

# Eficiência dos Métodos de Concentração de Amostras de Fitoplâncton

(\*) Chefe da Divisão de Biologia da CETESB.  
(\*\*) Biologistas da Divisão de Biologia da CETESB.

## SUMÁRIO

Foram testados três métodos de concentração de amostras de fitoplâncton em duas amostras distintas de água, a fim de se verificar sua eficiência na realização de exames quantitativos.

Para cada amostra foram preparadas 30 sub-amostras de acordo com cada método; através do cálculo da variância dos resultados foi escolhido, por comparação, o melhor método de concentração de fitoplâncton.

Tendo em vista os vários objetivos de trabalhos que poderão eventualmente se utilizar de exames quantitativos de fitoplâncton de água doce, é discutida a possibilidade de utilização de um método alternativo.

## 1. INTRODUÇÃO

A análise de amostras de fitoplâncton de água doce requer com grande frequência que os organismos neles presentes sejam concentrados, a fim de que seja realizada uma avaliação quantitativa. Várias técnicas foram desenvolvidas, todas elas, em geral, apresentando vantagens e desvantagens e devendo ser aplicadas cada qual dentro de um determinado objetivo, devido às suas limitações.

Apesar de já termos utilizado cerca de quatro métodos de concentração de amostras em nosso laboratório, e termos verificado preliminarmente as limitações de cada um, havia uma carência — não satisfeita

pela bibliografia já consultada — a de verificarmos, através de um estudo experimental planejado, a real eficiência de cada um deles.

Para atingir este objetivo foi desenvolvido este projeto, cujos resultados constam do presente trabalho.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. COLETA DE AMOSTRAS DE ÁGUA

Foram coletadas amostras em dois mananciais que apresentam níveis tróficos diversos e que abrigam comunidades fitoplanctônicas distintas: represa Billings e represa Nossa Senhora das Graças.

Foi realizada uma única coleta de superfície em cada manancial, tendo sido amostrados cerca de 30 litros de água bruta.

### 2.2. CONCENTRAÇÃO DE AMOSTRAS

Para cada método de concentração foram preparadas 30 sub-amostras para exame ao microscópio a fim de se dispor de um número de réplicas estatisticamente significativo:

#### 2.2.1. Filtração (Método de Sedgwick-Rafter)

Este método tem sido tradicionalmente utilizado em laboratórios de hidrobiologia pertencentes a órgãos responsáveis pelo saneamento básico. Está descrito em detalhes no "Standard Methods" desde a 9.ª edição em 1946 até a 12.ª edição em 1965 (1, 2, 3).

Cada sub-amostra foi obtida pela filtração de 250 ml de água.

#### 2.2.2. Centrifugação

A centrifugação é o método que vem sendo utilizado há anos nas análises hidrobiológicas realizadas pela CETESB. Este método, baseado no descrito por Welch (10) e que consta, também, do "Standard Methods for the Examination of Water and Sewage" desde a 9.ª até a 14.ª ed., sofreu várias adaptações (10) e foi recentemente aperfeiçoado (6).

Esta técnica consiste em centrifugar alíquotas de 100 ml de água, em tubos cônicos de 50 ml contendo 0,25 ml de detergente líquido, a 2500 rpm durante 20 minutos. O sobrenadante é descartado com cuidado sendo mantidos 5 ml em cada tubo, que são reunidos em um mesmo recipiente. Obtém-se, desta forma, uma amostra 10 vezes concentrada.

#### 2.2.3. Decantação — Método de Utermöhl

Este método consta do "Standard Methods" desde a 13.ª ed. bem como de outras bibliografias específicas referentes ao assunto (8, 9, 10).

Foram utilizadas para este trabalho, câmaras de 5 ml para a amostra da represa Billings e de 10 ml para a amostra da represa Nossa Senhora das Graças.

## 2.3. ANÁLISE AO MICROSCÓPIO

As amostras concentradas pelos métodos de filtração e centrifugação foram examinadas em microscópio "standard", em câmaras de Sedgwick-Rafter, segundo Norma Cetesb L5.303 (7); as decantadas foram analisadas ao microscópio invertido, segundo a mesma norma.

ELENITA GHERARDI GOLDSTEIN (\*\*)  
DENISE NAVAS PEREIRA (\*)  
STELA APARECIDA EID PIVA (\*\*)  
CHEN YUNG PING (\*\*)

## 2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises de cada método foram tratados estatisticamente através do cálculo da variância e do teste t de Student.

## 3. RESULTADOS

Os resultados médios dos exames realizados pelos três métodos estão representados nas tabelas abaixo.

**TABELA 3.1.**

Resultado médio obtido nos exames de fitoplâncton da represa Billings através dos três métodos de concentração.

Grupos	Método		Filtração		Centrifugação		Decantação	
	N.º Org/ml	%	N.º Org/ml	%	N.º Org/ml	%	N.º Org/ml	%
Cianofíceas	1.752,7	13,6	1.109,3	1,5	3.978,2	3,1		
Clorofíceas	10.615,9	82,2	72.173,1	98,3	122.372,2	96,5		
Diatomáceas	60,5	0,5	91,7	0,1	189,0	0,2		
Fitoflagelados	52,6	0,4	71,9	0,1	297,9	0,2		
TOTAL	12.912,1	—	73446,1	—	126.837,3	—		

**TABELA 3.2.**

Resultado médio obtido nos exames de fitoplâncton da represa Nossa Senhora das Graças através dos três métodos de concentração.

Grupos	Método		Filtração		Centrifugação		Decantação	
	N.º Org/ml	%	N.º Org/ml	%	N.º Org/ml	%	N.º Org/ml	%
Cianofíceas	3,4	0,2	20,3	0,7	59,6	1,7		
Clorofíceas	1.409,4	60,6	1.942,2	66,7	2.215,6	61,3		
Diatomáceas	876,3	37,7	917,4	31,2	1.053,9	29,2		
Fitoflagelados	35,7	1,5	58,3	1,9	282,0	7,8		
TOTAL	2.325,0	—	2.938,3	—	3.611,2	—		

## 4. DISCUSSÃO

Pela análise das tabelas 3.1. e 3.2. verifica-se que há grande diferença entre o número total de organismos por mililitro existentes na represa Billings e na represa Nossa Senhora das Graças. Na primeira, embora o número absoluto de cianofíceas presentes seja elevado, verificou-se uma predominância bastante acentuada de clorofíceas, enquanto que na última a predominância de clorofíceas é seguida pela de diatomáceas, que estão representadas por porcentagens significativas (ao redor de 32%).

Do ponto de vista quantitativo, o método de decantação foi o que permitiu detectar o maior número total de algas por mililitro, bem como o maior número em cada um dos grupos considerados. Este foi, portanto, o melhor método para ambas as amostras de água, seguido pelo de centrifugação.

Os resultados obtidos para cada método e para cada amostra de água foram analisados estatisticamente através de variância e do teste t de Student.

Através do teste t verificou-se que as diferenças entre os resultados obtidos pelos três métodos de concentração são estatisticamente significativas. A menor diferença significativa observada foi entre os métodos de decantação e centrifugação e a maior entre os métodos de decantação e filtração, para ambas as amostras estudadas (Tabelas 1 e 2, Anexo).

Verificou-se, também, que para ambas as amostras o resultado de decantação é o que apresenta menor variância, e conseqüentemente menor desvio padrão; é, portanto, o método de concentração para análise quantitativa que fornece resultados mais consistentes e reprodutíveis (Tabelas 3 e 4, Anexo).

O método de filtração mostrou-se bastante ineficaz em termos de resultados absolutos e de análise de variância em relação ao de decantação e mesmo ao de centrifugação, principalmente em amostras de águas eutróficas, como é o exemplo da represa Billings (90% de perda total

de organismos). Para águas oligotróficas o método seria considerado como última opção. Deve-se, salientar, inclusive, que o método não consta mais do "Standard Methods" desde a 13.ª ed. (4).

O método de centrifugação é extremamente útil e vantajoso principalmente quando:

a) há necessidade de se obter resultados rápidos: em cerca de 40 minutos a 1 hora a amostra é concentrada e o exame realizado; em comparação, a amostra decantada exige 24 horas apenas para a decantação e cerca de 2 horas, no mínimo, para a realização do exame.

b) o tempo disponível para o exame é restrito; laboratórios que atendem a um elevado número de solicitações de exames não podem se restringir apenas à concentração por decantação, devendo utilizar uma série de critérios para a escolha de método adequado.

c) quando há limitação quanto ao custo de operação: pelo exposto no item a, verifica-se que o custo em termos de hora/homem (principalmente considerando que o biólogo que realiza este tipo de análise é de nível superior e geralmente é um especialista) torna-se bem inferior para o exame de águas concentradas por centrifugação do que por decantação. Considera-se inclusive que, enquanto um analista treinado realiza a centrifugação, o biólogo realiza o exame propriamente dito, o que reduz o tempo do biólogo para 30 a 40 minutos por exame.

No que diz respeito a equipamentos os custos quase se igualam: necessita-se da centrífuga e do microscópio "standard" para o exame de amostras concentradas por centrifugação e de microscópio invertido (bem mais caro que o "standard") para decantação.

A análise de variância indicou que a consistência de resultados que o método de centrifugação permite é bastante aceitável para ambos os tipos de águas amostradas. Considera-se, portanto, que é um método ainda aceitável para análises que visam, por exemplo, a determinação da comunidade planctônica com finalidades sanitárias e mesmo de monitoramento, embora em média a perda total de organismos em comparação ao método de decantação esteja entre 20 e 40%. Este método consta do "Standard Methods" desde a 9.ª edição (1), foi retirado na 13.ª (4) e novamente citado na 14.ª edição (5) juntamente com decantação ou sedimentação e filtração em membrana. Este último método não foi incluído no presente trabalho devido às suas desvantagens e por ter se revelado inadequado às nossas condições.

Assim, o método de decantação é o mais indicado para análises quan-

tativas e sua utilização é altamente recomendada, principalmente, quando estão envolvidos levantamentos ecológicos. Além da qualidade dos resultados quantitativos que o método permite obter, a análise de amostras decantadas, sendo realizada em microscópio invertido, possibilita que a mesma seja realizada com objetivos de maior aumento, facilitando a identificação dos espécimes até ao nível de espécie.

## 5. CONCLUSÕES

5.1. Pelos resultados obtidos o melhor método de concentração de fitoplâncton de água doce é o de decantação ou sedimentação, sendo recomendado, principalmente, para estudos de levantamentos ecológicos.

5.2. Devido, principalmente, à sua rapidez, como, também, à simplicidade de execução, o método de centrifugação pode ser utilizado para programas restritos de controle de qualidade da água e mesmo monitoramento, quando a decantação não for viável. Suas vantagens em certas situações superam suas desvantagens.

5.3. O método de filtração é o menos indicado, principalmente quando se trata de concentrar amostras de mananciais eutróficos. Deve ser utilizado somente quando o laboratório não puder dispor de equipamentos para a realização dos outros dois métodos.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) American Public Health Association - Standard Methods for the Examination of Water and Sewage. 9th ed. New York, APHA, AWWA, 1946.
- (2) American Public Health Association - Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 11th ed. New York, APHA, AWWA, WPCF, 1960.
- (3) \_\_\_\_\_ 12th ed. \_\_\_\_\_, 1965.
- (4) \_\_\_\_\_ 13th ed. \_\_\_\_\_, 1971.
- (5) \_\_\_\_\_ 14th ed. \_\_\_\_\_, 1975.
- (6) CETESB - Relatório sobre "Concentração de amostras para exame de fitoplâncton de água doce". Convênio DAEE/CETESB - Agosto/1977 - (GAB/DBIO).
- (7) CETESB - Determinação de fitoplâncton de água doce. Métodos Qualitativo e Quantitativo. Norma CETESB L5.303.
- (8) Vollenweider, R. A. - A manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments. I.B.P. Handbook n.º 12, 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, London, 1974.
- (9) Weber, C. I. - Biological Field and Laboratory Methods for Measuring the Quality of Surface Waters and Effluents. U.S., EPA, Program Element IBA 027, 1973.
- (10) Welch, P. S. - Limnological Methods. New York, Toronto, London, McGraw Hill Book Co. 381 pp., 1948.

## ANEXO — RESULTADOS ESTATÍSTICOS

TABELA 1.

Teste t de Student para os resultados dos três métodos de concentração da amostra da Represa Nossa Senhora das Graças.

Método de concentração	d	$\beta$	Valor de t obtido	Valor de t esperado
Decantação e Filtração	1.285,53	890,51	7,91	2,045
Decantação e Centrifugação	675,50	1.185,32	3,12	2,045
Centrifugação e Filtração	613,37	837,79	4,01	2,045

TABELA 2.

Teste t de Student para os resultados dos três métodos de concentração da amostra da Represa Billings.

Método de concentração	d	$\beta$	Valor de t obtido	Valor de t esperado
Centrifugação e Filtração	59.150,21	29.419,68	10,83	2,048
Decantação e Filtração	111.341,55	34.595,8	17,38	2,048
Decantação e Centrifugação	53.391,23	42.407,18	6,90	2,045

TABELA 3.

Resultados estatísticos dos exames da amostra da Represa Billings.

Parâmetros	Métodos		
	Filtração	Centrifugação	Decantação
X	12.912,14	73.446,00	752.126.837,00
Variância	53.190.779,57	766.630.741,40	752.180.720,70
Desvio padrão	7.289,09	27.688,10	27.425,91
Coefficiente de variação	56%	38%	22%

TABELA 4.

Resultados estatísticos dos exames da amostra da Represa Nossa Senhora das Graças.

Parâmetros	Métodos		
	Filtração	Centrifugação	Decantação
X	2.325,00	2.938,37	3.610,53
Variância	463.585,38	669.743,76	270.784,39
Desvio padrão	680,87	830,51	520,37
Coefficiente de variação	29%	28%	14%