



EFFECTO DE AGENTES OXIDANTES SOBRE LA VIABILIDAD DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* Y LA REMOCIÓN DE MICROCISTINA

Juárez, I., Aranda J. O., Goñi S., Crettaz-Minaglia M., Sedan D., Andrinolo D., Lombardo T., Blanco G. y Giannuzzi L.

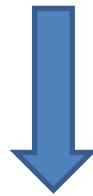
Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Calle 47 y 115, (1900), La Plata, leda@biol.unlp.edu.ar

Florecimientos Cianobacterianos problemas sanitarios,
economicos, ecologicos

Liberacion de toxinas en aguas

Métodos de prevenir reducir nutrientes.

Métodos químicos (SO_4Cu), oxidantes (cloro, MnO_4K), floculantes
(FeCl_3 , AlCl_3 , PCA) eficientes remover células.



Problemas ambientales

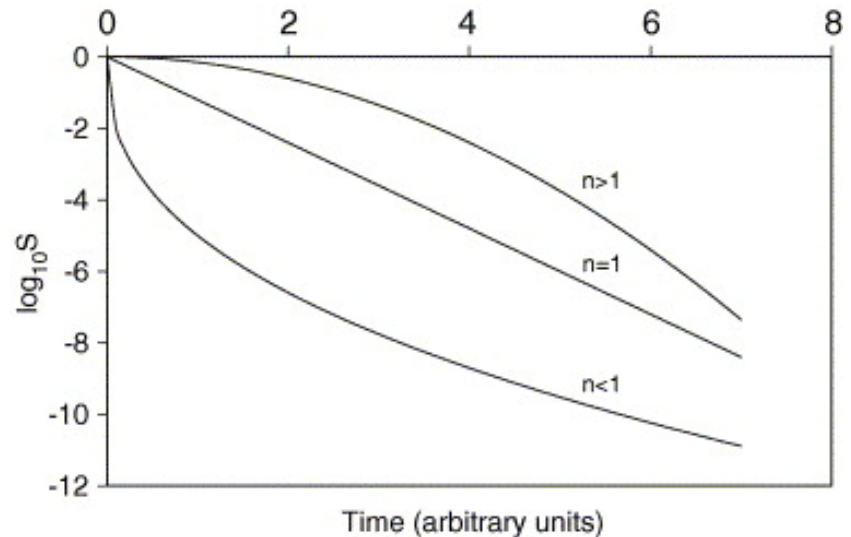
Oxidantes

- H_2O_2 tiene potencial para eliminar *Microcystis* sp y MCs en diferentes ambientes.
- H_2O_2 es una fuente de radicales hidroxilo diez veces más tóxica para las cianobacterias que para las algas verdes y las diatomeas.
- Acido peracético y percitríco (PAA y PCA) oxidantes alternativos debido al hecho que no forma subproductos de desinfección. $\text{PAA} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HAc}$

Distribución de Weibull

- Es un modelo flexible y conveniente para describir curvas de supervivencia microbiana cuando la cinética no es lineal

$$\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -B \times t^n$$



Objetivo

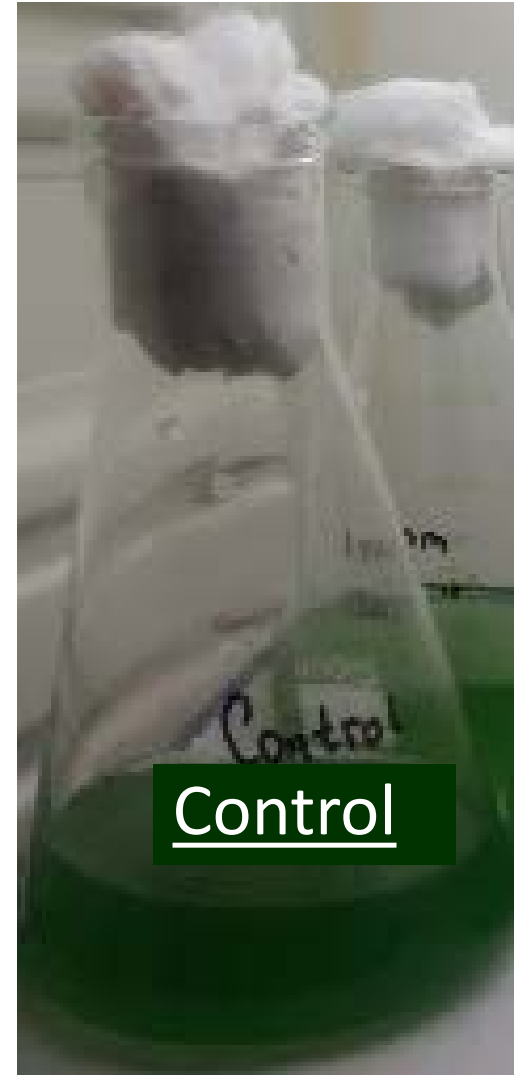
Evaluar la efectividad del tratamiento con oxidantes (H_2O_2 , PAA y PCA) en cultivo de *M. aeruginosa* y compararlo con el cloro mediante el modelado matemático de la cinética de decaimiento de Chl-a y la eliminación de células.

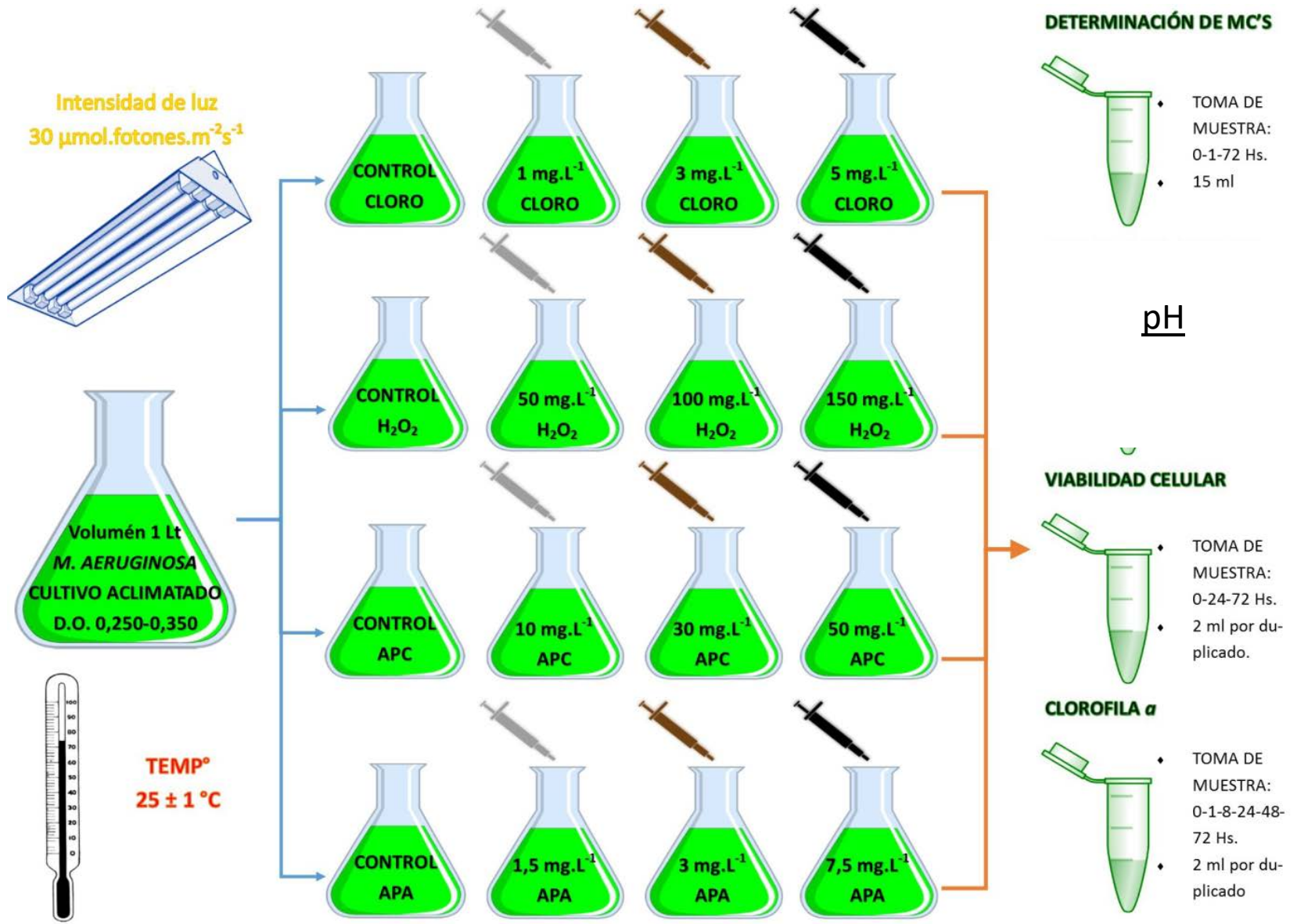
- **Cepa utilizada**

M. aeruginosa nativa productora de [D-Leu¹] MC-LR.

T: 26°C, N/P: 10, Luz: 30 foton $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{seg}^{-1}$, ciclo luz: oscuridad 10:14 hs.

inoculo inicial: 10^5 cél.mL⁻¹.





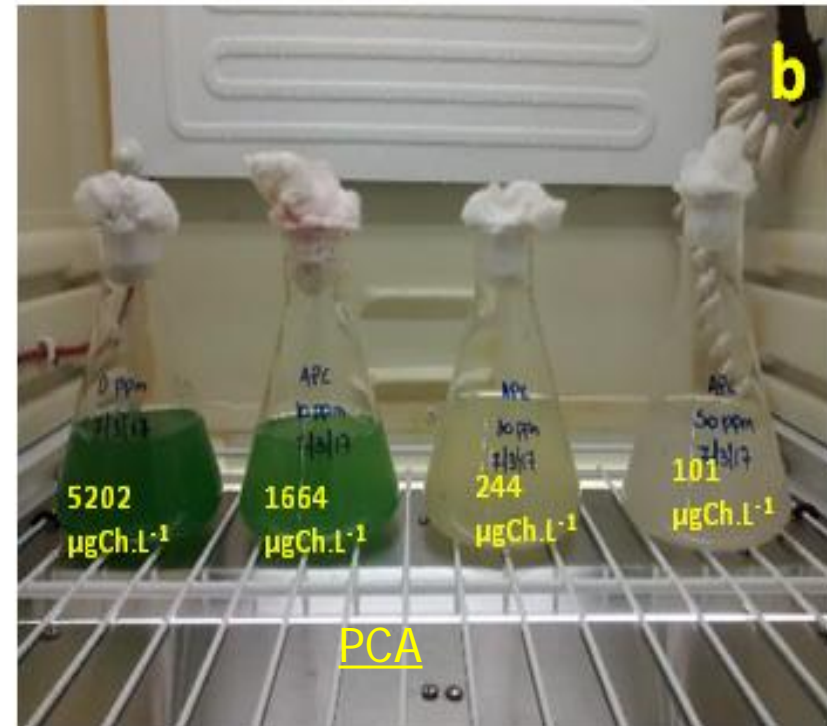
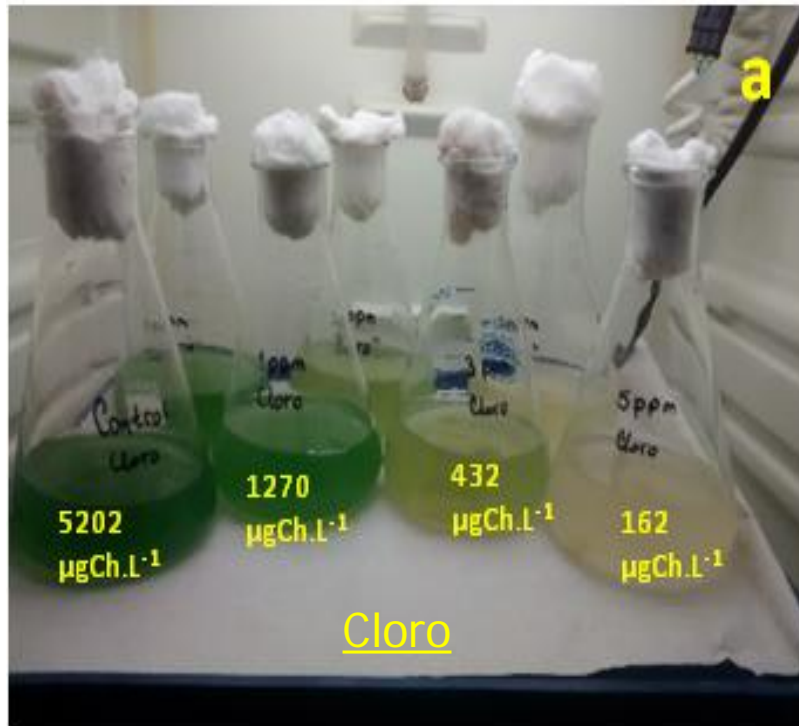
APC Acido percitrico, APA acido peracetico

Determinación de MC-LR

- LCMS-2020 Shimadzu determina el componente principal de las toxinas MC-LR [D-Leu1] (m / z 520) utilizando la columna C18.

RESULTADOS

- Cinética de degradación de Chl-a en cultivos de *M. aeruginosa* bajo diferentes tratamientos



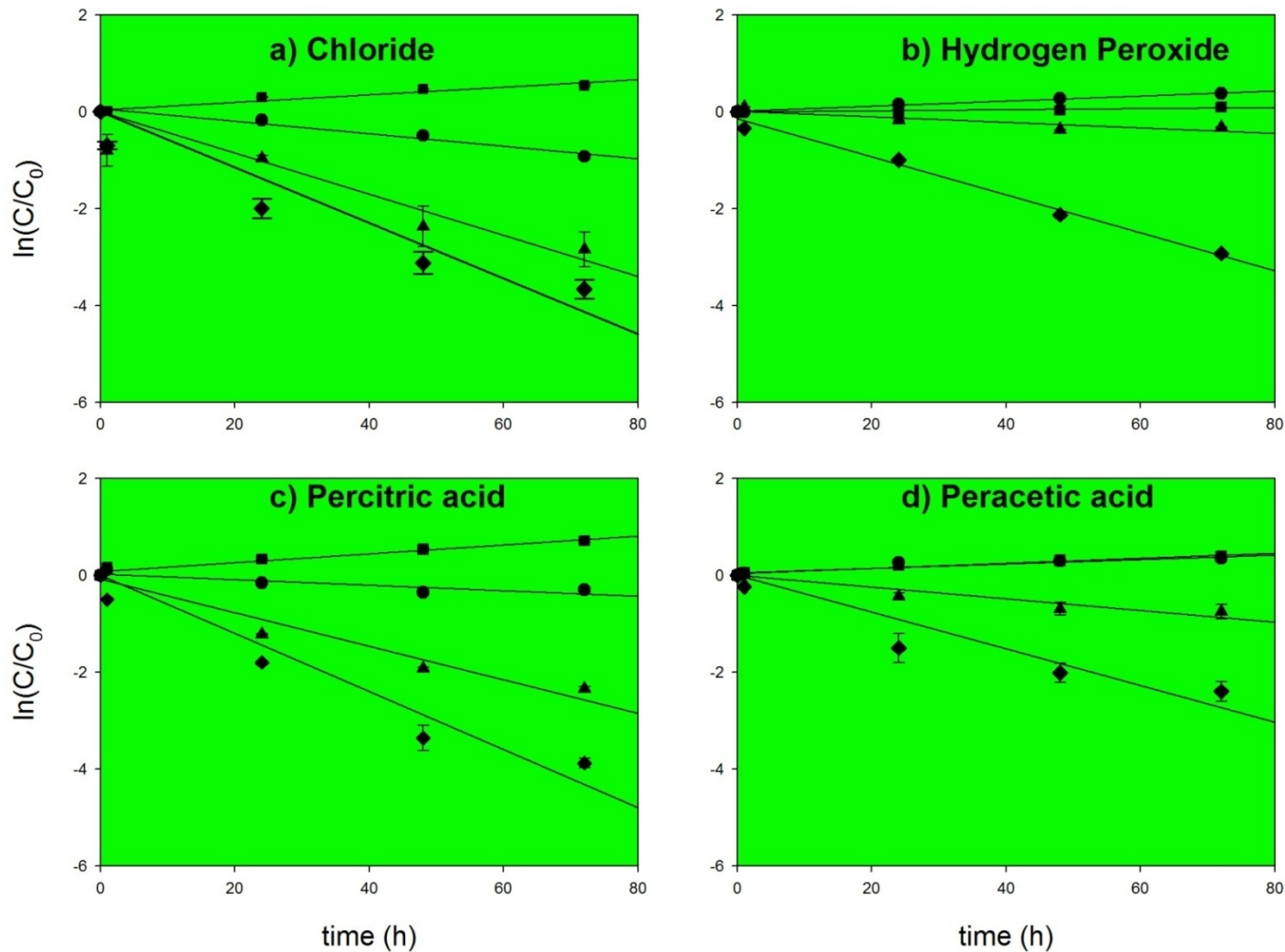
$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = k_0 \times t$$

pH = 8-9

$$t_m = \frac{\ln(0.5)}{k_0}$$

Valores residuales Cloro, H₂O₂, PAA y PCA <0.1 mg.L⁻¹

Cinética de degradación de Chl-a en cultivos de *M. aeruginosa* bajo diferentes tratamientos



Cloro: ■ 0 mgL⁻¹, ● 1 mgL⁻¹, ▲ 3 mgL⁻¹, ◆ 5 mgL⁻¹
 H₂O₂: ■ 0 mgL⁻¹, ● 50mgL⁻¹, ▲ 100mgL⁻¹, ◆ 150mgL⁻¹

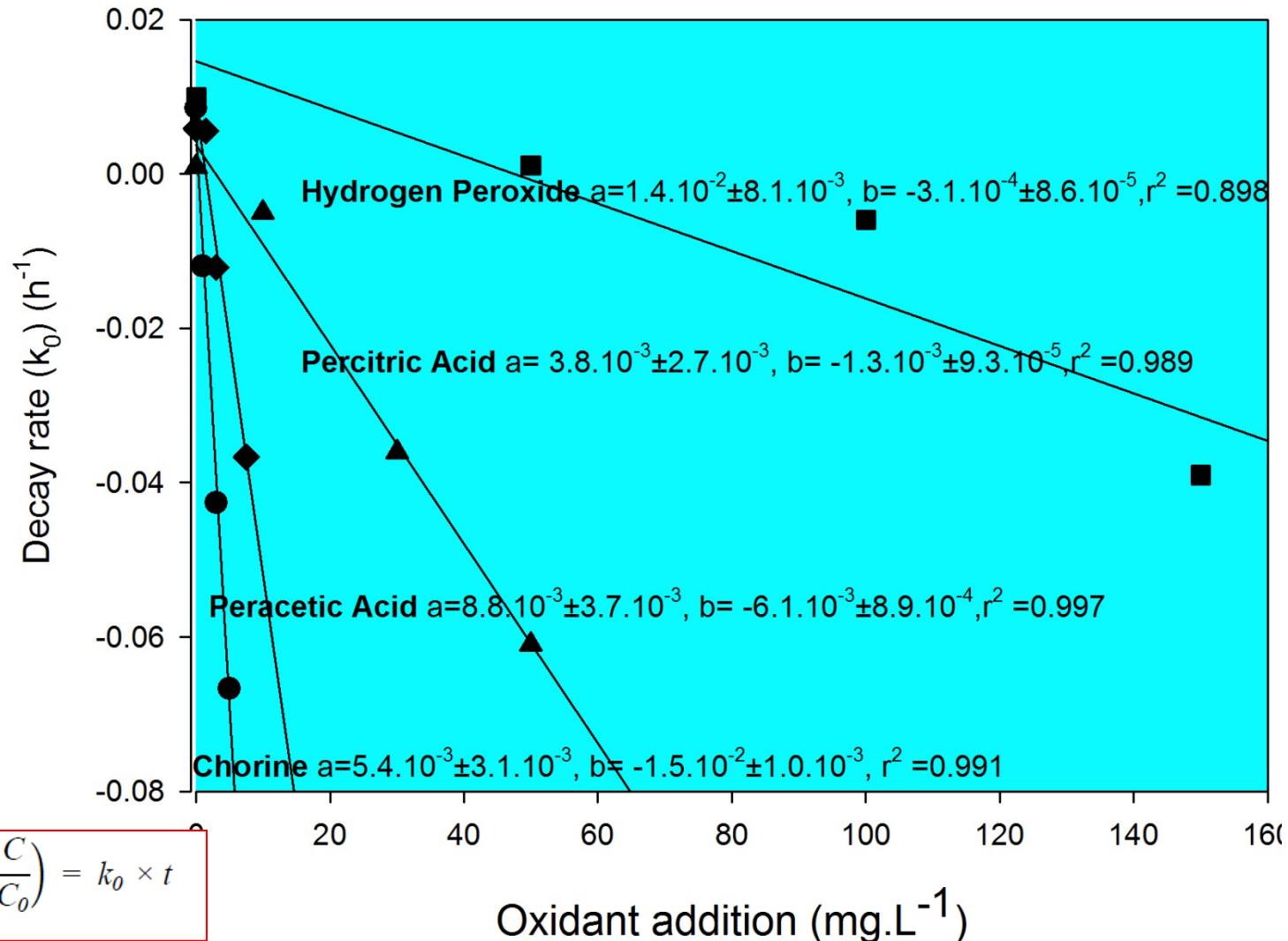
PCA: ■ 0 mgL⁻¹, ● 10 mgL⁻¹, ▲ 30 mgL⁻¹, ◆ 50 mgL⁻¹
 PAA: ■ 0 mgL⁻¹, ● 1.5 mgL⁻¹, ▲ 3 mgL⁻¹, ◆ 7.5 mgL⁻¹

Parámetros obtenidos de la degradación de Chl-a mediante cinética de primer orden

Tratamiento	Dosis (mgL ⁻¹)	k ₀ o GR (h) ⁻¹	R ²	t _m (h)	(EC ₅₀) _{chl-a} (mgL ⁻¹)
Cloro	0	8.56 10 ⁻³ ±4.7 10 ⁻⁴ ^{a,b}	0.97	---	0.70
	1	-1.19 10 ⁻² ±2.5 10 ⁻³ ^b	0.75	58.24±8.9	
	3	-4.26 10 ⁻² ±5.1 10 ⁻³ ^c	0.84	16.27±4.8	
	5	-6.67 10 ⁻² ±8.6 10 ⁻³ ^c	0.85	10.39±2.6	
H ₂ O ₂	0	1.01 10 ⁻² ±1.0 10 ⁻³ ^d	0.96	----	102.00
	50	1.13 10 ⁻³ ±3.2 10 ⁻⁴ ^e	0.99	----	
	100	-5.90 10 ⁻³ ±1.6 10 ⁻³ ^e	0.99	117±10.5	
	150	-3.90 10 ⁻² ±2.4 10 ⁻³ ^f	0.98	17.03±1.38	
PCA	0	9.03 10 ⁻³ ±1.0 10 ⁻³ ^g	0.82	----	17.56
	10	-5.78 10 ⁻³ ±1.5 10 ⁻³ ^h	0.87	123.77±20.9	
	30	-3.46 10 ⁻² ±4.4 10 ⁻³ ^h	0.97	19.09±1.21	
	50	-5.37 10 ⁻² ±1.3 10 ⁻³ ⁱ	0.94	11.25±1.26	
PAA	0	5.22 10 ⁻³ ±6.6 10 ⁻⁴ ^j	0.96	----	4.02
	1,5	4.61 10 ⁻³ ±1.1 10 ⁻⁴ ^j	0.89	----	
	3	-1.12 10 ⁻² ±1.4 10 ⁻³ ^k	0.95	56.82±6.5	
	7,5	-3.30 10 ⁻² ±5.5 10 ⁻³ ^l	0.81	19.04±4.4	

• (EC₅₀)_{Chl-a} se obtiene por interpolación lineal y corresponde a la concentración de oxidante (mg.L⁻¹) que degrada el 50% la (Chl-a) inicial; evaluado a las 72 hs

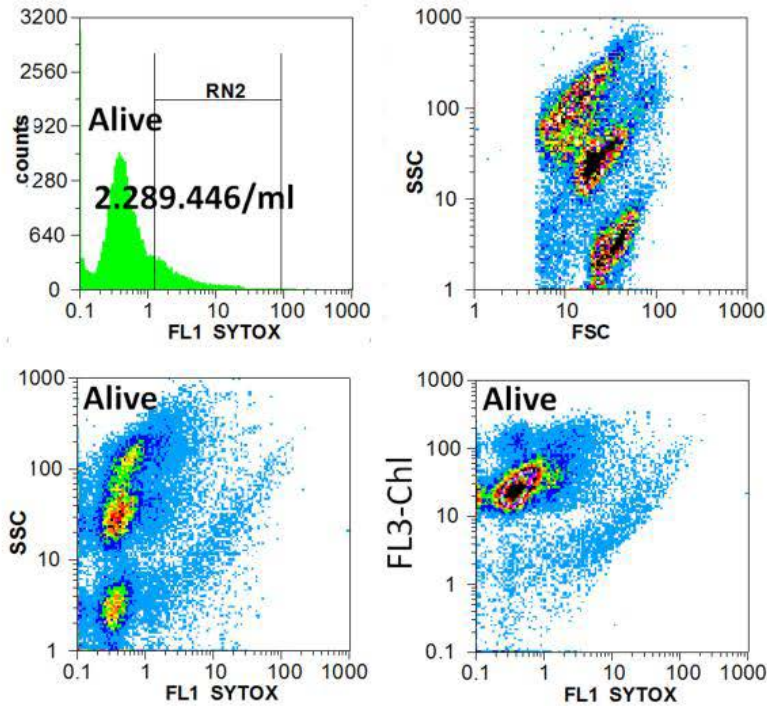
Vinculación entre concentración de oxidante y k_0



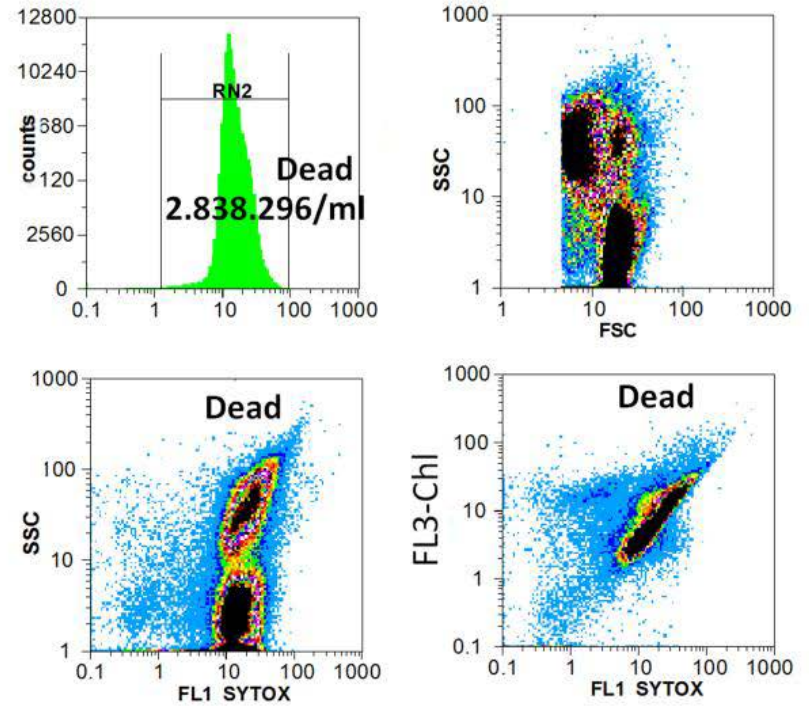
$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = k_0 \times t$$

Efecto de oxidantes sobre la viabilidad de *M. aeruginosa*

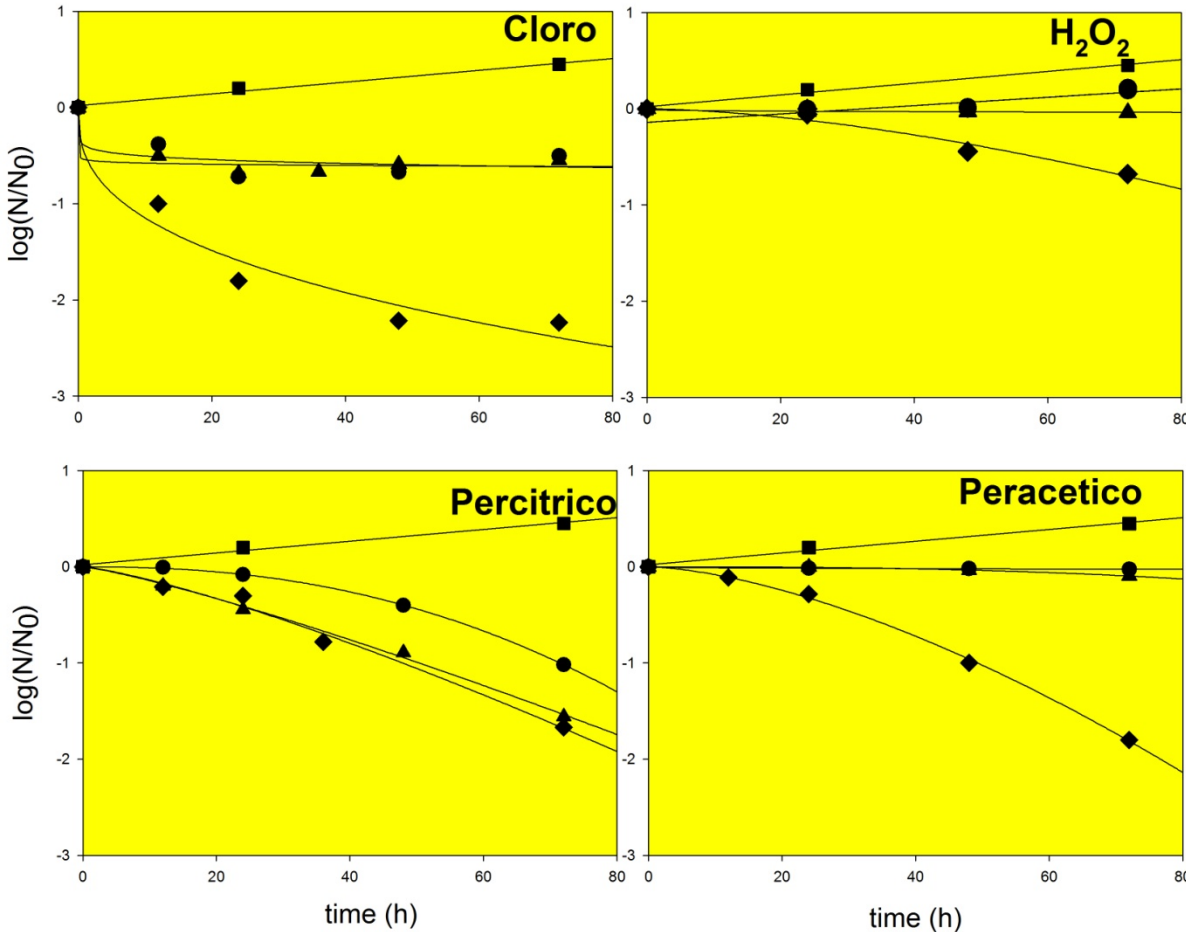
a



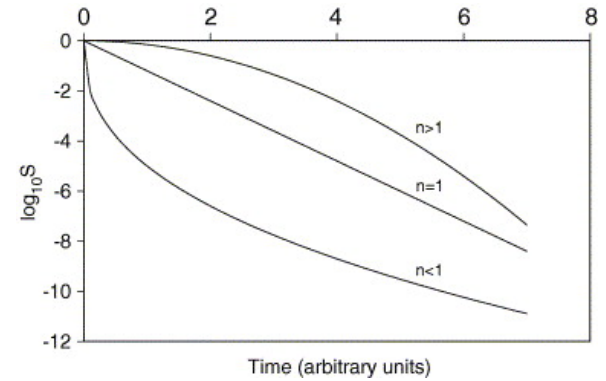
b



Modelado del decaimiento *M. aeruginosa*



$$\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -B \times t^n$$



n>1 concavidad ascendente
n<1 concavidad descendiente

$$T_r = \left(\frac{\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right)}{-B} \right)^{1/n}$$

- Cloro: ■ 0 mgL⁻¹, ● 1 mgL⁻¹, ▲ 3 mgL⁻¹, ◆ 5 mgL⁻¹
H₂O₂: ■ 0 mgL⁻¹, ● 50mgL⁻¹, ▲ 100mgL⁻¹, ◆ 150mgL⁻¹
PCA: ■ 0 mgL⁻¹, ● 10 mgL⁻¹, ▲ 30 mgL⁻¹, ◆ 50 mgL⁻¹
PAA: ■ 0 mgL⁻¹, ● 1.5 mgL⁻¹, ▲ 3 mgL⁻¹, ◆ 7.5 mgL⁻¹

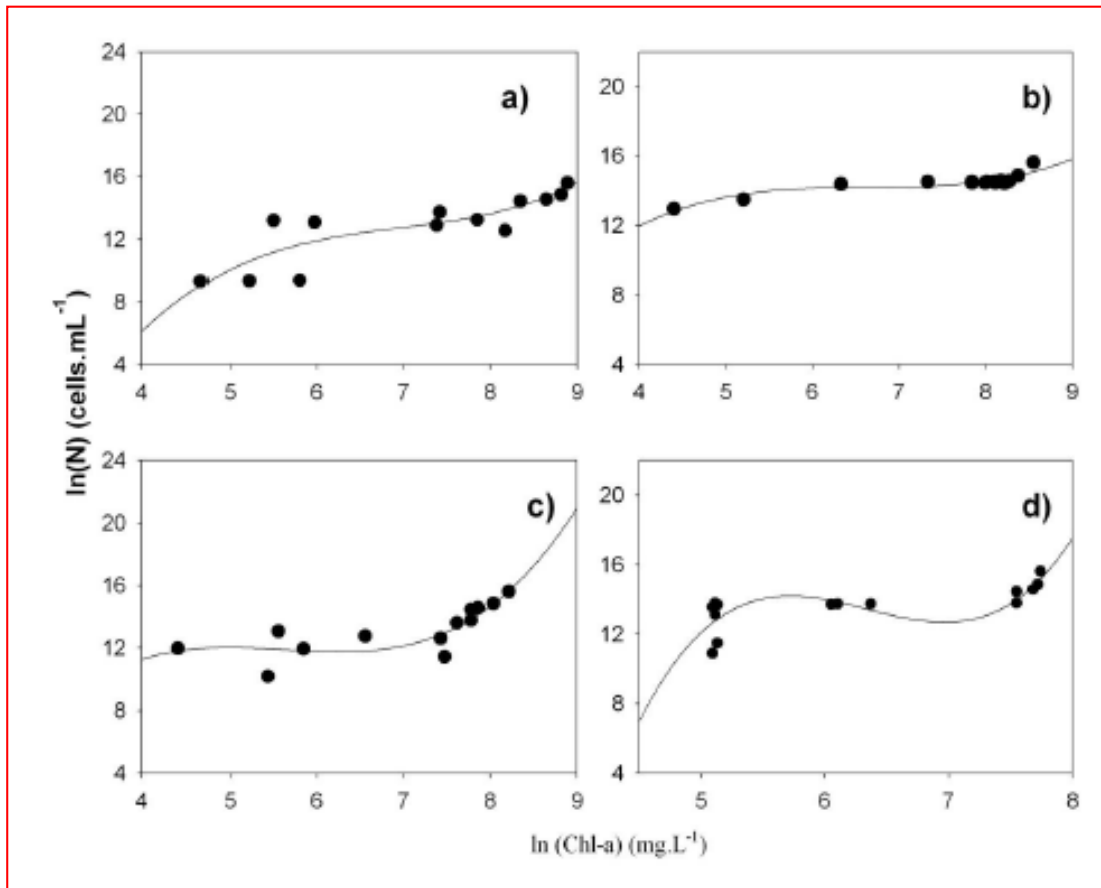
Parámetros de distribución de Weibull n , B para la supervivencia de *M. aeruginosa* bajo diferentes tratamientos con oxidantes

Treatment	mgL ⁻¹	n	B	R^2	T_r (h)	$(EC_{50})_v$ mgL ⁻¹
Chlorine	1	0.15±0.01 ^a	0.36±4.10 ^{-2a}	0.981	>1000	0.90
	3	0.12±0.08 ^a	0.37±1.10 ^{-2a}	0.983	>1000	
	5	0.37±0.10 ^a	0.48±2.10 ^{-2a}	0.989	141±7	
	50	----	----	----	--	
HP	100	1.09±0.21 ^b	6.10 ⁻⁴ ±2.10 ^{-4b}	0.982	>1000	115
	150	1.51±0.22 ^b	1.10 ⁻³ ±9.10 ^{-4b}	0.987	200±9	
	10	2.30±0.18 ^b	5.10 ⁻⁵ ±4.10 ^{-6b}	0.989	119±8	
PCA	30	1.62±0.19 ^b	1.10 ⁻³ ±2.10 ^{-4b}	0.989	125±8	7.80
	50	1.56±0.12 ^b	2.10 ⁻³ ±1.10 ^{-4b}	0.994	118±9	
	1.5	1.08±0.17 ^b	2.10 ⁻⁴ ±1.10 ^{-4b}	0.996	>1000	
PAA	3.0	1.40±0.15 ^b	2.10 ⁻⁴ ±7.10 ^{-5b}	0.988	961±19	7.04
	7.5	1.57±0.03 ^b	2.10 ⁻³ ±6.10 ^{-4b}	0.999	105±10	

T_r = tiempo requerido para reducir 3 log o 99.9% reducción del N° células viables

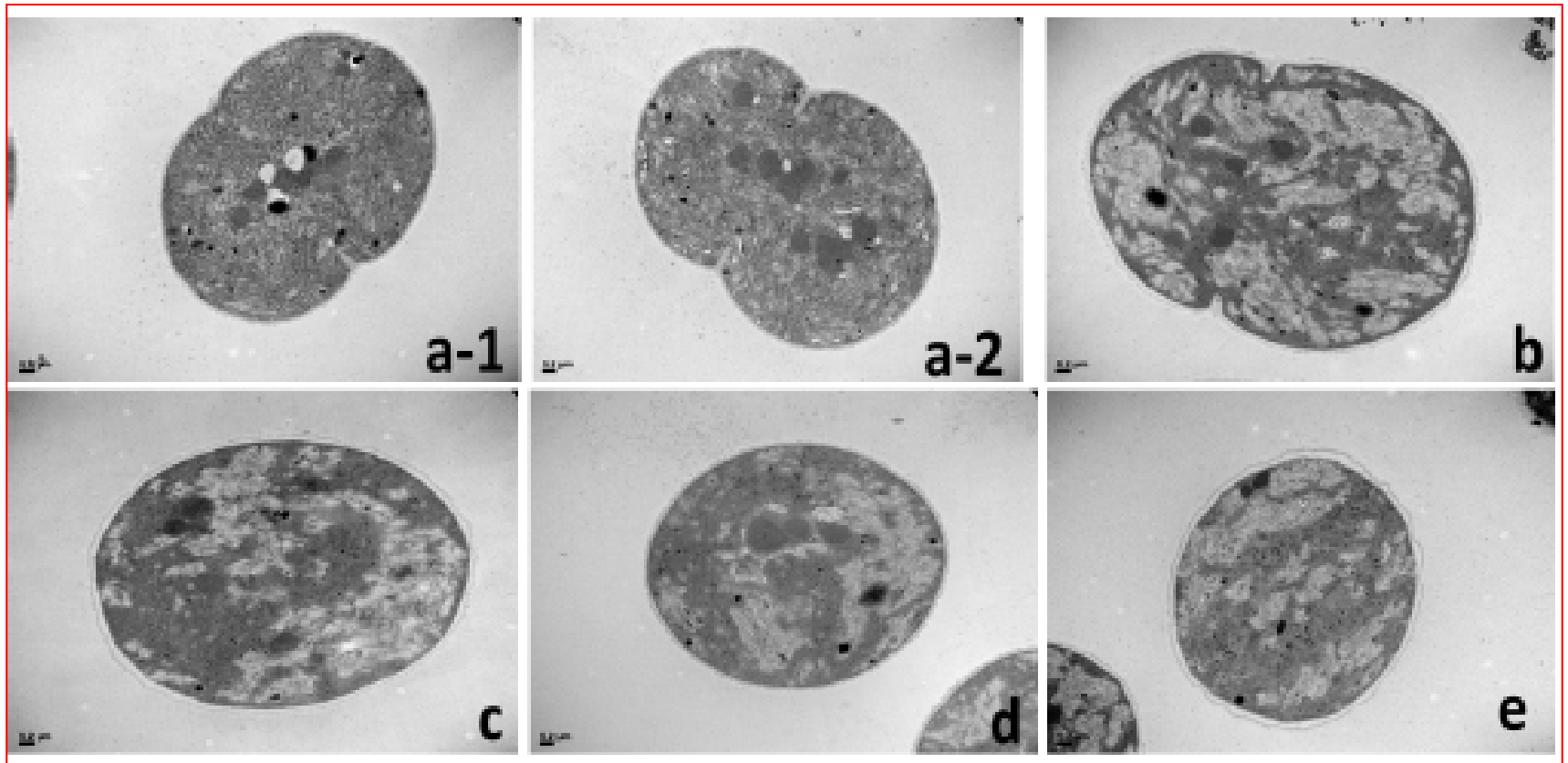
$(EC_{50})_v$ se obtiene por interpolación lineal y corresponde a la concentración de oxidante (mg.L⁻¹) que disminuye al 50% el número de células de *M. aeruginosa*, evaluado a las 72 hs

$$\ln(N) = \gamma_0(\ln(\text{Chl} - a))^3 + a(\ln(\text{Chl} - a))^2 + b(\ln(\text{Chl} - a)) + c$$



Relación entre Chl-a y células viables de *M. aeruginosa*

Treatment	γ_0	a	b	c	R^2
Chlorine	0.17 ± 0.16	-3.69 ± 3.35	26.40 ± 22.6	-51.7 ± 50.2	0.75
HP	0.11 ± 0.04	-2.30 ± 0.87	15.47 ± 5.62	-20.13 ± 11.74	0.86
PCA	0.26 ± 0.19	-4.45 ± 3.62	24.73 ± 2.38	-33.29 ± 5.23	0.71
PAA	1.57 ± 0.94	-29.89 ± 18.03	187.7 ± 112.7	-375.7 ± 31.8	0.56



Ultraestructura de *M. aeruginosa* después de 72 horas de contacto con diferentes tratamientos a-1) y a-2) células de control, b) 5mgL⁻¹ cloro, c) 50 mgL⁻¹ PCA, d) 150 mgL⁻¹ H₂O₂ y e) 7.5 mgL⁻¹ PAA.

DEGRADACION DE MCs

Cloro	1mg/L	43%
	3mg/L	61%
	5mg/L	77%
H ₂ O ₂	50 mg/L	8%
	100mg/L	14%
	150mg/L	24%
PCA	10mg/L	39%
	30mg/L	66%
	50mg/L	79%
PAA	1.5 mg/L	18%
	3.0mg/L	45%
	7.5mg/L	47%

Iniciales valores de MC = 50 - 200 µg.L⁻¹.

Conclusiones

- Chl-a decaimiento, la cinética propuesta se aplicó con éxito a los datos experimentales.
- Los valores de k_0 fueron más altos con un aumento en las dosis de oxidante, lo que indica una disminución de Chl-a más rápida.

Conclusiones

- El cloro fue el mejor tratamiento de oxidante, seguido de PAA y PCA, ya que requirió una menor concentración de oxidante para producir una degradación rápida y efectiva de Chl-a.

Cloro

- La cinética de inactivación de *M. aeruginosa* ($n < 1$) puede atribuirse a la presencia de subpoblaciones con diferentes resistencias.

Degradación de MC

- 5 mg.L⁻¹ de cloro produjo una disminución de MC (77%).
- 7.5 mg.L⁻¹ de PAA presentó una degradación del 47% de MC
- 30-50 mg.L⁻¹ de PCA, se obtuvo una degradación de MC de 66-69%
- 150 mg.L⁻¹ de H₂O₂ produjo una degradación del 24% de MC.

Conclusiones

- Tanto el cloro y como los perácidos (HP, PCA y PAA) se degradaron en 72 h → no se detectaron valores residuales.
- PCA y PAA lograron la eliminación de más células y una mayor degradación MC que H_2O_2 solo, probablemente porque contienen H_2O_2 (30% M/V).

Conclusiones

- Otros parámetros como la materia orgánica y otros posibles contaminantes, podrían reducir significativamente la cantidad de oxidantes disponibles para actuar sobre las células cianobacterianas.
- Debe evaluarse el impacto en elementos del ecosistema, como los peces larvales, los macroinvertebrados y el zooplancton.