALES Y CIANUROS

Sitio: las muestras y las mediciones *in situ* deben ser extraídas en la ubicación preestablecida para este programa, en el eje del río o en la margen en un lugar donde el agua esté en movimiento evitándose el agua estancada.

Envases: se emplean envases plásticos de 500 mL para metales y de 250 mL para Cianuros, previamente acondicionados (ver anexo Protocolo de lavado).

Colección de muestra: enjuagar los envases tres veces con el agua a muestrear y luego llenar con la muestra colectada con la botella Van Dorn.

Fijación de la muestra: Utilizar guantes para agregar a cada envase de metales, 1 mL (aproximadamente el volumen de una pipeta de Pasteur) de ácido nítrico concentrado de calidad PA; a cada muestra de cianuros incorporar dos “lentejas” de Hidróxido de sodio (NaOH). En ambos casos agitar para homogeneizar la muestra.

Conservación y traslado: luego de fijar las muestras deben ser colocadas inmediatamente en una conservadora con hielo o refrigerantes para su conservación en frío (temperatura < 4 °C) y a la oscuridad hasta su ingreso en el laboratorio lo antes posible posterior a su colección.

MUESTREO PROGRAMA FLORACIONES

Debido a las particularidades del muestreo de este programa, en el anexo se presenta el protocolo específico.

9. BIBLIOGRAFÍA

- AIC, DPRH, SSMA-DGBA, DPA (2011). Protocolo de desinfección de equipos e indumentaria para ambientes acuáticos. Plan Interjurisdiccional de Prevención y Monitoreo de *Didymosphenia geminata*. Provincias de Neuquén y Río Negro.
- AIC (2012). Protocolo de desinfección *Didymosphenia geminata* para muestreos de calidad de agua en ambientes acuáticos.
- AIC (2012). Protocolo de desinfección *Didymosphenia geminata* para equipo de medición de calidad de agua en ambientes acuáticos.
- AIC (2014). Protocolo de muestreo para seguimiento y control de floraciones algales aplicable a monitoreos en ambientes lóticos y lénticos de la cuenca.

10. ANEXOS

- PROCEDIMIENTO DE LAVADO DE ENVASES
- PLANILLA DE CARACTERIZACIÓN DEL SITIO
- PLANILLA DE SEGUIMIENTO DE LA MUESTRA BACTERIOLÓGICA
- PROTOCOLO FLORACIONES ALGALES
- PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN *D. GEMINATA* PARA MUESTREOS DE CALIDAD DE AGUA EN AMBIENTES ACUÁTICOS
- LISTADO DE LABORATORIOS ENCARGADOS DE LOS ANÁLISIS



*Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas
Secretaría de Gestión Ambiental*

ANEXOS

PROCEDIMIENTO LAVADO DE ENVASES

Los procedimientos de lavado de envases se detallan en función del tipo de envase requerido para la determinación de los distintos parámetros.

✓ **Plástico de 2 L y 1 L (iones extra):** para la determinación de Ca, Mg, Na, K, dureza, Cl, SO₄, alcalinidad, SiO₂, SDT, SST.

Preparación: 1°) lavar con detergente.
2°) realizar 10 enjuagues con agua corriente y agitación vigorosa.
3°) realizar 3 enjuagues con agua desionizada.

✓ **Vidrio borosilicato de 250/500 mL:** para el análisis bacteriológico.

Preparación: 1°) lavar con detergente.
2°) realizar 10 enjuagues con agua corriente y agitación vigorosa.
3°) realizar 3 enjuagues con agua desionizada.
4°) acondicionar: colocar un tapón de algodón en la boca, poner la tapa plástica a medio cerrar y cubrir con papel de aluminio.
5°) esterilizar: llevar a autoclave y esterilizar a 121° C durante 15 minutos. Luego de retirar del autoclave, enroscar al máximo la tapa y ajustar el aluminio.

✓ **Plástico de 1 L:** para la determinación de nutrientes (PT y NT).

Preparación: Sumergir los envases en HCl al 5% durante 12 hs, retirar y enjuagar con agua desionizada.

✓ **Vidrio color caramelo de 2 L y 1 L:** para la determinación de agroquímicos.

Preparación: Los envases se lavan con solución de Extran neutro durante 1 hora a 60 °C, se enjuagan primero con agua corriente, luego varias veces con agua destilada y finalmente con Acetona calidad cromatográfica (Acetona UVE para cromatografía o tipo HPLC). Se dejan secar a temperatura ambiente. Las tapas serán de teflon o, en caso de usar los envases de los reactivos, se revestirán interiormente con papel de aluminio previamente enjuagado con acetona calidad cromatográfica.

✓ **Vidrio ámbar (color caramelo) de 1 L y vial de 40 mL:** para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP), benceno, tolueno, etilbenceno, m, p-xileno y o-xileno (BTEX).

Preparación: específica, a cargo de los laboratorios encargados de los análisis.



PLANILLA DE CARACTERIZACIÓN DEL SITIO

(Al menos dos personas para realizar los muestreos)

Río: Fecha:

Estación N°: Hora:

Operador:

Condiciones Ambientales

T° Aire:

Lluvia: **SI** **NO** 24 hs antes Llovió?: **SI**
NO

Condiciones del Río

T°. Agua:

Claro ligeramente turbio turbio sin turbidez

Algas: **SI** **NO**

Nivel del río: **ALTO** **MEDIO** **BAJO**

Condiciones del entorno cercano al sitio de muestreo

ganado: **SI** **NO**

avifauna: **SI** **NO**

descargas cloacales: **SI** **NO**

captación de agua: **SI** **NO**

materia fecal de animales: **SI** **NO**

presencia de basurales: **SI** **NO**

basura cerca de la orilla: **SI** **NO**

Toma de muestra, conservación y transporte

fue tomada donde el agua esta en movimiento: **SI** **NO**

se colocó refrigeración al inicio del muestreo: **SI** **NO**

se enviaron dentro de las 24 hs: **SI** **NO**

se enviaron con refrigeración suficiente: **SI** **NO**



*Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas
Secretaría de Gestión Ambiental*

Observaciones:

.....
.....
.....
.....

Firma operador:



PLANILLA DE SEGUIMIENTO DE LA MUESTRA BACTERIOLÓGICA
(LABORATORIO)

Fecha: Laboratorio:
Estación N°: Fecha de ingreso:
Operador: Hora de Ingreso:
Hora:

Condiciones de recepción de la muestra

Refrigeración

suficiente escaso nada

Horario de llegada

dentro de las 24 hs **SI** **NO**

pasadas las 24 hs **SI** **NO**

Análisis

dentro de las 24 hs **SI** **NO**

pasadas las 24 hs **SI** **NO**

Tiempo de Incubación

Turbiedad

Claro ligeramente turbio turbio sin turbidez

Repetición del análisis **SI** **NO**

(En caso de superar los valores de referencia Repetir Análisis inmediatamente)

Firma operador de laboratorio:



*Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas
Secretaría de Gestión Ambiental*

PROCOLO FLORACIONES

*Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas
de los Ríos Limay, Neuquén y Negro*

SECRETARÍA DE GESTIÓN AMBIENTAL

**Protocolo de muestreo para seguimiento y control de floraciones algales
Aplicable a monitoreos en ambientes lóticos y lénticos de la cuenca**



CIPOLLETTI, Diciembre 2014



Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro

AUTORIDADES

Consejo de Gobierno:

Presidente: Ministro del Interior

Cdr. Florencio RANDAZZO

- *Gobernador de la Provincia de Neuquén*

Dr. Jorge SAPAG

- *Gobernador de la Provincia de Río Negro*

Don Alberto WERETILNECK

- *Gobernador de la Provincia de Buenos Aires*

Don Daniel SCIOLI

Comité Ejecutivo:

- ✓ *Presidente: (cargo rotativo anual)*

Representante de la Provincia de Buenos Aires

M.M.O Gustavo ROMERO

- ✓ *Representante del Estado Nacional*

Ing. Hugo AGUZIN

- ✓ *Representante de la Provincia de Neuquén*

Ing. Elías Alberto SAPAG

- ✓ *Representante de la Provincia de Río Negro*

Ing. Raquel MORALES

Edición: Mes de Diciembre 2014.-

Tirada: 10 ejemplares.

Propietario: Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas de los Ríos Limay, Neuquén y Negro.

Número de Propiedad Intelectual (en trámite) (*).

Director de la Publicación: Presidente del Comité Ejecutivo.

Foto de tapa: Embalse Exequiel Ramos Mexía. Floración de cianobacterias en “Los Gigantes”. Febrero de 2013.

(*). Se autoriza el copiado y/o duplicado de la información contenida en este ejemplar, siempre que se cite la fuente.



*Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas
de los Ríos Limay, Neuquén y Negro*

SECRETARÍA DE GESTIÓN AMBIENTAL

- *Subsecretario a/c de Secretaría de Gestión Ambiental:
Lic. Héctor Amadeo LABOLLITA*
- *Licenciado en Ecología:
Lic. Guillermo Antonio BLASETTI*
- *Licenciada en Gestión Ambiental:
Lic. Juliana Paz AGÚNDEZ*
- *Licenciada en Saneamiento y Prot. Amb.:
Lic. Mariana Paula STORTI*
- *Licenciada en Saneamiento y Prot. Amb.:
Lic. Mariela Ayelén OTHAZ BRIDA*
- *Técnico en Acuicultura:
Téc. Pedro Luis CORDERO*
- *Secretaria Administrativa:
Sra. Marina Andrea DÍAZ*
- *Administrativo:
Sr. José Anibal CONTRERAS*

PROTOCOLO DE MUESTREO PARA SEGUIMIENTO Y CONTROL DE FLORACIONES ALGALES EN AMBIENTES ACUÁTICOS

Aplicable a monitoreos en ambientes lóticos y lénticos de la cuenca

1. Objetivo

Describir el procedimiento a seguir para la colección de muestras para el seguimiento de las floraciones de Cianobacterias/Cianofitas que se producen periódicamente en los embalses de la cuenca del río Negro, las cuales potencialmente pueden afectar a los suministros de agua pública localizados aguas abajo sobre los ríos Limay, Neuquén y Negro.

2. Antecedentes

Las floraciones de Cianobacterias son ampliamente conocidas por afectar en todo el mundo la calidad del agua, tanto en los ambientes donde se desarrollan como en los sistemas de provisión de agua pública. En nuestra cuenca se producen generalmente en los meses de primavera – verano en los embalses Ramos Mexía, Arroyito, Los Barreales y Mari Menuco trasladándose sus efectos aguas abajo por los ríos Limay, Neuquén y Negro. La AIC ha implementado desde hace varios años un seguimiento regular y sistematizado de las floraciones, que complementa un Sistema de Alertas y Comunicaciones con los operadores de las plantas de suministro de agua potable.

3. Elementos/Materiales necesarios para el muestreo

- Red de plancton, malla de 25 μm de apertura.
- Botella muestreadora tipo Van Dorn.
- Botas de vadeo.
- Guantes.
- Recipientes plásticos de 120 mL, tipo colector de orina
- Recipientes de 250 mL de polipropileno de alta densidad, o similar.
- Solución de Lugol, como fijador.

4. Metodología

El seguimiento está basado en la detección temprana de altas densidades de algas a fin de prevenir a los servicios de agua potable acerca de las nuevas condiciones de calidad del agua. De esta manera, las plantas potabilizadoras estarán en condiciones de adaptar y/o modificar sus sistemas de tratamiento con anticipación, permitiendo concentrar el esfuerzo en los momentos críticos.

Las tareas básicas efectuadas para el control son:

- ✓ Análisis periódico de densidad y composición del fitoplancton, frecuencia quincenal o mensual dependiendo de la época del año.
- ✓ Comunicaciones sistemáticas y avisos de alerta a las plantas potabilizadoras.
- ✓ Análisis de toxicidad algal (determinación de Microcistina) en caso de alcanzar las densidades límites potencialmente tóxicas (Nivel de Alerta 2).

En cada sitio/estación de monitoreo se colectan muestras para identificación y recuento de fitoplancton, y para la determinación de la concentración de toxinas (Microcistina-LR). Paralelamente se miden parámetros *in-situ* de calidad del agua: pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto y temperatura.

4.1 Colección de muestras sin floración visible

El control de *densidad fitoplanctónica* se lleva a cabo con una frecuencia *quincenal*, durante la época *primavera – verano* de mayor probabilidad de ocurrencia de floraciones algales, y una *mensual* durante la época otoño – invierno. Se toman dos tipos de muestras, una cualitativa con red de plancton y otra cuantitativa con botella tipo Van Dorn.

Toma de muestra para análisis cualitativo:

Se emplea una red de plancton, malla de 25 μm de apertura que permite filtrar grandes volúmenes de agua y concentrar los organismos presentes. La muestra puede tomarse desde la costa o embarcado.

En el caso de tomar la muestra desde la costa se arroja la red de fitoplancton y se la retira realizando barridos horizontales y/o verticales hasta obtener una cantidad de material adecuado.

En caso de estar embarcado se procederá de manera similar, desplazándose muy lentamente, teniendo en cuenta que a medida que avanza la embarcación se filtran grandes volúmenes de agua de modo que no será necesario repetir el proceso de lanzar y retirar la red.

La muestra de agua así recolectada se coloca en un recipiente plástico de 120 mL, se rotula y mantiene refrigerada a 4 °C sin fijar para realizar el estudio microscópico *in vivo* (**análisis cualitativo de fitoplancton**).

Toma de muestra para análisis cuantitativo:

Se debe tomar una muestra de agua superficial (10 – 15 cm del pelo de agua) de forma tal de extraer una porción representativa del cuerpo de agua. Para tal fin se utiliza una botella tipo Van Dorn y la muestra de agua así recolectada se dispone en distintos recipientes:

- Una alícuota de la muestra se coloca en un recipiente plástico de 120 mL correctamente rotulado, y se fija *in situ* con solución de Lugol hasta que adquiera un ligero color caramelo (aproximadamente 7 gotas). Se almacena en la oscuridad hasta ser enviada al laboratorio para realizar el **análisis cuantitativo de fitoplancton**. Estos análisis de densidad se realizan en el Laboratorio de la División Ficología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata.
- Otra alícuota de la muestra (mínimo 250 mL), se destina al **análisis cuantitativo de toxina (microcistina-LR)**, utilizando botellas de vidrio color caramelo y conservándola sin fijar en frío y oscuridad hasta 5 días posteriores a su colección.

Si la muestra estará en espera por un período mayor a 5 días hasta su análisis, deberá ser congelada inmediatamente luego de su colección (-20°C) para evitar la degradación y pérdida de las toxinas por acción microbiana y de la temperatura. Se sugiere en este último caso, contener la misma en recipientes plásticos (250 mL o capacidad mayor) de polipropileno de alta densidad o material similar que no se rompa al congelar el contenido. Debe tenerse la precaución de no llenar completamente el envase, dejando una cámara de aire que permita la expansión del agua al congelarse ⁽¹⁾. La determinación de la toxina **microcistina-LR**, se efectúa en el laboratorio CIATI de la ciudad de Villa Regina.

⁽¹⁾ Por razones prácticas, resulta conveniente contener la muestra destinada al análisis de toxinas en envases plásticos de polipropileno de alta densidad como los descritos previamente. La muestra sin fijar debe mantenerse en cadena de frío y en oscuridad luego de su recolección, para su análisis dentro de las 24 hs. Caso contrario, congelar inmediatamente para evitar pérdidas de toxinas, entre otras causas, por adsorción de las mismas sobre las paredes del envase.

4.2 Colección de muestras en caso de floración visible

En caso de tratarse de florecimientos muy densos (usualmente evidentes a simple vista por la coloración verde y la turbidez que le confieren al agua o por la presencia de acumulaciones (espumas) o franjas densas superficiales), es necesario modificar el procedimiento de colección de muestras.

Muestra cualitativa: no es necesario utilizar la red de plancton debido a la alta densidad de organismos presentes; es suficiente recolectar la muestra con el mismo tipo de recipiente indicado en el punto anterior, pasándolo directamente sobre la masa de células visibles a simple vista y llenando hasta la mitad aproximadamente.

Muestra cuantitativa: preferiblemente se debe coleccionar la muestra fuera del área de la “mancha” o espuma acumulada sobre la orilla, con el propósito de obtener una muestra representativa del sitio en su conjunto, sin influencia directa de la floración. La muestra se fija *in situ* con solución de Lugol como se indicó previamente. Se almacena en la oscuridad hasta ser enviada al laboratorio para su análisis.

La muestra destinada al análisis de toxina (microcistina-LR) se colecciona en un recipiente de 250 mL de polipropileno de alta densidad o material similar, tomando directamente sobre la masa de células visibles a simple vista. Se rotula y preserva como se indicó anteriormente para el caso del análisis de toxina.

5. Desinfección de *Didymosphenia geminata*

Luego de coleccionar la muestra de agua y previo a abandonar el sitio de muestreo, se debe realizar la desinfección de todos los elementos utilizados que tuvieron contacto con el agua, para evitar la dispersión del alga *D. geminata*. Se deberán seguir los protocolos correspondientes.

6. Bibliografía

AIC, DPRH, SSMA-DGBA, DPA, (2011). Protocolo de desinfección de equipos e indumentaria para ambientes acuáticos. Plan Interjurisdiccional de Prevención y Monitoreo de *Didymosphenia geminata*. Provincias de Neuquén y Río Negro.

AIC, (2012). Protocolo de desinfección *didymosphenia geminata* para muestreos de calidad de agua en ambientes Acuáticos.

AIC – Unidad de Gestión de Calidad del Agua, (2012). Protocolo para la detección y seguimiento de *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt en el área andina patagónica, Argentina. Autores Casco, M. A. y Sala, S. E., División Científica Ficología – Cátedra Ficología, Fac. de Cs. Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata, 57 pp.

Bioseguridad de Nueva Zelanda. <http://www.biosecurity.govt.nz/pests/didymo>

Cianobacterias y cianotoxinas: Identificación, toxicología, monitoreo y evaluación de riesgo. Leda Giannuzzi... [et. al.]. 1ª ed. Buenos Aires: el autor, 2009. 238 pp.

Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud. Leda Giannuzzi... [et. al.]; coordinado por Marcelo Hansen; edición literaria a cargo de Leda Giannuzzi. 1ª ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación, 2011. 160 pp.



*Autoridad Interjurisdiccional de las Cuencas
de los Ríos Limay, Neuquén y Negro*

SECRETARÍA DE GESTIÓN AMBIENTAL

**PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN *DIDYMOSPHENIA GEMINATA*
PARA MUESTREOS DE CALIDAD DE AGUA EN AMBIENTES
ACUÁTICOS**

CIPOLLETTI, Abril 2012



PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN *DIDYMOSPHENIA GEMINATA* PARA MUESTREOS DE CALIDAD DE AGUA EN AMBIENTES ACUÁTICOS

APLICABLE A MONITOREOS EN AMBIENTES LOTICOS Y LENTICOS DE LA
CUENCA DEL RÍO NEGRO

Este protocolo es de cumplimiento obligatorio para todo el personal que trabaje en ambientes acuáticos, sean éstos empleados provinciales, contratistas, operarios privados e investigadores de cualquier origen.

El presente protocolo esta basado en las recomendaciones indicadas por Nueva Zelanda, Chile, organismos de Argentina y la resolución N° 024/12 de la provincia del Neuquén.

1. CONSIDERACIONES GENERALES

Didymosphenia geminata es una especie de alga perteneciente al grupo de las diatomeas, que coloniza preferentemente las rocas, pero también se encuentra sobre otros tipos de sustrato (restos vegetales, macrófitas, etc.), y en la forma libre puede hallarse en la columna de agua y en los sedimentos. Es altamente invasora y si encuentra las condiciones para migrar (principalmente transporte por actividad humana o por agentes naturales), rápidamente coloniza nuevos cuerpos de agua.

2. MEDIDAS DE SEGURIDAD Y PRECAUCIÓN

Ante la amenaza de introducción y propagación de organismos perjudiciales, como *D. geminata*, se deben implementar medidas de control para prevenir la expansión de los mismos.

Las plagas de agua dulce son dispersadas a nuevos cursos de agua cuando son trasladados porciones de agua, barro, grava, suelo, plantas o animales, desde el lugar donde se han instalado, a nuevos sitios. Estos materiales pueden ser fácilmente transportados por los usuarios de cursos de agua que representan el principal agente de dispersión de *D. geminata*.

Por esta razón, todo elemento que pueda transportar accidentalmente organismos microscópicos invasores debe ser desinfectado después de completar las tareas de muestreo en cada sitio. En relación a ello, los muestreos deben planificarse de modo que se ejecuten desde aguas arriba hacia aguas abajo, para reducir aún más el riesgo de propagación del alga.

3. ELEMENTOS A DESINFECTAR

Todos los elementos que sean utilizados durante los muestreos e introducidos en el cuerpo de agua se consideran potencialmente contaminados, y deben ser desinfectados. Entre otros se incluyen:

- Botella Van Dorn
- Equipos e instrumentos para la medición de parámetros de calidad de agua,
- Botas de vadeo,
- Waders,
- Redes para plancton,
- Disco de Secchi
- Redes de pesca,
- Embarcaciones, vehículos,

4. SOLUCIONES A UTILIZAR PARA LA DESINFECCIÓN

La solución de lavandina al 2 % (hipoclorito de sodio) es muy efectiva en la supervivencia de *D. geminata*, sin embargo, teniendo en cuenta a la dificultad de su implementación en algunos casos y el deterioro que pudiera ocasionar en determinados instrumentales, pueden seguirse las recomendaciones internacionales utilizando alternativamente las soluciones que se mencionan a continuación.

- SAL al 5%. 500 g sal (dos vasos) cada 10 litros de agua.
- DETERGENTE al 5% (lavavajillas líquido biodegradable). Dos vasos pequeños o 500 ml en 10 litros de agua.
- Solución al 5% de un antiséptico de manos (povidona yodada).
- Agua muy caliente, por encima de 60°.

5. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA DESINFECCIÓN

5.1. Se debe retirar todo el material macroscópico de las manos, botas / waders, redes, equipos, etc., después de completar el muestreo en cada sitio.

5.2. Posteriormente dejar remojar, por lo menos durante un minuto los elementos (excepto los electrodos de equipos de medición) que estuvieron en contacto con el agua, en la solución de lavandina al 2% (1 vaso de lavandina cada 10 L de agua), o en la solución salina al 5% (2 vasos de sal cada 10 L de agua). Utilizar cepillo para fregar las superficies cuando sea necesario.



5.3. Dado que los electrodos de los equipos de medición son especialmente frágiles, se sugiere no utilizar las soluciones desinfectantes mencionadas por que pueden deteriorar del instrumental. Para el lavado se recomienda utilizar abundante agua de red/potable, y luego abundante agua destilada para arrastrar cualquier material presente potencialmente contaminante.

5.4. En caso de materiales absorbentes, mantenerlos al menos cinco (5) minutos en contacto con la solución desinfectante. Cuando sea posible, dejar secar la solución de los equipos, materiales y ropa, para aumentar la efectividad de la desinfección.

5.5. Realizar la desinfección y disposición de la solución de lavado (solución desinfectante) en un lugar en tierra próximo al sitio de muestreo, pero lo suficientemente alejado de cualquier cuerpo de agua para evitar que el líquido lo alcance.

6. CUÁNDO DESINFECTAR

Las medidas de desinfección deben adoptarse cada vez que se abandone el sitio de muestreo.

BIBLIOGRAFÍA

Bioseguridad de Nueva Zelanda. <http://www.biosecurity.govt.nz/pests/didymo>

MERINO G. R.; MARTÍNEZ G. M. y REIS P. A. (2011). Remover, lavar y secar. Manual de campo para prevenir la dispersión del alga invasora Didymo, *Didymosphenia geminata*. Publicado por el Centro de Investigación en Ecosistemas de la Patagonia (CIEP), basado en: "Keeping it Clean. A Tasmanian Field hygiene manual to prevent the spread of freshwater pest and pathogens", 2010. NRS South. Autores: Kaylene Allan y Simon Gartenstein.

DÍAZ P. C.; MOLINA P. X. y MONTECINO B. V. (2011). Manual de procedimientos y medidas tendientes al control de *Didymosphenia geminata* en sistemas lóticos chilenos: muestreo, desinfección, preparación y análisis de muestras. Subsecretaría de pesca, gobierno de Chile, POCH Ambiental S. A.

CASCO M. A. y SALA S. E. (2011). Protocolo para la detección y seguimiento de *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) Schmidt en el área andina patagónica, Argentina. División Científica Ficología – Cátedra Ficología, Fac. de Cs. Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.

Reglamento de pesca deportiva continental patagónico. pp. 66-80. <http://www.reglamentodepesca.org.ar>

AIC, DPRH, SSMA-DGBA, DPA (2011). Protocolo de desinfección de equipos e indumentaria para ambientes acuáticos. Plan Interjurisdiccional de Prevención y Monitoreo de *Didymosphenia geminata*. Provincias de Neuquén y Río Negro.



1. LISTADO DE LABORATORIOS ENCARGADOS DE LOS ANÁLISIS

INGELAB

Dirección: Santa Cruz 586, Neuquén Capital. Teléfono 0299 – 4431943
Variables analizadas: Bacteriológicos, DBO y Turbidez.

FUNBAPA

Dirección: Don Bosco 526, Viedma Río Negro. Teléfono 02920 – 430565
Variables analizadas: Bacteriológicos e Iones.

CRUB – UnCO

Dirección: Quintral 1250, San Carlos de Bariloche, Río Negro. Teléfono 024–4423374/4428505
Variables analizadas: Nutrientes y clorofila.

SEGEMAR – INTEMIN

Dirección: Av. General Paz 5445, San Martín, Provincia de Buenos Aires.
Teléfono 011–47544070
Variables analizadas: Metales, semimetales y cianuros.

IDEPA

Dirección: Buenos Aires 1400, Neuquén Capital. Teléfono 0299 – 4490300 (int. 678)
Variables analizadas: Agroquímicos.

CIATI

Dirección: Av. Mitre y 20 de Junio, Villa Regina, Río Negro 8336 Argentina.
Teléfono 298-4461062 / 4462810
Variables analizadas: Toxinas algales, Agroquímicos y Metales.

INDUSER

Dirección: Rufino Ortega 1010, Neuquén Capital. Teléfono: 0299 – 4483129
Variables analizadas: Hidrocarburos totales del Petróleo, BTEX y Hidrocarburos Poliaromáticos.

BEHA

Dirección: Ayelén 5399, San Carlos de Bariloche, Río Negro. Teléfono: 0294 – 4529030
Variables analizadas: Bacteriológicos.

Laboratorio División Ficología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

Dirección: Paseo del Bosque s/nº, La Plata, Buenos Aires. Teléfono: 0221 4259638
Variables analizadas: Densidad algal y Análisis Taxonómico

2. DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS Y METODOLOGÍAS APLICADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE CADA GRUPO DE PARÁMETROS.

2.1 METALES, METALOIDES (SEMIMETALES) Y CIANUROS.

Arsénico – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, cuantificación mediante espectrómetro de masas por plasma inductivo (ICP-MS).

Cadmio – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, ICP-MS.

Cinc – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, ICP-MS.

Cobre – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, ICP-MS.

Cromo – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, ICP-MS.

Mercurio – técnica de espectrometría de absorción atómica por vapor frío, límite de detección del método es de 0,03 $\mu\text{g/L}$. El instrumental a utilizar es un equipo analizador de mercurio marca Perkin Elmer modelo FIMS 400.

Plomo – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, ICP-MS.

Selenio – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, ICP-MS.

Níquel – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125, ICP-MS.

Plata – SM, Ed. 22, 2012. Norma 3125 ICP-MS.

Cianuros – técnica de la determinación por potenciometría con electrodo selectivo de cianuros, aplicando un algoritmo matemático luego de adición estándar. Límite de detección de 5 $\mu\text{g/L}$.

2.2 HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO, BTEX E HIDROCARBUROS POLIAROMÁTICOS.

Hidrocarburos totales (fracción GRO y DRO) – Norma EPA 5021:COV por “Equilibrium headspace analysis” - EPA 3510C: Separación de compuestos orgánicos por extracción Líquido-Líquido en ampolla de separación. - EPA 8015C: GC/FID. El límite de cuantificación es de 500 $\mu\text{g/L}$.

Benceno, Tolueno, Etilbenceno, m. p-Xileno y o-Xileno (BTEX) – Norma EPA 5021A/8015C:CG/FID. El límite de cuantificación es de 10 $\mu\text{g/L}$.

Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares – Norma EPA 3535A: Extracción en fase sólida EPA 8310: HPLC-detección por fluorescencia y UV. El límite de cuantificación es de 10 $\mu\text{g/L}$.

2.3 BACTERIOLÓGICOS.

Escherichia coli - SM, ed. 22, 2012. Técnica de tubos múltiples, 9221 B:2012, y técnica de filtración en membrana, SM, ed. 22, 9222 B.

Coliformes Totales - SM, ed. 22, 2012, 9221 E:2012.

Enterococos – técnica ISO 7899-2/2000 Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci.

2.4 FITOPLANCTON.

Densidad algal y Análisis Taxonómico – para el recuento de fitoplancton se sigue la técnica descrita por Utermöhl (1958) que emplea cámaras de sedimentación de volumen conocido. Para el reconocimiento y determinación de los organismos presentes en cada muestra, se aplica claves dicotómicas disponibles en trabajos bibliográficos específicos para grupo de géneros y/o especies, por ejemplo Lund, J. W. G. *et al.*, 1958; *The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. Hydrobiol.*, 11 (2):143-170.

Toxinas algales, MICROCISTINA-LR – por metodología ELISA – Microcystins – Abraxis. Límite de detección 0,1 µg/L.

2.5 AGROQUÍMICOS.

Organofosforados, organoclorados, carbamatos, fungicidas y Difenilamina – *Método de extracción*: Organofosforados y carbamatos: extracción en fase sólida (SPE), Método EPA 3535A (modificado); fungicidas, Etoxiquina y Difenilamina: U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Analysis of Pesticides Residues in Human and Environmental Samples: The sampling and analysis of water for pesticides, Section 10^a, 1-25 (1984) (modificado). *Método de detección y cuantificación*: Organoclorados: CG- micro ECD; Organofosforados, Carbamatos y Difenilamina: CG-NPD; Fungicidas: HPLC-UV. *Método de confirmación*: mediante CG-MS.

2.6 NUTRIENTES Y CLOROFILA

Nitrógeno Total – SM, Ed. 18^a, 1992. Grasshoff *et al.*, 1983. Digestión básica y reducción en columna de cadmio y diazotización.

Fósforo Total – SM, Ed. 19^a, 1995. Golterman *et al.*, 1978. Digestión ácida y reducción con ácido ascórbico.

Clorofila a y feopigmentos – SM, Ed. 19^a, 1995. Lorenzen, 1967. Espectrofotometría con corrección por feopigmentos.



2.7 FÍSICO-QUÍMICOS

DBO – SM 5210 y 5210 B, 20^a Ed. del Standard Methods. Límite de cuantificación de 5 mg/L.

Turbidez – APHA 2130-B, 20^a edición del Standard Methods. Límite de cuantificación 1 NTU.

Iones Principales – Cloruro: norma SM 4500-Cl-B; Sulfato: norma SM 4500-SO₄²⁻-E; Sodio y Potasio: norma SM 3111-B; Calcio: norma SM 3500-Ca⁺²-B; Magnesio: norma SM 3500-Mg⁺²-B; Sílice: SM 4500-SiO₂.

Dureza total: SM, Ed. 20^a, 2012. 2340-C.

Alcalinidad total: SM, Ed. 20^a, 2012. 2320-B

Sólidos Disueltos Totales: SM, Ed. 20^a, 2012. 2540-C.

Sólidos suspendidos Totales: SM, Ed. 20^a, 20. 2540-G

SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA; AWWA, WEF. Ediciones: 18^a (1992), 19^a (1995), 20^a (1998) y 22^a (2012).