

# Evaluación del uso de cloro y ozono para la remoción de microcistina en agua destinada al consumo

▷ Aranda O., Crettaz-Minaglia M.C., Juárez I., Sedan D., Rosso L., Ventosi, E., Andrinolo D., Giannuzzi L.

## RESUMEN

Las cianobacterias son organismos distribuidos mundialmente, y que influyen sobre la calidad del agua destinada al consumo. Las prácticas humanas han resultado en la eutrofización de los cuerpos de agua de todo el mundo, y una de las consecuencias, es el aumento de estos organismos y de sus metabolitos secundarios, generando dificultades en los tratamientos de aguas.

Las toxinas producidas por cianobacterias son compuestos químicamente heterogéneos que se clasifican, según su modo de acción, en hepatotoxinas, neurotoxinas y dermatotoxinas. Dentro de las microcistinas (MCs) la microcistina LR ha sido identificada como una de las toxinas de mayor prioridad a ser estudiada.

Dado que el agua de consumo es la principal vía de exposición a MC, se han desarrollado y evaluado numerosas tecnologías de remoción, siendo una de ellas, la clorinación. Sin embargo, el cloro presenta efectos nocivos al ponerse en contacto con materia orgánica, ya que se forman compuestos como los trihalometanos. Por este motivo, es importante desarrollar nuevas alternativas tecnológicas de remoción de MC en plantas de tratamiento de aguas. El ozono resulta de interés debido a ser amigable con el ambiente y no dejar residuos de clorinación.

Si bien existen diversas tecnologías para la remoción de MC en la Argentina es un tema preocupante y de difícil resolución. Muchas tecnologías no se aplican debido a la falta de experiencia y a las dificultades tecnológicas. Resulta entonces importante analizar las alternativas existentes y adaptarlas a las condiciones locales, así como desarrollar nuevas metodologías.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la cinética de oxidación de MC-LR utilizando cloro y ozono a diferentes pH iniciales en soluciones acuosas, a fin de obtener variables operativas para la remoción de estas toxinas.

**Palabras clave:** Tratamiento del agua, plantas de tratamiento, cianobacterias, microcistina, remoción de contaminantes, cianotoxinas

**Keywords:** Water treatment, treatment plants, cyanobacteria, microcystin, contaminant removal, cyanotoxins

## ABSTRACT

Cyanobacteria are organisms distributed worldwide that influence the quality of water intended for human consumption. Anthropogenic practices have resulted in the eutrophication of water bodies around the world, and one of the consequences is the rise of these organisms and their secondary metabolites, creating difficulties in water treatments.

Toxins produced by cyanobacteria are chemically heterogeneous compounds classified according to their mode of action, in hepatotoxins, neurotoxins and dermatotoxins. Within microcystins (MCs) the microcystin LR has been identified as one of the toxins with higher priority to be studied.

Since drinking water is the primary route of exposure to MC, numerous removal technologies have been developed and evaluated (one of them, chlorination). However, chlorine has harmful effects on contact with organic material, since compounds as trihalomethanes were formed. For this reason, it is important to develop new technological alternatives for MC removal in water treatment plants. Ozone is of interest due to being environmentally friendly and leave no chlorination residues.

While there are various technologies for the removal of MC in Argentina, it is a worrying and difficult issue resolution. Many technologies are not applied due to lack of experience and technological difficulties. It is therefore important to analyze the alternatives and adapt it to local conditions, as well as developing new methodologies.

The aim of this study is to evaluate the oxidation kinetics of MC-LR using chlorine and ozone at different initial pH in aqueous solutions, in order to obtain operational variables for the removal of these toxins.

## INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son algas fotoautótrofas de distribución mundial, y que influyen altamente sobre la calidad del agua destinada al consumo. Los diferentes componentes involucrados en la actividad y desarrollo de las prácticas humanas, han resultado en la eutrofización de los cuerpos de agua a lo largo de todo el mundo, donde una de las consecuencias es el aumento de la biomasa de estos organismos y de sus metabolitos secundarios, generando dificultades metodológicas en los tratamientos de aguas. Las cianobacterias se encuentran frecuentemente en aguas dulces y ecosistemas marinos.

Aquellas especies que viven dispersas en el agua son parte del fitoplancton, mientras que las que crecen en los sedimentos forman parte de los organismos fitobentónicos. Bajo ciertas condi-

ciones, especialmente donde las aguas son ricas en nutrientes y hay exposición a la luz solar, las cianobacterias pueden multiplicarse a altas densidades, una condición conocida como florecimiento de agua o "blooms".

Las floraciones de cianobacterias de agua dulce son cada vez más comunes de lo que generalmente se piensa. Entre las principales especies que la componen se encuentran *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Gloeotrichia*, *Lyngbya* y *Oscillatoria*. A pesar de encontrarse en los lagos durante todo el año, es por lo general a finales de verano y principios de otoño, cuando alcanzan proporciones de floración. Esto se debe a:

- La capacidad de las cianobacterias de capturar luz superior cuando la sombra en la columna de agua es más grande.
- Su alta afinidad por el nitrógeno y fósforo cuando la limitación de nutrientes es más grave.
- Su capacidad para regular su posición en la columna de agua por vacuolas de gas para tomar ventaja de las zonas más ricas en nutrientes y/o luz.
- Su mayor temperatura óptima para el crecimiento y la fotosíntesis (mayor de 20° C) (Tang y col., 1997).

La importancia de las cianobacterias sobre la salud pública se conoce desde hace décadas debido a la muerte de seres humanos (Jochimsen y col., 1998) y animales después de beber agua con cianobacterias productoras de toxinas en Australia (Francis, 1878), Argentina (Ringuelet y col., 1955) y en todo el mundo (Codd, 1984). Resulta significativo en los últimos años, el aumento de la frecuencia e intensidad de estos fenómenos a nivel mundial, produciendo fuertes impactos sanitarios, económicos y ambientales, al afectar un recurso vital como el agua.

Las cianotoxinas producidas por cianobacterias, son compuestos químicamente heterogéneos que se clasifican, según su modo de acción, en hepatotoxinas, neurotoxinas y dermatotoxinas. Las hepatotoxinas (microcistinas, nodularina y cilindroespermolina) son hepta y penta péptidos monocíclicos (microcistinas y nodularinas, respectivamente) aislados por vez primera de los géneros *Microcystis* y *Nodularia*.

Dentro de las microcistinas (MCs) la microcistina LR (MC-LR) ha sido identificada como una de las toxinas de mayor prioridad a ser estudiada. Esta prioridad se basa en cuatro criterios: los efectos sobre la salud humana, su ocurrencia en cuerpos de agua, la susceptibilidad a los tratamientos en las plantas potabilizadoras, y la estabilidad de la toxina (USEPA, 2001). En 1998, la Organización Mundial de la Salud alertó sobre la potencial importancia de la presencia de MCs en el agua de red y adoptó un valor guía provisional para MC-LR de 1 µg.L<sup>-1</sup>.

Los métodos actualmente disponibles para la detección y cuantificación de estas toxinas, incluyen bioensayos en ratón, concentración en fase sólida seguida por detección empleando equipos de cromatografía líquida con detectores específicos. Un método sensible es la inhibición de fosfatasa, que permite detectar niveles de MCs suficientemente bajos. Este método ha sido probado y demuestra alta sensibilidad para la cuantificación de estas toxinas.

Las MCs presentan posible actividad carcinogénica (Fujiki y col., 1996), confirmando como promotoras de cáncer primario de hígado en algunas áreas de China (Falconer y col., 1999) aunque aún no han sido evaluadas definitivamente por la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer. La principal ruta de exposición en el hombre es el consumo de agua de bebida, siendo en menor proporción la exposición por actividades recreacionales en lagos y ríos (Falconer, 1999).

Aplicando los criterios consensuados por la Organización Mundial de Salud (OMS) en *Toxic cyanobacteria in water*, el riesgo relativo de contraer afecciones a la salud en la Cuenca del Plata a causa de florecimientos de cianobacterias, es elevado debido a que el sistema de tratamiento del agua potable no cumple dos condiciones que la OMS postula como básicas:

- el tratamiento del agua no utiliza procesos tales como ozonización o filtros especiales de carbón activado.
- no se realizan monitoreos constantes para evaluar la presencia de cianobacterias y sus toxinas en los cuerpos de agua utilizados como fuentes de abastecimiento.

Por otra parte, la presencia de cianobacterias en el agua que abastece a las plantas potabilizadoras, puede ocasionar problemas operacionales en varias etapas del tratamiento: dificultad de coagulación y floculación; baja eficiencia de sedimentación; colmatación de filtros y aumento de la necesidad de productos para la desinfección. Como consecuencia de estos problemas operacionales, se verifica generalmente, una reducción de la eficiencia de los procesos de tratamiento, y en el agua tratada también surgen problemas asociados a la presencia de cianobacterias y sus subproductos extracelulares: olores, sabores, trihalometanos y toxinas. La importancia de las algas y cianobacterias como potenciales precursores de trihalometanos, es particularmente cuando ocurren floraciones.

Los sistemas de potabilización de agua convencionales tales como coagulación, floculación, o filtración, pueden ser efectivos para toxinas intracelulares, donde las células son parcialmente removidas. Pero no son lo suficiente efectivos para remover toxinas extracelulares (Acero y col., 2008). Tales procesos simplemente transfieren las toxinas de una fase a otra. Por otra parte, una adecuada captación y coagulación seguida de filtración, resulta claramente insuficiente durante los florecimientos por el volumen de biomasa disponible. En el supuesto que esta sea la eficacia de las plantas nacionales, con los niveles de MCs de 24.000 µg.L<sup>-1</sup> registrados en el Lago San Roque (Ame y col., 2003) se podría detectar en el agua de red niveles de 120 µg.L<sup>-1</sup>. Estos niveles superan ampliamente el límite establecido por la OMS de 1 µg.L<sup>-1</sup> de MC en el agua potable. Por ello, es necesario desarrollar métodos efectivos de remoción de MC-LR en las plantas potabilizadoras que reciben aguas contaminadas con florecimientos cianobacterianos.

En concordancia con lo anterior, el grupo de trabajo que desarrolló el presente estudio, ha informado la presencia de *Microcystis aeruginosa* en el Río de la Plata y detectado valores de MC-LR que variaron entre 0,1-7,8 µg.L<sup>-1</sup>, en agua de red de la ciudad de La Plata y Ensenada. Estos valores son superiores a los niveles guía dados por la OMS, de 1 µg.L<sup>-1</sup> (Giannuzzi y col., 2012). Lo anterior marca la necesidad de implementar en las plantas potabilizadoras, estrategias de remoción de toxinas y evitar que la población esté en riesgo por consumir estas toxinas en el agua de red. Adicionalmente, se ha descrito que durante el periodo de floculación, las células pueden lisarse y liberar las toxinas intracelulares al sobrenadante. Dado que el agua de consumo es la principal vía de exposición a MCs, se han desarrollado y evaluado numerosas tecnologías de remoción de estas toxinas, siendo una de ellas, la clorinación. La clorinación ha sido utilizada intensamente en Estados Unidos desde el año 2000 (AWWA, 2000) y representó una manera accesible y fácil de inactivar MC. Asimismo, se sabe que la remoción de cianotoxinas por la aplicación de cloro puede ser afectada por el pH del medio, la temperatura

y la demanda química de oxígeno (DQO) entre otros parámetros (Xagorarakis y col., 2006). Sin embargo, la cuantificación y el modelado de la remoción de MCs en conjunto con las variables que afectan la remoción (pH, cantidad de MCs inicial, dosis de cloro, temperatura y presencia de materia orgánica) es un tema poco explorado y de interés para su aplicación en plantas de tratamiento de aguas en medios locales del país.

A pesar de las sabidas ventajas del cloro en la potabilización de aguas, por ejemplo, su reconocida efectividad antimicrobiana frente a un amplio grupo de bacterias incluyendo coliformes, coliformes fecales y *E. coli*, entre otras, su poder residual permite ejercer su acción luego de su aplicación. Sin embargo, el cloro presenta efectos nocivos al ponerse en contacto con materia orgánica, ya que se forman compuestos organoclorados, como los trihalometanos. Por este motivo, es importante desarrollar nuevas alternativas tecnológicas de remoción de MCs en plantas de tratamiento de aguas. El ozono resulta de interés debido a ser amigable con el ambiente y no dejar residuos de clorinación.

El tratamiento con ozono tiene dos agentes de oxidación: el ozono y el radical hidroxilo. El ozono reacciona con grupos alquenos, grupos funcionales de aminas aromáticas y neutras, mientras que el radical hidroxilo ataca, al azar, enlaces carbonohidrógeno en las moléculas orgánicas (Von Gunten y col., 2003). El ozono reacciona con el doble enlace conjugado y un simple enlace conjugado en el Adda y el grupo mdhA de la MC, respectivamente. La combinación con luz ultravioleta podría mejorar la eficiencia de remoción de toxinas. Por otra parte, en el agua sin tratar puede haber mezclas de toxinas que requieran diferentes procesos de tratamiento para su eliminación. De esta manera, la potabilización llevada a cabo por una planta, debe estar integrada en un abordaje de tipo multi-barrera. Así, las investigaciones deben estar focalizadas a la combinación de tratamientos.

A pesar de que la bibliografía ofrece una gran diversidad de tecnologías para la remoción de MC, en la Argentina un tema preocupante en las plantas potabilizadoras, y de difícil resolución. Muchas tecnologías no se aplican debido a la falta de experiencia en estos temas, así como por las dificultades tecnológicas y la falta de capacidades técnico-estructurales.

Resulta entonces importante analizar las alternativas tecnológicas existentes y adaptarlas a las condiciones locales, así como desarrollar nuevas metodologías para eliminar las toxinas en las instalaciones convencionales de plantas potabilizadoras de agua.

## OBJETIVOS

Evaluar la cinética de oxidación de MC-LR utilizando cloro y ozono a diferentes pH iniciales en soluciones acuosas, a fin de obtener variables operativas para la remoción de estas toxinas.

## METODOLOGÍA

La cinética de remoción de MC-LR mediante cloro, se realizó exponiendo soluciones acuosas de MC-LR (10, 20 y 50 µg.L<sup>-1</sup>) a diversas dosis de cloro (1,0, 2,0 y 5,0 mg.L<sup>-1</sup> de cloro libre) y a tres niveles de pH (6, 7 y 8). Ello corresponde a un diseño factorial de 3x3x3=27 experimentos. Se tomaron alícuotas a diferentes tiempos de contacto (0, 1, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 minutos) que se neutralizaron con tiosulfato de sodio 0,1 N para luego determinar la concentración de MC-LR remanente mediante el ensayo de inhibición de la proteína fosfatasa.

Para los ensayos de remoción con ozono se utilizó un genera-

dor de ozono DOBZONO alimentado con oxígeno. Los ensayos de ozonización se realizaron con diferentes concentraciones de MC-LR inicial (10, 20 y 50 µg.L<sup>-1</sup>) con tres niveles de ozono (0,5, 1,0 y 3,0 mg.L<sup>-1</sup>) y dos valores de pH (6 y 9). Ello corresponde a un diseño factorial de 3x3x2=18 experimentos. La concentración de O<sub>3</sub> se determinó empleando el método colorimétrico de Índigo Método 4500 Ozono, APHA (1998).

La remoción de MC-LR se cuantificó mediante la técnica de inhibición de la fosfatasa. La toxina utilizada en los ensayos fue extraída de un cultivo de *Microcystis aeruginosa* cepa CAAT2005 obtenida del ambiente, y pertenece al Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina. Para evaluar la degradación de MC-LR mediante el uso de cloro y ozono, se utilizó un modelo exponencial decreciente

$$C = C_o + A * \exp(K_1 * t) \quad [1]$$

Donde ( $K_1$ ) es la constante de velocidad de pseudo primer,  $C_o$  es la concentración inicial de MC-LR y  $A$  es una constante. El valor de ( $K_1$ ) se estimó mediante la representación de la [MC-LR] en función del tiempo. El parámetro de ajuste seleccionado para este trabajo fue el tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ), que representa el tiempo al cual la concentración inicial de MC se reduce a la mitad.

La velocidad de la reacción para la oxidación de MC-LR mediante cloro y ozono puede describirse de la siguiente manera:

$$r = K[MC - LR]^x [\text{oxidante}]^y \quad [2]$$

Donde  $r$  es la velocidad de la reacción,  $K$  es la constante de velocidad de la reacción, [MC-LR] es la concentración de MC, [oxidante] es la concentración de cloro u ozono y ( $x$ ) e ( $y$ ) son los órdenes de las reacciones con respecto a cada reactivo. Esto aplica para las situaciones en las que el oxidante, en este caso cloro u ozono, se encuentran en exceso. Estas ecuaciones pueden ser simplificadas así:

$$r = K_1[MC - LR]^x \quad [3]$$

$$K_1 = K[\text{oxidante}]^y \quad [4]$$

Donde  $K_1$  es la constante de velocidad de pseudo-primer orden. El orden de ( $x$ ) puede ser determinado aplicando el logaritmo a la ecuación 3. Variando la concentración inicial de MC-LR y midiendo la velocidad de la reacción.

$$\log r = \log K_1 + x \log[MC - LR] \quad [5]$$

El orden ( $y$ ) puede ser obtenido de la misma manera, aplicando el logaritmo a la ecuación 4 y midiendo las velocidades de la reacción con varias concentraciones de cloro u ozono.

$$\log K_1 = \log K + y \log[\text{oxidante}] \quad [6]$$

De la ecuación 3 se deduce el tiempo de degradación medio:

$$t_{1/2} = \frac{(\ln(MC - LR)_{1/2} - y_o) - \ln A}{K_1} \quad [7]$$

$MC-LR_{1/2}$  corresponde a la mitad de la concentración inicial,  $y_o$

es la concentración inicial de MC-LR ( $10, 20 \text{ y } 50 \mu\text{g. L}^{-1}$ ) A y  $K_1$  son definidos en la ecuación 3.

## RESULTADOS

### Degradación de MC-LR con cloro

Se realizaron 27 experimentos de remoción de MC-LR con cloro, generando 27 curvas de degradación. En las Figuras 1, 2 y 3 a, b, y c, se puede observar la cinética de degradación de MC-LR ( $10, 20 \text{ y } 50 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) en presencia de cloro ( $19, 38 \text{ y } 95 \text{ mM}$ ) a pH 6, 7 y 8 respectivamente. Puede observarse una rápida degradación de MC-LR dependiendo de la concentración inicial, el pH y la concentración de cloro utilizada. La cinética de remoción de MC-LR pudo ser ajustada con una ecuación exponencial decreciente (ecuación 1) en todos los casos.

En la Tabla 1 se presenta los parámetros obtenidos del ajuste exponencial para los tratamientos realizados con cloro a diferentes niveles de pH. Se calculó el valor de C.T (concentración por tiempo) como el producto de la concentración y el tiempo necesario para disminuir la concentración de MC-LR a la mitad. La  $K_1$  indica la constante de velocidad de pseudo primer orden para la degradación de MC-LR obtenida mediante la

ecuación 1 y a su vez, se muestra el parámetro de  $r_0$ , el cual indica la velocidad de la reacción al tiempo cero y concentración inicial de MC-LR.

Para cada concentración de cloro y a las tres concentraciones de MC-LR iniciales, se graficó el logaritmo de la velocidad de la reacción al tiempo cero ( $r_0$ ) con respecto al logaritmo de la concentración de MC-LR inicial. De esta manera, se determinó luego de la regresión lineal para cada caso, la pendiente de dicha regresión, la cual evidencia el orden de la reacción ( $x$ ). En todos los casos el valor de la pendiente fue cercano a 1, indicando una reacción de primer orden con respecto a la concentración de MC-LR. A modo de ejemplo, en las Figuras 4a (pH 7,  $19 \text{ mM}$  de cloro y tres concentraciones iniciales de MC-LR) y b (pH 8,  $95 \text{ mM}$  de cloro y tres concentraciones iniciales de MC-LR) se muestra la determinación del orden de la reacción.

En un segundo análisis de los resultados experimentales, se relacionó el Log de ( $K_1$ ) o constante de velocidad de pseudo-primer orden, con respecto al Log de UAC (concentración de ácido sin disociar). La pendiente de la regresión lineal de esta relación también fue cercana a 1, indicando que el orden de la reacción ( $y$ ) es de primer orden con respecto a la concentración de ácido sin disociar (UAC).

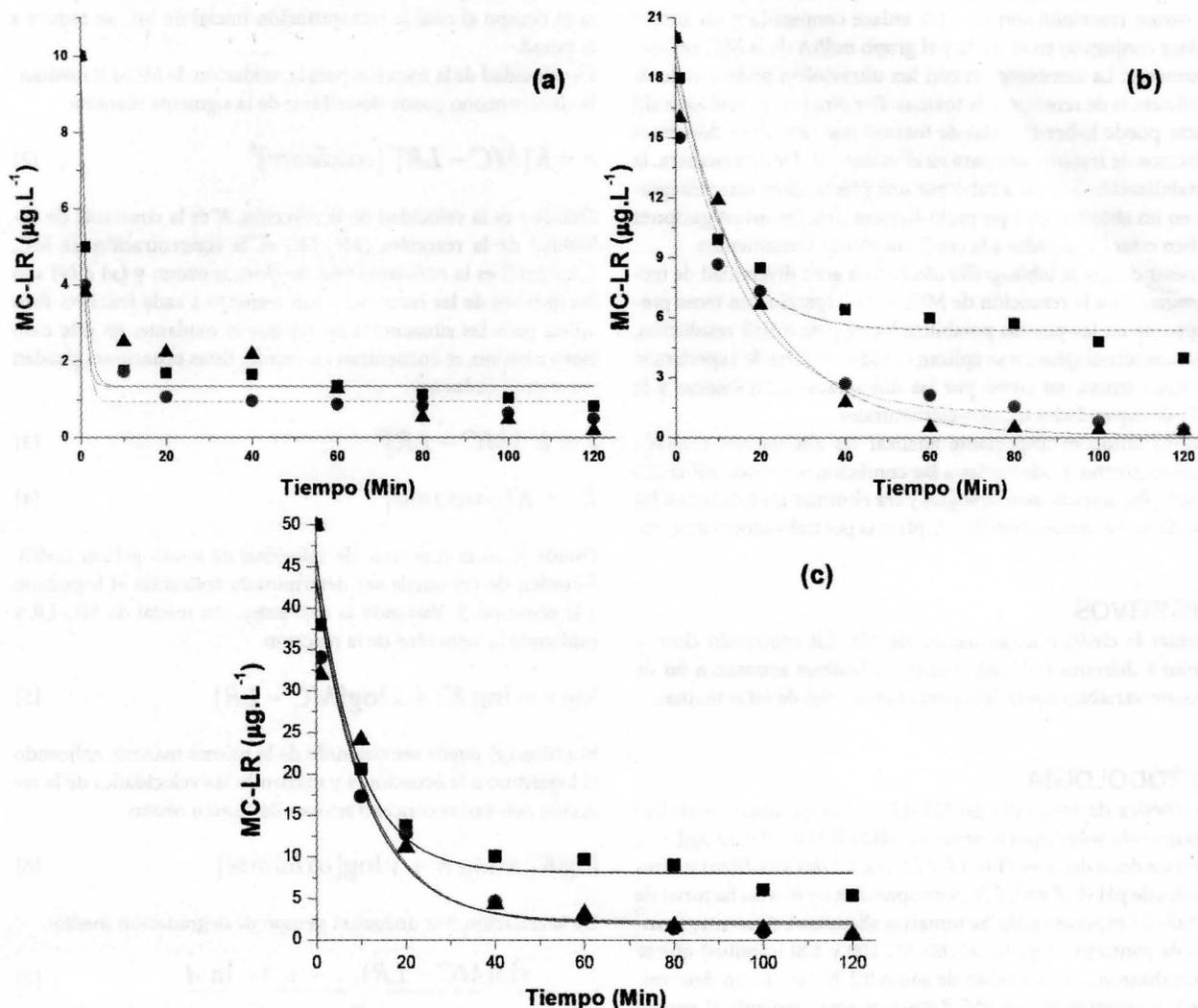
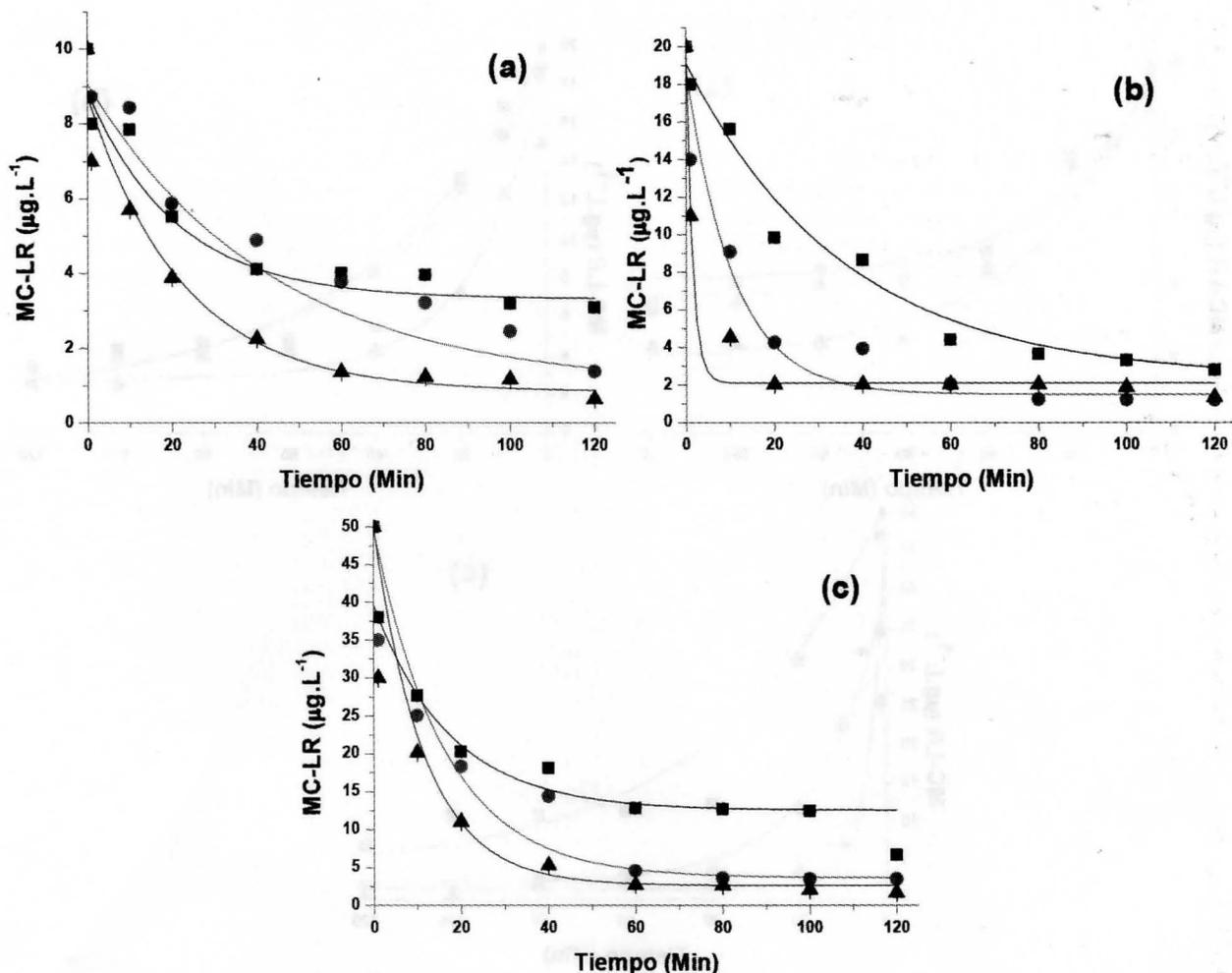


Figura 1. Cinética de degradación de MC-LR a)  $10$ , b)  $20$  y c)  $50 \mu\text{g.L}^{-1}$  a pH 6 para tres concentraciones de cloro ( $\blacksquare$   $19 \text{ mM}$ ,  $\bullet$   $38 \text{ mM}$ ,  $\blacktriangle$   $95 \text{ mM}$ )



**Figura 2.** Cinética de degradación de MC-LR a) 10, b) 20 y c) 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a pH 7 para tres concentraciones de cloro (■19 mM, ●38 mM, ▲95 mM)

A modo de ejemplo, en las **Figuras 5a** (pH 6, 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de MC-LR y tres concentraciones de UAC) y **b** (pH 8, 20  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de MC-LR y tres concentraciones de UAC) se muestra la determinación del orden de la reacción ( $\gamma$ ).

Por otra parte, existe la cinética de degradación de cloro inicial. Es sabido que la degradación de cloro es dependiente del pH y de las concentraciones iniciales de MCLR. Con el propósito de modelar el decaimiento de cloro con el tiempo, se evaluaron varias cinéticas, encontrándose que la cinética de pseudo-primer orden fue la más apropiada.

$$\frac{dC}{dt} = -K_o C \quad [8]$$

Integrando la ecuación 1

$$\ln \frac{C}{C_o} = -K_o t \quad [9]$$

Donde ( $K_o$ ) es la constante de decaimiento de pseudo primer orden ( $\text{min}^{-1}$ ) con respecto al cloro,  $C$  es la concentración de cloro al tiempo ( $t$ ),  $C_o$  es la concentración inicial de cloro ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) y  $t$  es el tiempo (min). Empleando el modelo de regresión lineal, el

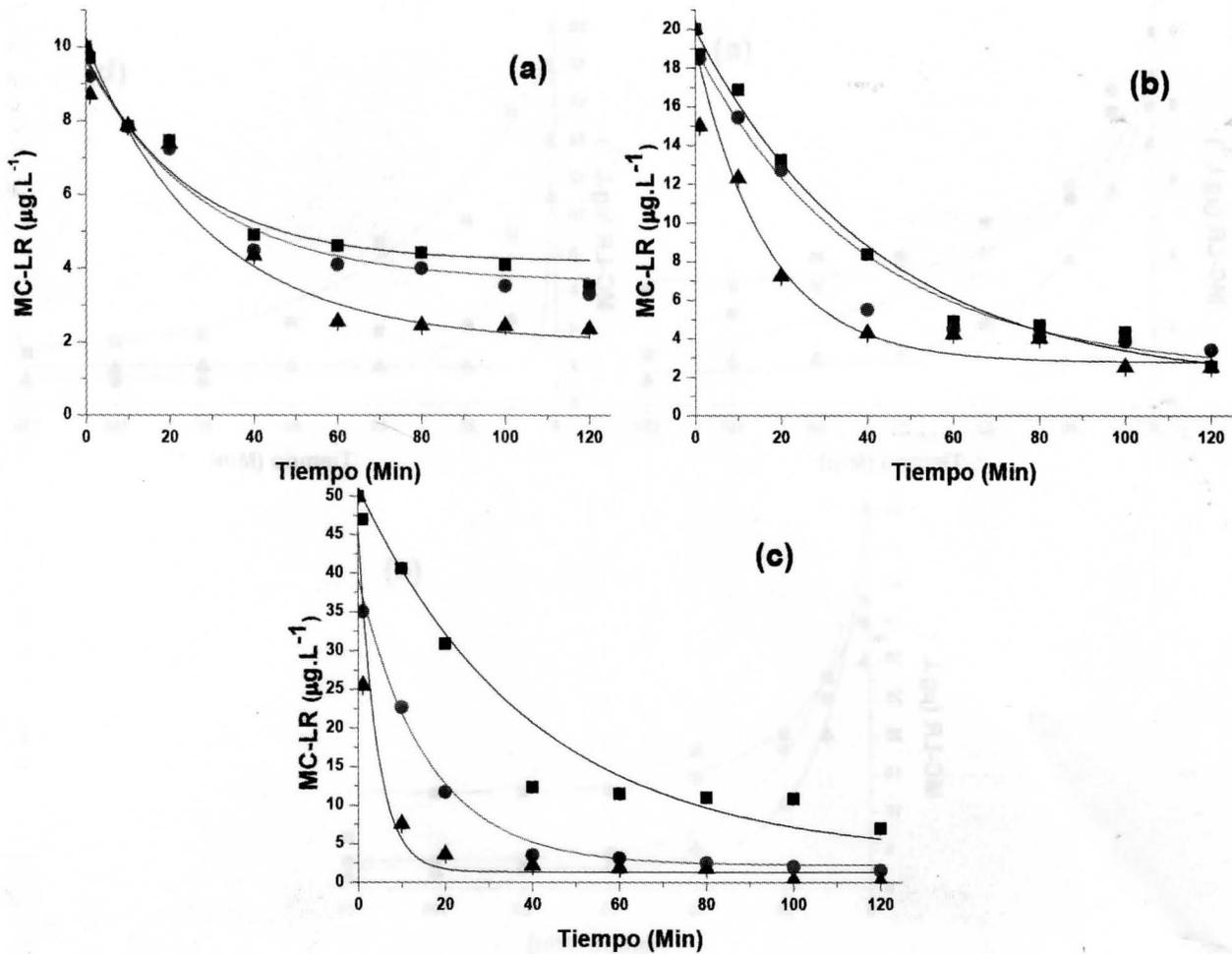
valor de ( $K_o$ ) se estimó mediante la representación de  $\ln(C/C_o)$  en función del tiempo.

Utilizando la ecuación 9, se pudo evaluar la cinética de degradación del cloro y se determinó la  $K_o$  (constante de degradación de cloro).

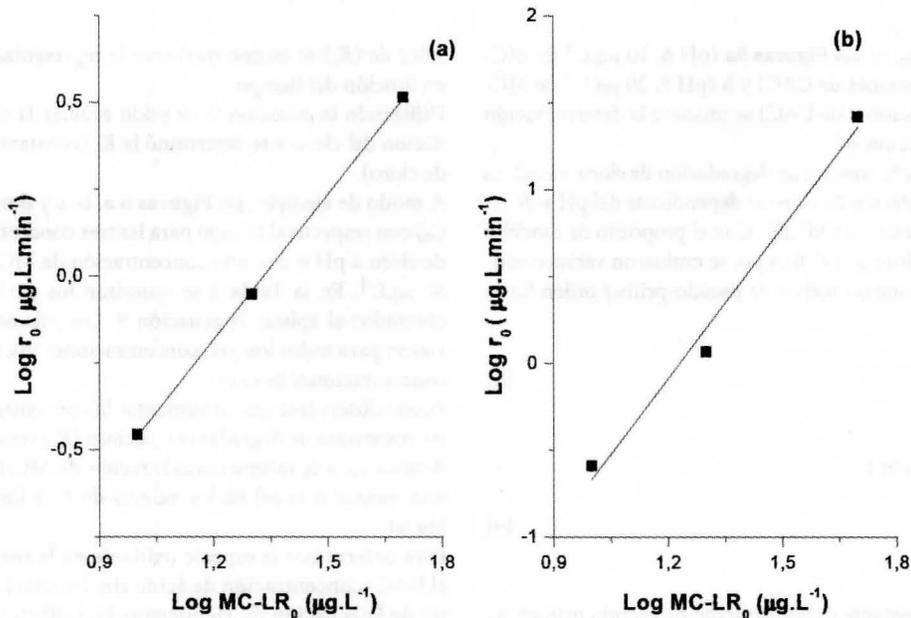
A modo de ejemplo, las **Figuras 6 a, b, c y d** muestran el  $\ln(C/C_o)$  con respecto al tiempo para las tres concentraciones iniciales de cloro a pH 6 con una concentración de MCLR de 0, 10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . En la **Tabla 2** se muestran los parámetros cinéticos obtenidos al aplicar la ecuación 9. Los mismos datos se obtuvieron para todos los pH, concentraciones iniciales de MC-LR y concentraciones de cloro.

Puede observarse que al aumentar la concentración de MC-LR, las constantes de degradación de cloro ( $K_o$ ) resultan ser mayores. Asimismo, a la misma concentración de MC-LR no se observa una variación lineal en los valores de  $K_o$  y los niveles de cloro inicial.

Para determinar la especie oxidante en la reacción, se calculó el UAC (concentración de ácido sin disociar). Para ello se partió de la ecuación de Henderson-Hasselbalch, que determina la ionización de un ácido débil con el valor de pKa, donde  $K_d$  es la constante de disociación,  $[\text{ClO}^-]$  es la concentración del anión hipoclorito,  $[\text{ClOH}]$  es la concentración del ácido sin



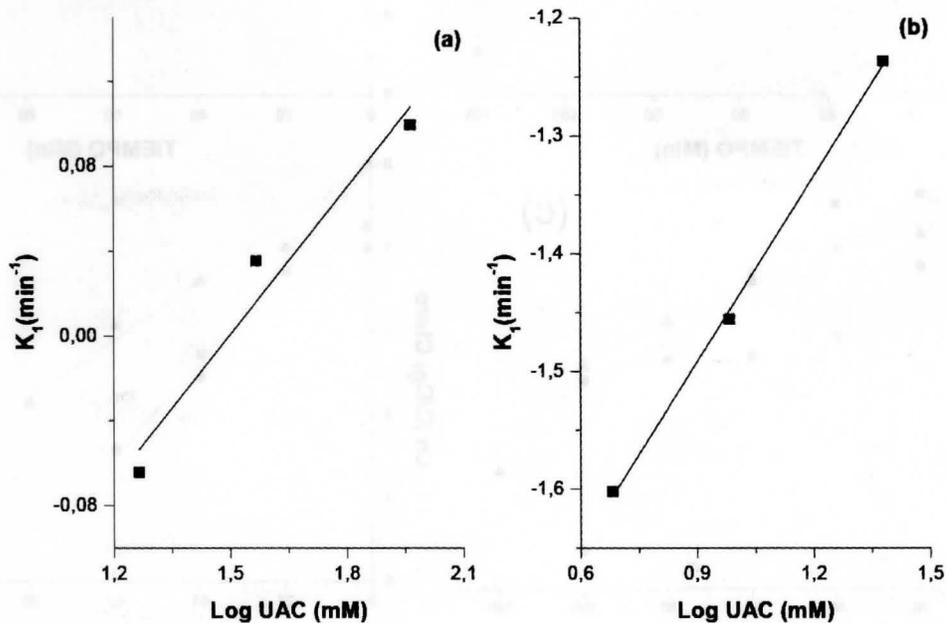
**Figura 3.** Cinética de degradación de MC-LR a) 10, b) 20 y c) 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a pH 8 para tres concentraciones de cloro (■19 mM, ●38mM, ▲95 mM)



**Figura 4. a)** Velocidad inicial de la reacción ( $\text{Log } r_0$ ) con respecto a la concentración inicial de MC-LR ( $\text{Log MC-LR}_0$ ) a una concentración de cloro de 19 mM, 3 concentraciones iniciales de MC-LR (10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) a pH 7 y **b)** Concentración inicial de cloro de 95 mM, 3 concentraciones iniciales de MC-LR (10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) a pH 8.

**Tabla 1.** Parámetros cinéticos y constantes de reacción para concentraciones de cloro inicial de (1, 2 y 5 mg. L<sup>-1</sup>) MC-LR (10, 20 y 50 µg. L<sup>-1</sup>) y pH (6,7 y 8).

MC-LR (µg.L <sup>-1</sup> )	pH	Cloro (mg.L <sup>-1</sup> )	Cloro (mM)	UAC (mM)	K <sub>1</sub> MC-LR (min <sup>-1</sup> )	r <sub>0</sub> (µg.L.min <sup>-1</sup> )	t ½ (min)	R <sup>2</sup>	C.T (mM.min <sup>-1</sup> )
10	6	1	19	18,456	0,862	8,618±0,109	1,001	0,986	19,010
10	6	2	38	36,911	1,085	10,853±0,138	0,740	0,984	28,104
10	6	5	95	92,278	1,258	12,582±0,422	0,684	0,897	65,016
20	6	1	19	18,456	0,111	2,220±0,005	7,292	0,968	138,552
20	6	2	38	36,911	0,088	1,760±0,014	7,274	0,955	276,408
20	6	5	95	92,278	0,093	1,860±0,007	6,788	0,983	644,891
50	6	1	19	18,456	0,058	2,900±0,022	14,073	0,965	267,391
50	6	2	38	36,911	0,052	2,600±0,021	11,550	0,945	438,885
50	6	5	95	92,278	0,063	3,150±0,026	9,335	0,934	886,801
10	7	1	19	14,672	0,035	0,350±0,007	17,739	0,920	337,039
10	7	2	38	29,344	0,039	0,390±0,003	17,508	0,981	665,322
10	7	5	95	73,359	0,049	0,493±0,013	13,309	0,942	1264,376
20	7	1	19	14,672	0,044	0,888±0,012	19,049	0,934	361,936
20	7	2	38	29,344	0,072	1,431±0,014	9,913	0,970	376,706
20	7	5	95	73,359	0,585	11,696±0,119	1,413	0,975	134,269
50	7	1	19	14,672	0,065	3,274±0,019	13,941	0,921	264,870
50	7	2	38	29,344	0,049	2,473±0,014	12,450	0,925	473,108
50	7	5	95	73,359	0,085	4,240±0,026	6,736	0,912	639,937
10	8	1	19	4,810	0,030	0,300±0,014	39,502	0,927	750,536
10	8	2	38	9,620	0,045	0,450±0,006	38,039	0,953	1445,482
10	8	5	95	24,051	0,026	0,257±0,007	33,747	0,958	3205,918
20	8	1	19	4,810	0,025	0,497±0,004	32,420	0,986	615,985
20	8	2	38	9,620	0,035	0,697±0,006	25,028	0,979	951,080
20	8	5	95	24,051	0,058	1,166±0,013	13,322	0,951	1265,549
50	8	1	19	4,810	0,036	1,796±0,007	24,801	0,969	471,214
50	8	2	38	9,620	0,064	3,175±0,015	9,669	0,947	367,408
50	8	5	95	24,051	0,525	26,235±0,104	1,411	0,980	134,068



**Figura 5. a)** Velocidad inicial de la reacción (Log K<sub>1</sub>) con respecto al UAC (Log UAC) a una concentración de 10 µg.L<sup>-1</sup> de MC-LR, tres concentraciones de UAC a pH 6 y **b)** Concentración inicial de 20 µg.L<sup>-1</sup> de MC-LR, tres concentraciones de UAC a pH 8

disociar, el ácido hipocloroso y  $[H^+]$  es la concentración de hidrogeniones.

$$K_d = \frac{[ClO^-] * [H^+]}{[ClOH]} \quad [10]$$

Reordenando la ecuación 10 se obtiene la ecuación 11 para el cálculo del UAC. Donde UAC es la concentración de ácido sin disociar, CA es la concentración inicial de hipoclorito de sodio en mM,  $[H^+]$  es la concentración de hidrogeniones y  $K_d$  es la constante de disociación (pKa 7,49).

$$UAC = \frac{CA * [H^+]}{[H^+] + K_d} \quad [11]$$

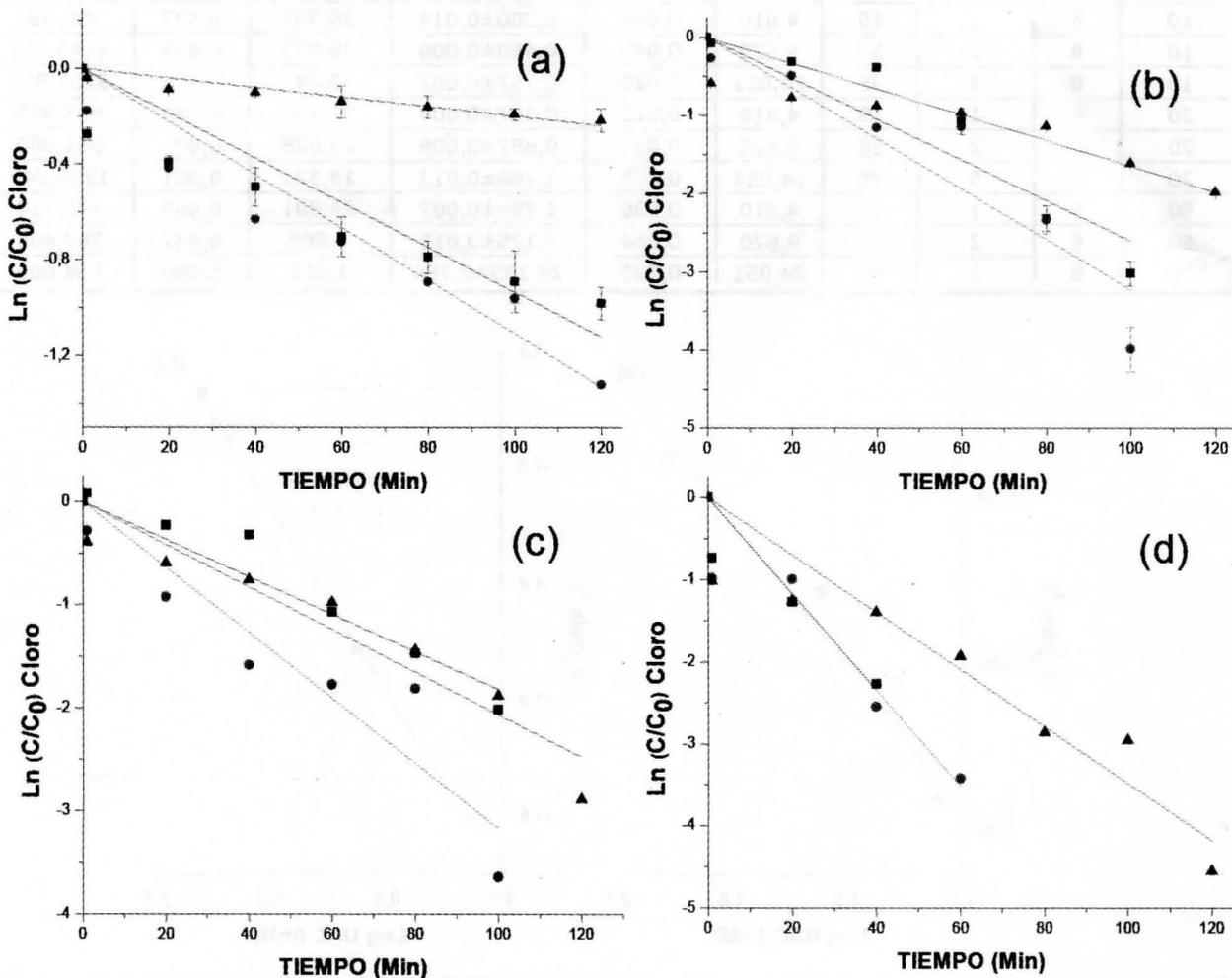
En la **Figura 7** se presenta la relación entre la concentración de ácido sin disociar (UAC) de cloro, las concentraciones iniciales MC-LR 10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Los gráficos anteriores indican que a medida que la concentración de ácido sin disociar (UAC) aumenta, los tiempos para reducir la concentración inicial de MC-LR ( $t_{1/2}$ ) a la mitad son

**Tabla 2.** Parámetros cinéticos y de regresión lineal para tres concentraciones de cloro 19, 38 y 95 mM y una concentración inicial de 0, 10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de MC-LR a pH 6

MC-LR ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	CLORO (mM)	pH	K0 ( $\text{min}^{-1}$ )	R <sup>2</sup>
0	19	6	0,009±0,001	0,941
0	38	6	0,011±0,001	0,968
0	95	6	0,001±0,001	0,960
10	19	6	0,026±0,003	0,931
10	38	6	0,032±0,003	0,934
10	95	6	0,016±0,002	0,935
20	19	6	0,018±0,001	0,963
20	38	6	0,032±0,003	0,949
20	95	6	0,021±0,001	0,965
50	19	6	0,058±0,009	0,914
50	38	6	0,059±0,006	0,942
50	95	6	0,035±0,003	0,957

menores, confirmando que el agente activo es el ácido hipocloroso.



**Figura 6.** Cinética de degradación de cloro expresado como  $\ln(C/C_0)$  con respecto al tiempo para tres concentraciones de cloro (■19 mM, ●38 mM, ▲95 mM) y diferentes concentraciones de MC-LR a) 0, b) 10, c) 20 y d) 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a pH 6

### Cinéticas de remoción de MC-LR mediante el uso de ozono

Para el caso de ozono se realizaron 18 experimentos generando 18 curvas de remoción de MC. Se evaluaron las cinéticas de degradación de diferentes niveles iniciales de MC-LR (10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) a dos pH (6 y 9) y tres concentraciones iniciales diferentes de ozono (0,5 y 3  $\text{mg.L}^{-1}$ ). El modelo exponencial decreciente ilustrado en la ecuación 1, fue la manera más apropiada para representar los resultados obtenidos para la degradación de MC-LR mediante el uso de ozono.

En las Figuras 8 y 9 a, b, y c se puede observar la cinética de degradación de MC-LR (10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) en presencia de ozono (0,5 y 3  $\text{mg.L}^{-1}$ ) a pH 6 y 9.

La Tabla 3 presenta los parámetros cinéticos obtenidos del ajuste exponencial para todos los tratamientos con ozono. Se calculó el tiempo necesario para disminuir la concentración de MC-LR a la mitad,  $K_1$  es la constante de velocidad de pseudo primer orden para la degradación de MC-LR y  $r_0$  es el parámetro que muestra la velocidad de la reacción al tiempo cero.

De igual manera que para el caso del cloro, se calculó el orden de reacción graficando el logaritmo de la constante de la reacción al tiempo cero ( $r_0$ ) con respecto al logaritmo de la concentración

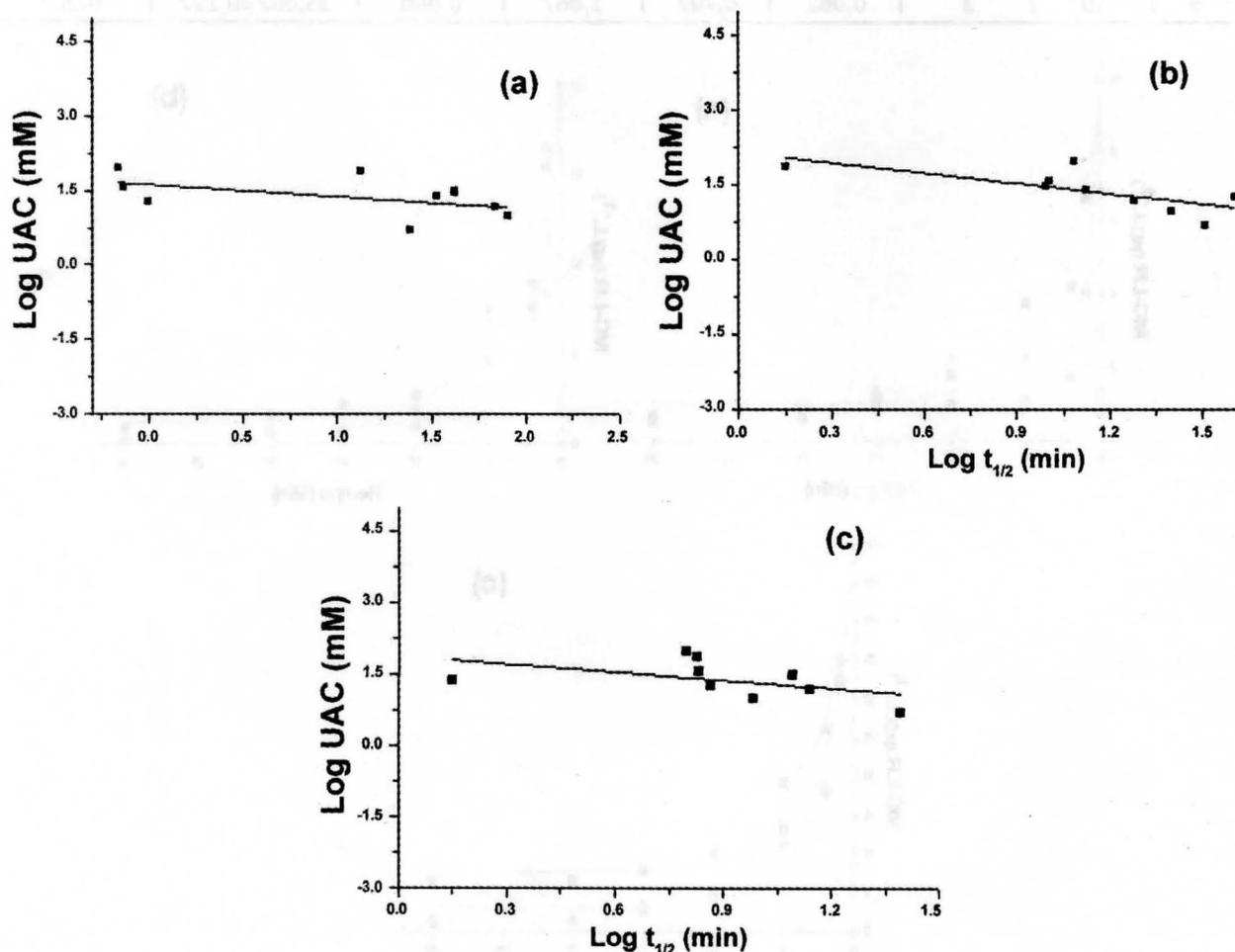
de MC-LR inicial. En todos los casos, el valor de la pendiente fue cercano a 1, indicando una reacción de primer orden con respecto a la concentración de MC-LR. A modo de ejemplo, en las Figuras 10 a (pH 9, 0,010 mM de ozono y tres concentraciones iniciales de MC-LR) y b (pH 9, 0,062 mM de ozono y tres concentraciones iniciales de MC-LR) se muestra la determinación del orden de la reacción.

En la Figura 11 se presenta la relación entre el logaritmo de la concentración de ozono (mM) y el Logaritmo del tiempo de degradación media a las concentraciones iniciales MC-LR 10, 20 y 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Puede observarse que a medida que la concentración de ozono aumenta, los tiempos para reducir a la mitad la concentración inicial de MC-LR  $t_{1/2}$  son menores (Figura 11).

A efectos de evaluar la efectividad de cada oxidante, se compararon los tiempos de degradación media ( $t_{1/2}$ ). Así, cuando la concentración de MC-LR fue de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a pH 6, los valores de ( $t_{1/2}$ ) resultaron similares, ya sea utilizando cloro y ozono.

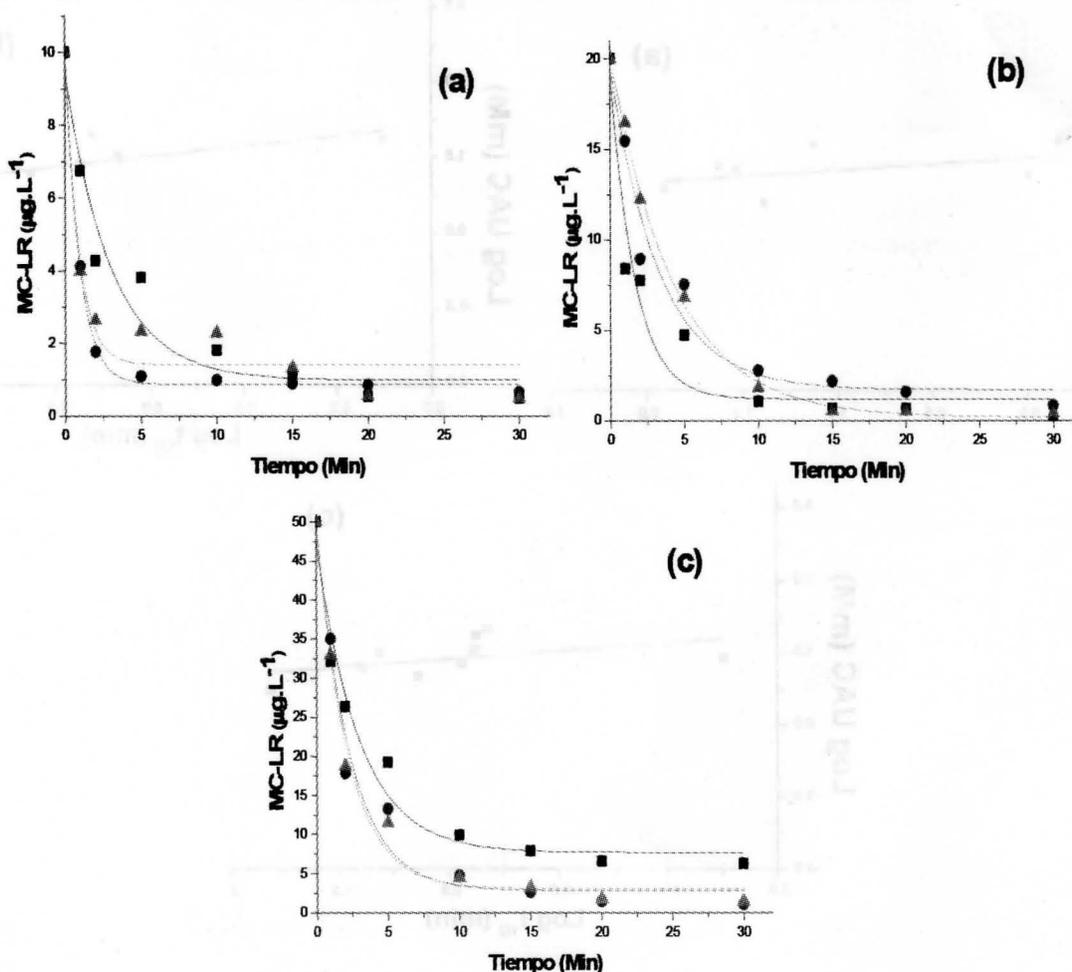
A medida que la concentración de MC-LR aumenta (50  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) los valores del tiempo de degradación aumentaron llegando a valores de 14,073 min para una concentración de y 19 mM de cloro. Si se compara esta misma concentración de MC-LR y pH



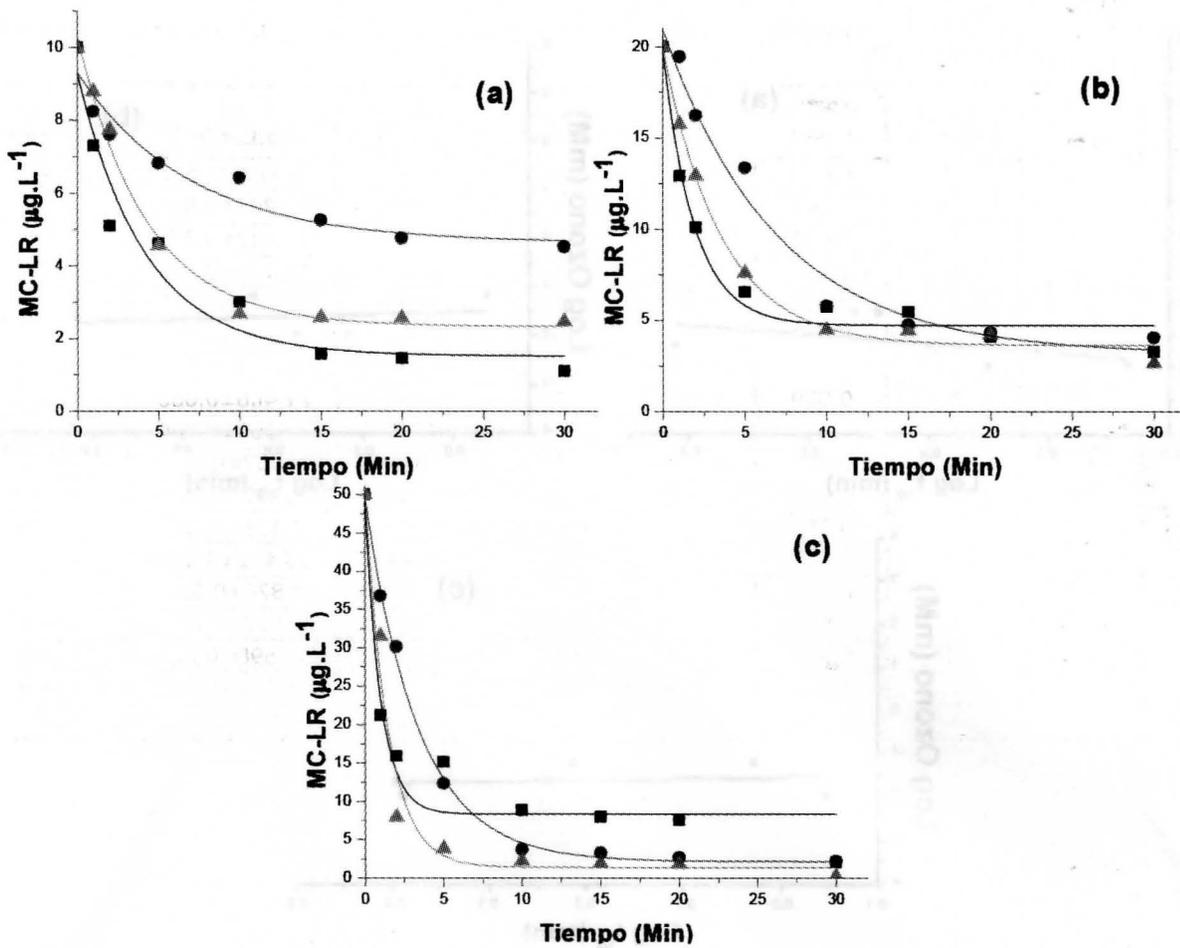
**Figura 7.** Relación de concentración de ácido hipocloroso sin disociar (UAC (mM)) vs tiempo necesario para reducir a la mitad la concentración de MC-LR a) 10, b) 20 y c) 50  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a tres niveles de cloro inicial (19, 38 y 95 mM de cloro) y tres pH (6,7 y 8)

**Tabla 3.** Parámetros cinéticos y constantes de reacción para concentraciones de ozono (0,5, 1 y 3 mg.L<sup>-1</sup>), MC-LR (10, 20 y 50 µg.L<sup>-1</sup>) y pH (6 y 9).

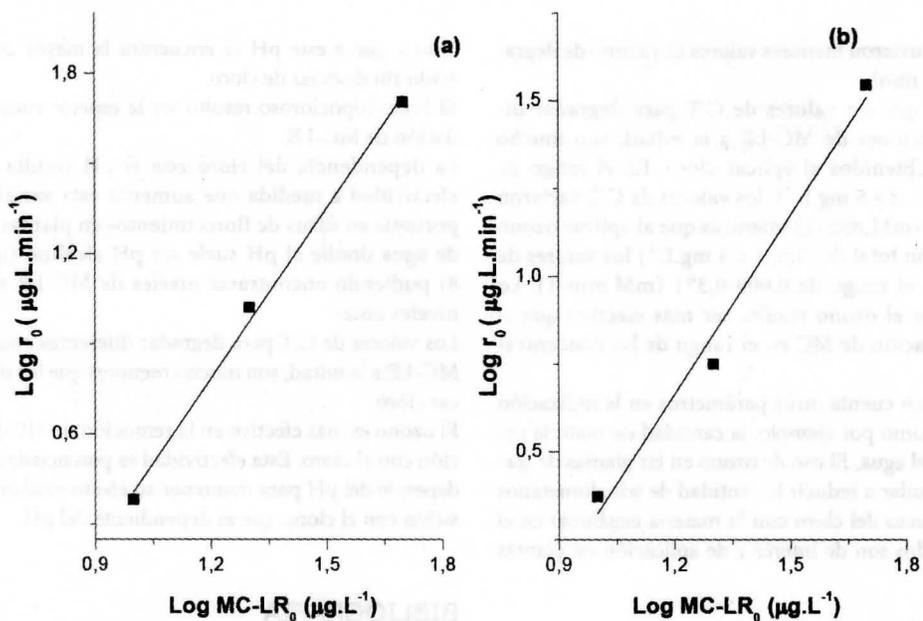
pH	MC-LR (µg.L <sup>-1</sup> )	Ozono (mg.L <sup>-1</sup> )	Ozono (mM)	K1 (min <sup>-1</sup> )	t 1/2 (min)	R2 MC-LR	r0 µg.L.min <sup>-1</sup>	C.T (mM.min <sup>-1</sup> )
6	10	0,5	0,010	0,332	2,259	0,934	3,317±0,090	0,024
6	10	1	0,020	1,070	2,352	0,997	10,703±0,051	0,049
6	10	3	0,062	1,106	0,788	0,930	11,063±0,279	0,049
6	20	0,5	0,010	0,607	1,171	0,922	12,131±0,159	0,012
6	20	1	0,020	0,304	2,524	0,955	6,080±0,069	0,053
6	20	3	0,062	0,232	3,06	0,997	4,645±0,013	0,191
6	50	0,5	0,010	0,338	2,456	0,962	16,887±0,068	0,026
6	50	1	0,020	0,428	1,744	0,965	21,406±0,080	0,036
6	50	3	0,062	0,459	1,636	0,982	22,963±0,060	0,102
9	10	0,5	0,010	0,241	3,341	0,929	2,407±0,073	0,035
9	10	1	0,020	0,143	17,828	0,916	1,431±0,052	0,371
9	10	3	0,062	0,236	4,637	0,989	2,355±0,028	0,290
9	20	0,5	0,010	0,524	1,994	0,968	10,471±0,089	0,021
9	20	1	0,020	0,144	6,671	0,970	2,874±0,031	0,139
9	20	3	0,062	0,281	3,345	0,992	5,618±0,027	0,209
9	50	0,5	0,010	1,012	0,896	0,917	50,598±0,273	0,009
9	50	1	0,020	0,298	2,481	0,997	14,914±0,017	0,052
9	50	3	0,062	0,702	1,067	0,960	35,082±0,127	0,067



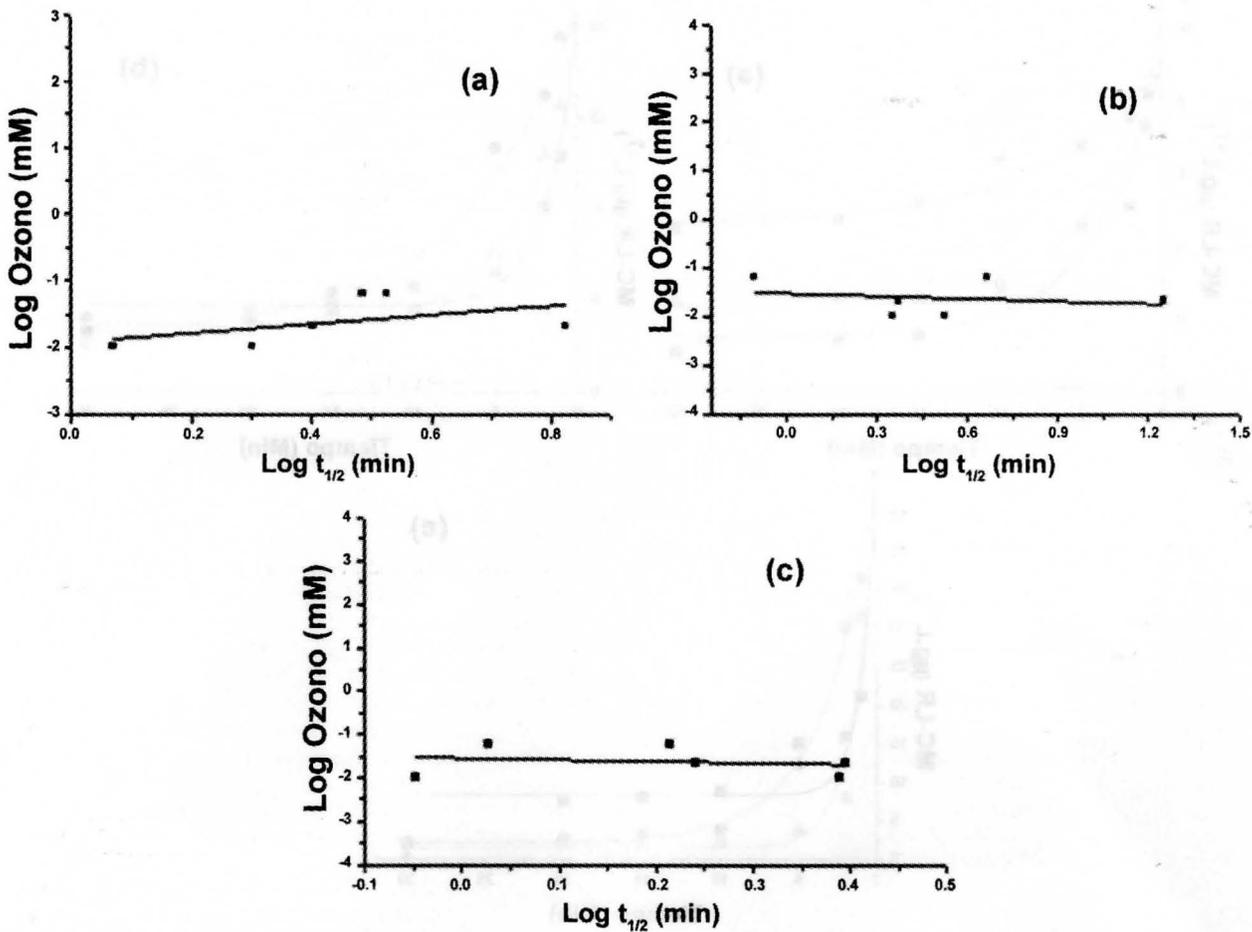
**Figura 8.** Cinética de degradación de MC-LR a) 10, b) 20 y c) 50 µg.L<sup>-1</sup> a pH 6 para tres concentraciones de ozono (■ 0,5 mg.L<sup>-1</sup>, ● 1 mg.L<sup>-1</sup>, ▲ 3 mg.L<sup>-1</sup>)



**Figura 9.** Cinética de degradación de MC-LR a) 10, b) 20 y c) 50 µg.L<sup>-1</sup> a pH 9 para tres concentraciones de ozono (■ 0,5 mg.L<sup>-1</sup>, ● 1 mg.L<sup>-1</sup>, ▲ 3 mg.L<sup>-1</sup>)



**Figura 10. a)** Velocidad inicial de la reacción (Log r<sub>0</sub>) con respecto a (Log MC-LR<sub>0</sub>) a una concentración de ozono de 0,010 mM, 3 concentraciones iniciales de MC-LR (10, 20 y 50 µg.L<sup>-1</sup>) a pH 9 y **b)** Concentración inicial de ozono 0,062 mM, y 3 concentraciones iniciales de MC-LR (10, 20 y 50 µg.L<sup>-1</sup>) a pH 9



**Figura 11.** Relación de la concentración de ozono con respecto al tiempo necesario para reducir a la mitad la concentración de MC-LR **a)** 10, **b)** 20 y **c)** 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  a tres concentraciones de ozono inicial (0,5, 1 y 3  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ozono) y dos pH (6 y 9)

con el ozono, se obtuvieron menores valores de tiempo de degradación media (2,45 min).

Puede observarse que los valores de C.T para degradar diferentes concentraciones de MC-LR a la mitad, son mucho menores que los obtenidos al aplicar cloro. En el rango de cloro total usado (1, 2 y 5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), los valores de C.T variaron entre 19,01 y 3201 ( $\text{mM}\cdot\text{min}^{-1}$ ) mientras que al aplicar ozono a una concentración total de (0,5, 1 y 3  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) los valores de C.T estuvieron en el rango de 0,009-0,371 ( $\text{mM}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Lo anterior indica que el ozono resulta ser más efectivo que el cloro en la degradación de MC en el rango de las concentraciones ensayadas.

Es necesario tener en cuenta otros parámetros en la utilización de cloro y ozono, como por ejemplo, la cantidad de materia orgánica presente en el agua. El uso de ozono en las plantas de tratamiento, puede ayudar a reducir la cantidad de trihalometanos (producto del contacto del cloro con la materia orgánica) en el agua. Estos resultados son de interés y de aplicación en plantas potabilizadoras.

## CONCLUSIONES

Para los tratamientos con cloro, los menores valores de tiempo de degradación media de MC-LR ( $t_{1/2}$ ) se encuentran a pH 6 de-

bido a que a este pH se encuentra la mayor concentración de ácido sin disociar de cloro.

El ácido hipocloroso resultó ser la especie encargada de la oxidación de MC-LR.

La dependencia del cloro con el pH resulta en una menor efectividad a medida que aumenta esta variable. Ello es importante en casos de florecimientos en plantas de tratamiento de agua donde el pH suele ser pH alcalino (igual o mayor a 8) pudiendo encontrarse niveles de MC-LR superiores a los niveles guías.

Los valores de C.T para degradar diferentes concentraciones de MC-LR a la mitad, son mucho menores que los obtenidos al aplicar cloro.

El ozono es más efectivo en la remoción de MC-LR en comparación con el cloro. Esta efectividad es potenciada gracias a que no depende del pH para mantener su efecto oxidante, en contraposición con el cloro, que es dependiente del pH.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Acero J., Rodríguez E., Meriluoto E. (2008). Kinetics of reactions between chlorine and the cyanobacterial toxins microcystins. *Water Research* 39, 1628-1638.
- [2] Amé M.V., Díaz M.P., Wunderlin D.A. (2003). Occurrence of toxic cyanobac-

- terial blooms in San Roque Dam (Córdoba, Argentina): a field and chemometric study. *Environ. Toxicol.* 18(3): 192-201.
- [3] Andrinolo D., Sedan D., Telese L., Aura C., Masera S., Giannuzzi L., Marra C.A., De Alaniz M. (2008). Hepatic recovery after damage produced by sub-chronic intoxication with the cyanotoxin microcystin LR. *Toxicon* 51: 457-467
- [5] APHA (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. APHA, AWWA & WPCF, Washington.
- [6] AWWA (American Water Works Association) (2002). Calidad y tratamiento del agua. Manual de suministros de agua comunitaria. McGraw-Hill, Madrid.
- [7] Barrington D.J., Ghadouani A., Ivey G.N. (2011). Environmental factors and the application of hydrogen peroxide for the removal of toxic cyanobacteria from waste stabilization ponds. *J. Environ. Eng.* 137, 952.
- [9] Barrington D.J., Ghadouani A. (2008). Application of hydrogen peroxide for the removal of toxic cyanobacteria and other phytoplankton from wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 42, 8916.
- [10] Bouaicha N., Maatouk I., Vincent G., Levi Y. (2002). A colorimetric and fluorometric microplate assay for the detection of microcystin-LR in drinking water without preconcentration. *Food and Chemical Toxicology* 40: 1677-1683
- [11] Cheng X, Shi H, Adams CD, Timmons T, Ma Y (2009). *Water Sci Technol* 60:689-698
- [12] Codd G.A. (1984). Toxins of freshwater cyanobacteria. *Microbiol Sci.* 1, 48-52.
- [13] Cornish B., Lawton L.A., Robertson P.K.J. (2000). Hydrogen peroxide enhanced photocatalytic oxidation of microcystin-LR using titanium dioxide. *Appl. Catal. B* 25, 59.
- [14] Drabkova M., Admiraal W., Marsálek B. (2007a). Combined exposure to hydrogen peroxide and light-Selective effects on cyanobacteria, green algae, and diatoms. *Environ. Sci. Technol.* 41, 309.
- [15] Falconer I., Bartram J., Chorus I., Kuiper-goodman T., Utliken H., Burch M., Codd G.A. (1999). Safe levels and safe practices. En: Chorus I, Bartram J. *Toxic Cyanobacteria in Water* New York, pp. 155-178.
- [16] Falconer I. R. (1999). An overview of problems caused by toxic blue-green algae (cyanobacteria) in drinking and recreational water. *Environmental Toxicology*, vol. 14, pp.5-12, 1999
- [17] Francis, G. (1878). Poisonous australian lake. *Nature* 18,11-12.
- [18] Fujiki H., Sueoka E., Sugauma (1996). Carcinogenesis of Microcystins. En: Watanabe M.F., Harada K., Carmichael W.W., Fujiki H. *Toxic Microcystins*. CRC Press, Boca Raton, pp. 203-232.
- [19] 232.
- [20] Giannuzzi L., Carvajal G., Corradini M., Araujo Andrade C., Echenique R., Andrinolo D. (2012). Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in Río de la Plata estuary, Argentina-Field study and data análisis. *Journal of Toxicology*, Article ID 373618, 15 pages, doi:10.1155/2012/37361.
- [21] Ho Lionel., Onstad G., Von Gunten Urs., Rinck-Pfeiffer S., Craig K., Newcombe G. (2006). Differences in the chlorine reactivity of four microcystin analogues. *Water Research*.
- [22] Jochimsen E.M., Carmichael W.W., Ann J., Cardo D.M., Cookson S.T., Holmes C.E.M., Antunes B.C., Melo Filho D.A., Lyra T.M., Barreto V.S.T., Azevedo S.M.F.O., Jarvis W.R. (1998). Liver failure and death after exposure to microcystin at a hemodialysis center in Brazil. *New England J Medicine* 338: 873-878.
- [23] Matthijs H.C.P., Visser P.M., Reeze B., Meeuse J., Slot P.C., Wijn, G., Talens, R., Huisman, J. (2011). Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. *Water Res.*
- [24] Moreno I., Repetto G. y Cameán A. (2003). Interés toxicológico de las microcistinas. Área de Toxicología. Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, España. *Rev. Toxicol.* 20: 159-165.
- [25] Newcombe G. and Cook D. (2002). Removal of microcystin variants with powdered activated carbon. *Water Science and Technology: Water Supply* 2, 201-207.
- [26] Nicholson B.C., Rositano J. and Burch M.D. (1994). Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramine. *Wat. Res.* 28, 1297-1303.
- [27] Oliver RL, y Ganf GG. (2000). Freshwater blooms. The ecology of Cyanobacteria: their diversity in time and space (ed.: Whittton B.A. and Potts M). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht pp. 149-194.
- [28] Onstad G.D., Strauch S., Meriluoto J.A.O., Codd G.A., von Gunten U. (2007). Selective oxidation of key functional groups in cyanotoxins during drinking water ozonation. *Environ. Sci. Technol.*, in press.
- [29] Oteiza J.M., Ouahid Y., Baron A., Andrinolo D., Echenique R., Giannuzzi L., Caneo M., Fernández del Campo F. (2007). Utilización de marcadores moleculares para la detección de Microcystis potencialmente tóxicas en cuerpos de agua de la provincia de Buenos Aires. Primer reporte. *Ciencia Forense Latinoamericana*. 1 (1), 24-31.
- [30] Ringuet R., Oliver S., Guarrera S., Aramburu R. (1955). Observaciones sobre el antoplankton y mortandad de peces en Laguna Del Monte. Universidad Nacional de Eva Perón, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Notas del Museo tomo XVIII Zoología Nº 159.
- [31] Rositano, J., Nicholson, B.C., Pieronne, P. (1998). Destruction of cyanobacterial toxins by ozone. *Ozone Sci. Eng.* 20, 223.
- [32] Sedan D., Andrinolo D., Telese L., Giannuzzi L., De Alaniz M., Marra C.A. (2010). Alteration and recovery of the antioxidant system induced by sub-chronic exposure to microcystin-LR in mice: Its relation to liver lipid composition. *Toxicon* 55: 333-342.
- [33] Tang E. P. Y., Tremblay R., and Vincent W. F. (1997). Cyanobacterial dominance of polar fresh water ecosystems: are high-latitude mat-formers adapted to low temperature. *J. Phycol.* 33:171-81.
- [34] Tsuji K., Watanuki T., Kondo F., Ishikawa N., Watanabe M. F., Suzuki S., Nakazawa H., Suzuki M., Uchida H., and Harada K. (1995). Stability of microcystins from cyanobacteria-II. Effect of UV light on decomposition and isomerization. *Toxicon* 33, 1619-1631.
- [35] USEPA (2001). Creating a cyanotoxin target list for the unregulated contaminant monitoring rule. United States Environmental Protection Agency Meeting, Cincinnati, USA.
- [36] Von Gunten U. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Res.* 37, 1443-1467.
- [37] Xagorarakis I., Harrington G., Zulliger K. Zeier B. and Krick B. (2006). Inactivation kinetics of the cyanobacterial toxin microcystin-Lr by free chlorine. *Journal of Environmental Engineering*, 828-823.

### Sobre los autores:

**Aranda O., Crettaz-Minaglia M.C., Juárez I., Sedan D., Rosso L., Ventosi, E., Andrinolo D., Giannuzzi L., se desempeñan en la Cátedra de Toxicología de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.**

**Pueden ser contactados en la dirección electrónica: <leda@biol.unlp.edu.ar>.**

SEGUINOS EN:



[https://twitter.com/AIDIS\\_ARGENTINA](https://twitter.com/AIDIS_ARGENTINA)

