



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

**REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DISUELTA, *Microcystis aeruginosa* Y MICROCISTINA-
LR APLICANDO PREOXIDACIÓN-COAGULACIÓN-FLOCULACIÓN-SEDIMENTACIÓN
PARA LA POTABILIZACIÓN DE AGUA**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN INGENIERÍA

PRESENTA:
JUAN LUIS SANDOVAL REYES

TUTOR PRINCIPAL
DRA. ROSA MARÍA RAMÍREZ ZAMORA, II-UNAM

COMITÉ TUTOR
DRA. SOFÍA EZPERANZA GARRIDO HOYOS, IMTA
DR. PEDRO RAMÍREZ GARCÍA, FES-IZTACALA-UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Pedro Ramírez García
Secretario: Dra. Alejandra Martín Domínguez
1er. Vocal: Dr. Erick Roberto Bandala González
2do. Vocal: Dra. Sofia Esperanza Garrido Hoyos
3er. Vocal: Dra. Rosa María Ramírez Zamora

Lugar o lugares donde se realizó la tesis: Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM, que cuenta con la certificación ISO 9001-2008, otorgada por el Instituto Mexicano de Normalización y Certificación A.C. (IMNC) con registro RSGC 960 de fecha de enero de 2016, vigente al 11 de enero de 2019.

TUTORA DE TESIS:

Dra. Rosa María Ramírez Zamora

FIRMA

Dedicatoria

A mi familia

Por todo su apoyo, comprensión y amor
¡Estoy orgulloso de ustedes!

A mi pareja

Por acompañarme en la aventura de la vida. Gracias por tu amor, apoyo y comprensión

A mis amigos

Siempre llegan de forma inesperada a ponerle sazón a mi vida
¡Gracias por acompañarme en los mejores momentos y por hacer los malos más llevaderos!

Agradecimientos

A la Dra. Rosa María Ramírez Zamora por su asesoría y apoyo durante la realización de este trabajo de investigación y por contribuir con mi formación profesional.

A la Dra. Sofía Esperanza Garrido Hoyos y al Dr. Pedro Ramírez García por sus valiosas aportaciones y asesoría para fortalecer este trabajo de investigación y enriquecer mi formación académica. En especial, quiero agradecer al Dr. Ramírez por facilitarnos la cepa de *Microcystis aeruginosa*.

A la Dra. Alejandra Martín Domínguez y al Dr. Erick Roberto Bandala González por sus valiosas contribuciones para mejorar este trabajo de investigación.

A la M. en C. Leticia García Montes de Oca por el apoyo técnico brindado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería.

Al Ing. José Luis Rodríguez Pérez por la fabricación de la incubadora para el cultivo de la cianobacteria.

Al apoyo para realizar mis pruebas de laboratorio brindado por Myriam Solís, Oswaldo Cerón, Tania Escárcega, Germán Castro y Alejandro Ortiz. Gracias, porque además de su ayuda me dieron su amistad.

A todos mis amigos del Instituto de Ingeniería. Alberto Macías, Ana Priego, Ariadna Morales, Arturo Claudio, Brenda Alcántar, Carlos Cuando, Carolina Reyes, Claudia Montoya, Denise Reyes, Diana García, Edwin Abella, Elisa García, Elizabeth Isaacs, Grisell Tabla, Guadalupe Ochoa, Gustavo Rodríguez, Jessica Monter, Julieta García, Luis Mendoza, Marianne Tapia, Mario Hernández, Melisa Portilla, Reyna García, Rosalba García, Sandra Arzate, Tania García, Teresa Foster, Tonantzin Ramírez y Víctor Sánchez. Gracias por haber hecho más agradable mi estancia.

Al Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México por contribuir a mi formación profesional.

Al CONACYT y al proyecto (PAPIIT IV100616) por las becas otorgadas.

A todos

Gracias

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
Resumen	1
Abstract	3
Introducción.....	5
Objetivos	7
a. Objetivo general.....	7
b. Objetivos específicos.....	7
Hipótesis.....	8
CAPITULO 1. MARCO TEÓRICO.....	9
1.1. La Materia Orgánica Natural Disuelta (MOD)	9
1.1.1. Definición	9
1.1.2. Clasificación y composición de la MOD	9
1.1.3. Características físicoquímicas de la MOD	10
1.1.4. Concentración típica de la MOD en aguas superficiales	11
1.2. Cianobacterias y sus metabolitos (cianotoxinas).....	11
1.2.1. Definición y clasificación	11
1.2.2. Selección de la cianobacteria y la cianotoxina empleadas en este trabajo de investigación	12
1.2.2.1. Características generales de <i>Microcystis aeruginosa</i> (MA)	15
1.2.2.2. Características generales de la microcistina-LR (MC-LR)	16
1.2.3. Antecedentes en México de la presencia de cianobacterias y cianotoxinas	17
1.3. Normatividad en materia de agua potable para la MOD, cianobacterias y cianotoxinas en México	19
1.3.1. Normatividad para la MOD	19
1.3.2. Normatividad para cianobacterias (<i>M. aeruginosa</i>) y cianotoxinas (microcistina-LR) en agua	20
1.4. Problemática asociada a la presencia de la MOD, cianobacterias y cianotoxinas en aguas superficiales y procesos de potabilización	22
1.5. Procesos y trenes de tratamiento para la remoción de MOD, cianobacterias y cianotoxinas	24
1.6. El proceso de coagulación-floculación y la aplicación de preoxidación como coadyuvante para la remoción de MOD, MA y MC-LR.....	26
1.6.1. La coagulación-floculación.....	26
1.6.1.1. Definición.....	26
1.6.1.2. Tipos de coagulantes.....	26
1.6.1.3. Mecanismos de acción del sulfato de aluminio	26
1.6.2. La preoxidación.....	27
1.6.2.1. Definición.....	27
1.6.2.2. Compuestos químicos usados como preoxidantes	27
1.6.3. Parámetros con influencia en el proceso de preoxidación con coagulación-floculación..	29
1.7. La preoxidación como coadyuvante del proceso de coagulación-floculación para la remoción de MOD, cianobacterias y cianotoxinas	29
CAPITULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	33
2.1. Pruebas experimentales del tren de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación (P-C-F-S) 33	
2.1.1. Preparación del agua para pruebas experimentales	34
2.1.2. Diseño de experimentos	36
2.1.2.1. Variables de respuesta para los diseños experimentales	37
2.1.2.2. Factores y sus niveles para los diseños experimentales	37

2.1.2.3.	Diseño factorial fraccionado	39
2.1.2.4.	Diseño de superficie de respuesta.....	40
2.1.3.	Pruebas de jarras del tren compuesto por P-C-F-S.....	41
CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		44
3.1.	Determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MOD, MA y MC-LR empleando como preoxidantes el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro (diseño factorial fraccionado).....	44
3.1.1.	Factores con influencia significativa en tren tratamiento compuesto por P-C-F-S para cada preoxidante.....	44
3.1.1.1.	Factores con influencia significativa en la remoción de la MOD.....	46
3.1.1.2.	Factores con influencia significativa en la remoción de MA.....	53
3.1.1.3.	Factores con influencia significativa en la remoción de MC-LR.....	56
3.2.	Determinación de las condiciones óptimas para la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por P-C-F-S empleando como preoxidantes el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro (diseño de superficie de respuesta).....	58
3.2.1.	Concentraciones residuales en el agua clarificada después de aplicar el proceso de P-C-F-S en condiciones óptimas y para ambos preoxidantes.....	67
3.3.	Determinación de la influencia de la presencia de MA y MC-LR sobre la remoción de MOD por el proceso de P-C-F-S en condiciones óptimas de operación para ambos preoxidantes.....	68
3.4.	Determinación de la influencia del tipo de preoxidante sobre la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por el tren de P-C-F-S en condiciones óptimas de operación.....	71
3.4.1.	Pruebas de potencial Z para determinar el efecto de los preoxidantes sobre la estabilidad electrostática de MA.....	73
3.4.1.1.	Potencial Z de MA preoxidando con hipoclorito de sodio.....	73
3.4.1.2.	Potencial Z de MA preoxidando con dióxido de Cloro.....	74
CAPITULO 4. CONCLUSIONES.....		76
4.1.	Recomendaciones.....	79
REFERENCIAS.....		80
ANEXOS.....		90
ANEXO I.	Géneros de cianobacterias y cianotoxinas que producen.....	90
ANEXO II.	Características fisicoquímicas de las cianotoxinas.....	92
ANEXO III.	Generación de dióxido de cloro.....	93
ANEXO IV.	Técnica para la extracción y cuantificación de MC-LR.....	94
ANEXO V.	Curva de calibración de COD.....	96
ANEXO VI.	Índice de Willcomb y tamaño de los flóculos.....	97
ANEXO VII.	Cultivo y cuantificación de la cepa de MA:.....	99
ANEXO VIII.	Análisis de varianza ANOVA para determinar los factores con influencia significativa en la remoción de MOD preoxidando con ClO ₂	105
ANEXO IX.	Verificación de los supuestos del modelo para validar los resultados del ANOVA en la determinación de los factores con influencia significativa para la remoción de MOD preoxidando con ClO ₂	105
ANEXO X.	Determinación de la calidad y tamaño de los flóculos.....	107
ANEXO XI.	Tablas del ANOVA y su validación con la verificación de los supuestos del modelo para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MA preoxidando con NaOCl y ClO ₂	108
ANEXO XII.	Tablas del ANOVA y su validación con la verificación de los supuestos del modelo para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MC-LR preoxidando con NaOCl y ClO ₂	112
ANEXO XIII.	Verificación de los supuestos para validar la calidad del ajuste del modelo en la determinación de las condiciones óptimas para la remoción de MOD, MA y MC-LR preoxidando con NaOCl y ClO ₂	116

ANEXO XIV. Resultados de remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR en las condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento calculadas por la función deseabilidad.....	125
ANEXO XV. Concentraciones residuales en el agua clarificada después del tratamiento para la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por P-C-F-S aplicado las condiciones óptimas.....	127
ANEXO XVI. Determinación de la influencia de MA y MC-LR sobre la remoción de la MOD en condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento con NaOCl y ClO ₂	128
ANEXO XVII. Pruebas de medición del potencial Z para la determinar el efecto de los preoxidantes (ClO ₂ , NaOCl) sobre la estabilidad electrostática de MA.....	129
ANEXO XVIII. Resultados de las pruebas de potencial Z para determinar el efecto de los preoxidantes sobre la estabilidad electrostática de MA	131

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Fracciones de la MOD y compuestos químicos representativos	10
Tabla 1.2. Valores típicos de los parámetros indirectos indicadores de MOD en agua superficial ..	11
Tabla 1.3. Resumen comparativo de las toxinas de mayor interés	15
Tabla 1.4. Reportes de la presencia de la microcistina-LR disuelta en cuerpos de agua superficial en México	19
Tabla 1.5. Normatividad para indicadores indirectos de la presencia de MOD en agua potable	20
Tabla 1.6. Niveles de alerta de la presencia de cianobacterias en cuerpos de agua superficiales.....	21
Tabla 1.7. Regulación de la concentración de microcistina-LR en agua potable	22
Tabla 1.8. Procesos de tratamiento empleados para la remoción de MOD, cianobacterias y sus cianotoxinas.....	25
Tabla 1.9. Ventajas y desventajas de los principales preoxidantes	27
Tabla 2.1. Composición típica de las fracciones de la MOD como COD y compuestos modelo.....	35
Tabla 2.2. Concentraciones máxicas iniciales y aportación de COD de cada compuesto modelo de la MOD para diferentes relaciones HPO:HPI	36
Tabla 2.3. Reactivos y muestras usados en la preparación del agua.....	36
Tabla 2.4. Valores reales y codificados de los factores evaluados en el diseño factorial fraccionado para la remoción de MOD, MA y MC-LR por los procesos de P-C-F-S.....	39
Tabla 2.5. Parámetros fijos en las pruebas de P-C-F-S.....	41
Tabla 2.6. Reactivos utilizados en las pruebas de P-C-F-S.....	42
Tabla 2.7. Parámetros de control medidos en las pruebas de P-C-F-S	43
Tabla 3.1. Diseño factorial: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando NaOCl.....	47
Tabla 3.2. Diseño factorial: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando ClO ₂	48
Tabla 3.3. ANOVA de los datos de remoción de MOD utilizando NaOCl como preoxidante	50
Tabla 3.4. Diseño Box-Behnken: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando NaOCl	60
Tabla 3.5. Diseño Box-Behnken: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando ClO ₂	61
Tabla 3.6. Modelos estadísticos de cada variable de respuesta por preoxidante y su coeficiente de determinación	62
Tabla 3.7. Valor-P de la prueba de falta de ajuste para los modelos por variable de respuesta y para cada uno de los preoxidantes utilizados	63
Tabla 3.8. Condiciones óptimas estimadas por la función deseabilidad para la remoción simultánea de COD, MA y MC-LR por P-C-F-S utilizando ambos preoxidantes	64
Tabla 3.9. Remoción simultánea normalizada y porcentual en condiciones óptimas	67
Tabla 3.10. Concentraciones residuales en el agua clarificada comparadas contra la normatividad o recomendaciones para agua potable.....	68

Tabla I.1. Géneros de cianobacterias y las cianotoxinas que producen	90
Tabla II.1. Características fisicoquímicas de las principales cianotoxinas.....	92
Tabla VII.1. Condiciones de cultivo de la cepa de MA	100
Tabla VII.2. Solución stock 1	100
Tabla VII.3. Solución stock 2.....	100
Tabla VII.4. Solución stock 3.....	100
Tabla VII.5. Solución Stock 4	101
Tabla VIII.1. ANOVA de los datos de remoción de MOD preoxidando con ClO ₂	105
Tabla X.1. Índice de Willcomb y tamaño de los flóculos formados en las pruebas de P-C-F-S (diseño factorial fraccionado).....	107
Tabla XI.1. ANOVA de los datos de remoción de MA preoxidando con NaOCl.....	108
Tabla XI.2. ANOVA de los datos de remoción de MA preoxidando con ClO ₂	110
Tabla XII.1. ANOVA de los datos de remoción de MC-LR preoxidando con NaOCl.....	112
Tabla XII.2. ANOVA de los datos de remoción de MC-LR preoxidando con ClO ₂	114
Tabla XIV. 1. Resultados de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR en condiciones óptimas de operación con NaOCl	125
Tabla XIV. 2. Resultados de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR en condiciones óptimas de operación con ClO ₂	126
Tabla XV.1. Concentraciones iniciales y finales en el agua clarificada.....	127
Tabla XVI. 1. Remoción de MOD para determinación de la influencia de MA y MC-LR en condiciones óptimas de operación con NaOCl y ClO ₂	128
Tabla XVII.1. Relación de ácido ascórbico/preoxidante para detener la reacción de oxidación.....	130
Tabla XVII.2. Dosis de preoxidante y puntos de pH evaluados en las pruebas de potencial Z.....	130
Tabla. XVIII.1. Determinación del potencial Z preoxidando con NaOCl	131
Tabla. XVIII.2. Determinación del potencial Z preoxidando con ClO ₂	131

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Micrografía de <i>Microcystis aeruginosa</i>	16
Figura 1.2. Estructura química de la microcistina-LR	17
Figura 2.1. Diagrama de las pruebas experimentales de P-C-F-S	33
Figura 3.1. <i>Microcystis aeruginosa</i> (40x):.....	44
Figura 3.2. Diagramas de Pareto para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MOD por P-C-F-S utilizando: a) NaOCl y b) ClO ₂ como preoxidantes	49
Figura 3.3. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl	51
Figura 3.4. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl	52
Figura 3.5. Independencia en los residuos de los datos de remoción de la MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl	52
Figura 3.6. Diagrama de Pareto para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MA por P-C-F-S utilizando: a) NaOCl y b) ClO ₂ como preoxidantes	55
Figura 3.7. Diagramas de Pareto para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MC-LR por P-C-F-S utilizando: a) NaOCl y b) ClO ₂ como preoxidantes	57
Figura 3.8. Comparación de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR, aplicando las condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento reproducidas en laboratorio, respecto al valor estimado por el modelo, aplicando ambos preoxidantes	65
Figura 3.9. Efecto de MA y la MC-LR sobre la remoción de la MOD en condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento.....	69
Figura 3.10. Efecto de la preoxidación en la remoción simultánea de MOD (mg COD/mg Al), MA (céls/mg Al x 10 ⁴) y MC-LR (µg/mg Al).....	73

Figura 3.11. Potencial Z de MA a diferentes dosis de preoxidante (NaOCl)	74
Figura 3.12. Potencial Z de MA a diferentes dosis de preoxidante (ClO ₂)	75
Figura IV.1. Diagrama del procedimiento para cuantificación de la MC-LR	94
Figura IV.2. Curva de calibración para la cuantificación de MC-LR por HPLC	96
Figura V.1. Curva de calibración para la cuantificación de COD	96
Figura VII.1. A la Izquierda se observan células de MA; a la derecha un ejemplo de la medición del diámetro celular	99
Figura VII. 2. Diagrama del procedimiento para cultivar la cepa de MA	102
Figura VII.3. Diagrama del procedimiento para calcular la densidad de MA	103
Figura VII.4. Curvas de crecimiento de los cultivos de <i>M. aeruginosa</i> en medio dinámico Z8	104
Figura IX.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	105
Figura IX.2. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	106
Figura IX.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de la MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	106
Figura XI.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl	108
Figura XI.2. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl	109
Figura XI.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl	109
Figura XI.4. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	110
Figura XI.5. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	111
Figura XI.6. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	111
Figura XII.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl.....	112
Figura XII.2. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl	113
Figura XII.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl.....	113
Figura XII.4. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	114
Figura XII.5. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	115
Figura XII.6. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO ₂	115
Figura XIII.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	116
Figura XIII.2. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	116
Figura XIII.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	117
Figura XIII.4. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl.....	117
Figura XIII.5. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	118

Figura XIII.6. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	118
Figura XIII.7. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	119
Figura XIII.8. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	119
Figura XIII.9. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl	120
Figura XIII.10. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	120
Figura XIII.11. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	121
Figura XIII.12. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	121
Figura XIII.13. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	122
Figura XIII.14. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	122
Figura XIII.15. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	123
Figura XIII.16. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	123
Figura XIII.17. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	124
Figura XIII.18. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO ₂	124

Resumen

El objetivo de esta investigación fue estudiar y optimizar la remoción simultánea de materia orgánica disuelta (MOD), *Microcystis aeruginosa* (MA) y microcistina-LR (MC-LR), por un tren de tratamiento integrado por los procesos de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación (P-C-F-S) para la potabilización de agua superficial.

Se realizaron pruebas experimentales a escala laboratorio del tren de tratamiento propuesto, utilizando muestras preparadas con agua destilada para tener un buen control de todas las variables experimentales. La preparación de las muestras de agua consistió en adicionar MA (proveniente de una cepa aislada), estándares de grado cromatográfico de MC-LR y compuestos modelo de la MOD de tipo hidrofóbico (HPO) e hidrofílico (HPI).

Las pruebas experimentales fueron realizadas de manera aleatoria, con base en dos diseños de experimentos, para evaluar el efecto de dos preoxidantes (NaOCl y ClO₂). El primer diseño experimental fue de tipo factorial fraccionado, con el cual se identificaron los factores con influencia significativa, para cada preoxidante, sobre la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR en un tren de tratamiento compuesto por P-C-F-S. El segundo diseño experimental fue de superficie de respuesta (Box-Behnken), con el cual se obtuvieron las condiciones óptimas de operación de este tren de tratamiento, para cada preoxidante, con la finalidad de lograr la máxima remoción simultánea de los tres contaminantes. Finalmente, en condiciones óptimas se evaluó la influencia de la presencia de MA y MC-LR sobre la remoción de MOD y se comparó el efecto de ambos preoxidantes como coadyuvantes del proceso.

Los resultados obtenidos, al aplicar experimentalmente las condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento, para cada preoxidante, mostraron que: al preoxidar con NaOCl la máxima remoción simultánea fue de $49.45 \pm 4.9\%$ de MOD, $89 \pm 7\%$ de MA y $73.57 \pm 0.42\%$ de MC-LR; y al preoxidar con ClO₂ fue de: $50 \pm 1\%$ de MOD, $77 \pm 4\%$ de MA y $81.72 \pm 4\%$ de MC-LR. Comparando estos resultados con la información reportada en la literatura se observó que los porcentajes de remoción para MOD y MA están dentro de los rangos reportados para su remoción individual por coagulación-floculación, 10-60% para MOD y 70-90% para MA (Hendricks, 2006; Mercado, 2007; Crittenden et al., 2012; Merel, et al., 2013; Sorlini et al., 2013). Además, se mejoró significativamente la remoción de MC-LR, debido a

que la máxima remoción individual reportada para la coagulación-floculación es de 39% (Lambert *et al.*, 1996), por lo tanto, se aumentó 35% y 43% ese valor, cuando se aplicaron las condiciones óptimas del tren de tratamiento preoxidando con NaOCl y ClO₂, respectivamente.

Con los porcentajes de remoción obtenidos en condiciones óptimas de operación de este tren de tratamiento, para ambos preoxidantes, las concentraciones residuales de los contaminantes en el agua clarificada fueron de: 2.65 ± 0.35 mg de COD/L de MOD, 11667 ± 7071 céls/mL de MA y 1.32 ± 0.02 µg/L de MC-LR preoxidando con NaOCl y 2.72 ± 0.04 mg de COD/L de MOD, 25000 ± 7071 céls/mL de MA y 0.91 ± 0.20 µg/L de MC-LR cuando se preoxidó con ClO₂. Por lo tanto, las concentraciones residuales de MOD y MC-LR estuvieron cercanas, pero no cumplieron con la recomendación de 2 mg COD/L para MOD establecida por la US-EPA y la de 1 µg/L de MC-LR sugerido como valor guía por la OMS y propuesto en el PROY-NOM-127-SSA1-2017. En el caso de MA no existe regulación para agua potable.

Posteriormente, el efecto que provoca la presencia de MA y MC-LR sobre la remoción de MOD fue evaluado en las condiciones óptimas de operación de este tren de tratamiento, para cada uno de los preoxidantes, para lo cual se usaron muestras contaminadas con uno, dos o los tres contaminantes. Se determinó que cuando se preoxidó con NaOCl se produjo una disminución de 32.25% de la remoción de MOD (6.45% asociado a la presencia de MC-LR y 25.8% a MA). En contraste, cuando se utilizó ClO₂ la remoción de MOD disminuyó 18.75% (6.24% por la presencia de MC-LR y 12.5% de MA). La MA provocó una mayor disminución de la remoción de la MOD probablemente debido a su tamaño coloidal (4-6 µm) y a su concentración inicial (100000 céls/mL) que son mayores a los de la MC-LR (0.003 µm y 5 µg/L).

Finalmente, el uso de preoxidación, con las dosis y tiempo de contacto evaluados, no tuvo un efecto significativo en la mejora de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por P-C-F-S, utilizando ambos preoxidantes.

Abstract

The purpose of this research was to study and optimize the simultaneous removal of dissolved organic matter (DOM), *Microcystis aeruginosa* (MA) and microcystin-LR (MC-LR) by a train of treatment integrated by the processes of pre-oxidation-coagulation-flocculation-sedimentation (P-C-F-S) for surface water purification.

The experimental laboratory scale tests, of the proposed treatment train, were carried out, using samples prepared with distilled water to have a good control of all the experimental variables. The preparation of the water samples consisted in the addition of MA (from an isolated strain), MC-LR chromatographic grade standards and DOM model compounds of hydrophobic (HPO) and hydrophilic type (HPI).

The experimental tests were randomly performed, based on two experimental designs to evaluate the effect of two pre-oxidants (NaOCl and ClO₂). The first experimental design was a fractional factorial, to identify the factors with significant influence, on the simultaneous removal of DOM, MA and MC-LR in a treatment train composed of P-C-F-S, using separately each pre-oxidant. The second experimental design was a response surface (Box-Behnken), to obtain the optimal operating conditions of this treatment train, using separately the pre-oxidants, in order to achieve the maximum simultaneous removal of the three contaminants. Finally, the influence of the presence of MA and MC-LR on the removal of DOM was evaluated, and the effect of both pre-oxidants as process enhancers was compared, under the optimal operating conditions of the treatment train.

The results obtained for the optimal operating conditions of the treatment train, using separately each pre-oxidant, showed that: the pre-oxidation with NaOCl reached the maximum simultaneous removal of $49.45 \pm 4.9\%$ of DOM, $89 \pm 7\%$ of MA and $73.57 \pm 0.42\%$ of MC-LR, and with ClO₂ it reached: $50 \pm 1\%$ of DOM, $77 \pm 4\%$ of MA and $81.72 \pm 4\%$ of MC-LR. Comparing these results with the information reported in the literature, it was observed that the removal percentages of DOM and MA are within the ranges reported for individual removal by coagulation-flocculation, 10-60% for DOM and 70-90% for MA (Hendricks, 2006; Mercado, 2007; Crittenden et al., 2012; Merel, et al., 2013; Sorlini et al.,

2013). Though, the MC-LR removal was significantly improved because the maximum individual removal reported for coagulation-flocculation is 39% (Lambert et al., 1996), so this value was increased 35% and 43%, when the optimal conditions of the treatment train were applied using as pre-oxidants NaOCl and ClO₂, respectively.

Under optimal operating conditions of this treatment train, for both pre-oxidants, the residual concentrations of the pollutants in the clarified water were: 2.65 ± 0.35 mg of DOC/L of DOM, 11667 ± 7071 cell/mL of MA and 1.32 ± 0.02 µg/L of MC-LR applying pre-oxidation with NaOCl and 2.72 ± 0.04 mg of DOC/L of DOM, 25000 ± 7071 cell/mL of MA and 0.91 ± 0.20 µg/L of MC-LR with ClO₂. Therefore, the residual concentrations of DOM and MC-LR were close, but they did not comply the recommendation of 2 mg DOC/L for DOM established by the US-EPA, to avoid the formation of disinfection by-products in levels upper than the values of standards, and of 1 µg/L of MC-LR suggested as a guide value by WHO and proposed in PROY-NOM-127-SSA1-2017 for potable water. In the case of MA, there is not regulation for drinking water.

Subsequently, the effect that causes the presence of MA and MC-LR on the DOM removal was evaluated under the optimal operating conditions of this treatment train, for each pre-oxidant, using contaminated samples with one, two or all three pollutants. It was determined that when pre-oxidation with NaOCl was applied, the DOM removal decreased 32.25% (6.45% associated to the presence of MC-LR and 25.8% to MA). In contrast, when ClO₂ was used, the DOM removal decreased 18.75% (6.24% due to the presence of MC-LR and 12.5% associated to MA). The MA caused a greater decrease in the DOM removal probably due to its colloidal size (4-6 µm) and its initial concentration (100000 cell/mL), which are higher than those of the MC-LR (0.003 µm and 5 µg/L).

Finally, the use of pre-oxidation, with the doses and contact time evaluated in this work, did not have a significant effect in the improvement of the simultaneous removal of DOM, MA and MC-LR by P-C-F-S, using both pre-oxidants.

Introducción

Este trabajo se enfoca en la remoción de tres contaminantes, para obtener agua potable a partir de fuentes de abastecimiento superficiales: la materia orgánica natural, la microalga *Microcystis aeruginosa* y su metabolito secundario la microcistina-LR. Estos contaminantes pueden encontrarse comúnmente mezclados en aguas superficiales durante los meses de verano, lo cual está relacionado principalmente con la temperatura del agua, de entre 15 y 30 °C, que favorece el crecimiento de cianobacterias como es el caso de MA (Fan, 2012), las cuales como mecanismo de defensa, bajo condiciones de estrés o por el rompimiento celular pueden liberar metabolitos tóxicos como la MC-LR. Por lo tanto, durante estos meses se pueden combinar con la MOD, que siempre está presente en el agua.

La remoción de estos contaminantes del agua es importante debido a que: la MOD forma complejos con los metales facilitando su movilidad, propicia el crecimiento de microorganismos, es precursora de subproductos tóxicos durante el proceso de desinfección, interfiere con el proceso natural de oxidación y deteriora la calidad organoléptica del agua (color, olor y sabor). Por otra parte, la presencia de cianobacterias acelera la colmatación de filtros y membranas e incrementa la demanda de coagulantes, floculantes y oxidantes. Finalmente, los metabolitos tóxicos producidos por las cianobacterias representan un riesgo a la salud incluso en concentraciones traza (Hendricks, 2006; Crittenden *et al.*, 2012; Sillanpaa, 2015).

Se decidió trabajar específicamente con MA y MC-LR debido a que, MA es una de las principales generadoras de MC-LR, que es la cianotoxina más producida, la más regulada, la más persistente, una de las más tóxicas, muy estable en agua y la que reporta mayor cantidad de intoxicaciones de seres humanos. Además, en México está considerada su reglamentación en el “PROY-NOM-127-SSA1-2017” (Elías, 2007; AWWA, 2010; Mercado, 2007; Dixon *et al.*, 2011; Pantelić *et al.*, 2013; COFEMER, 2017).

La coagulación-floculación, que es un proceso convencional de potabilización de los más utilizados por su bajo costo y fácil aplicación (SEMARNAT, 2015; Sillanpaa, 2015), fue estudiado debido que presenta bajas eficiencias de remoción de MOD y la presencia

estacional, cada vez más frecuente y con periodos de duración más prolongados de MA y MC-LR, afecta la eficiencia y aumenta los problemas de operación en las plantas potabilizadoras que lo utilizan (Hendricks, 2006; AWWA, 2010). Además, se seleccionó porque no se encontró información sobre su aplicación para la remoción simultánea de estos tres contaminantes y son pocos los datos que existen sobre la remoción de MC-LR por este proceso. Las remociones individuales reportadas de MOD y MC-LR por coagulación-floculación son menores al 60% y 39% (Lambert *et al.*, 1996; Hendricks, 2006; Elías Maxil, 2007; Mercado, 2007; Crittenden *et al.*, 2012), respectivamente, por lo cual para su remoción final es necesario aplicar tecnologías o procesos que encarecen el tratamiento como: la filtración con membranas, la adsorción en carbón activado o la oxidación avanzada. Derivado de estas bajas remociones, ha aumentado el interés de los responsables de la producción de agua potable con la calidad adecuada porque se realicen investigaciones con la finalidad de incrementar la eficiencia de la coagulación-floculación. Aunque se ha publicado que la preoxidación mejora la eficiencia de remoción de contaminantes por el proceso de coagulación-floculación (Henderson *et al.*, 2008; Matilainen *et al.*, 2010; Meneses, 2011; Shen *et al.*, 2011; Crittenden *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2014; Sillanpaa, 2015), no se ha evaluado su efecto como coadyuvante en la remoción simultánea de estos contaminantes, ni está claramente establecido el efecto que puede ocasionar la presencia estacional de cianobacterias y sus cianotoxinas sobre la eficiencia de remoción de la MOD. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo de investigación fue estudiar estos aspectos.

Objetivos

a. Objetivo general

Estudiar y optimizar la remoción simultánea de materia orgánica disuelta (MOD), de la cianobacteria (*Microcystis aeruginosa*) y de la cianotoxina (microcistina-LR), en un tren de tratamiento integrado por los procesos de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación para la potabilización de agua superficial.

b. Objetivos específicos

- Determinar, mediante un diseño experimental, las variables con influencia significativa en la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por un tren de tratamiento integrado por preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación, utilizando como coagulante el sulfato de aluminio y como preoxidantes el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro.
- Establecer, mediante un diseño experimental, las condiciones óptimas del tren de tratamiento integrado por preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación, utilizando como coagulante el sulfato de aluminio y para los dos preoxidantes evaluados en la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR.
- Evaluar el efecto de la presencia de MA y de MC-LR sobre la eficiencia de remoción de la MOD por los procesos de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación, en condiciones óptimas de operación, utilizando cada uno de los preoxidantes evaluados.
- Determinar el efecto del tipo de preoxidante en la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR aplicando las condiciones óptimas de operación obtenidas para el tren de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación.

Hipótesis

La remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR será mayor utilizando una preoxidación con ClO_2 , respecto a la obtenida con NaOCl, como coadyuvante de la coagulación-floculación, en condiciones óptimas de operación de estos tres procesos. Lo anterior, debido a que el ClO_2 posee una capacidad de oxidación 2.5 veces mayor que la del NaOCl, lo que podría mejorar la inducción de mecanismos de remoción de estos contaminantes por: transformación o alteración de los compuestos, desestabilización e inactivación de MA y liberación de exopolímeros celulares que sirven como coagulantes naturales.

CAPITULO 1. MARCO TEÓRICO

1.1. La Materia Orgánica Natural Disuelta (MOD)

1.1.1. Definición

Materia orgánica natural (MON) es el término empleado para describir la compleja matriz de compuestos químicos orgánicos que tienen origen natural y que se encuentran en los cuerpos de agua superficial. Se clasifica de manera general como materia orgánica disuelta (MOD) y materia orgánica particulada (MOP) (Hendricks, 2006; Crittenden *et al.*, 2012).

La MOP está compuesta por partículas suspendidas (coloides, fitoplancton y bacterias), mientras que la MOD es toda aquella que pasa a través de un filtro de 0.45 μm de diámetro de poro y está compuesta principalmente por moléculas disueltas. La MOD es la fracción más abundante de la materia orgánica natural en agua superficial (puede representar hasta el 90% medida como COD) y es la fracción más difícil de remover por los procesos de potabilización convencionales debido a sus características físico-químicas (solubilidad, hidrofiliidad, carga superficial y tamaño) (Hendricks, 2006; Matilainen, Vepsäläinen and Sillanpää, 2010; Crittenden *et al.*, 2012).

1.1.2. Clasificación y composición de la MOD

La MOD se puede clasificar por su afinidad al agua como hidrofóbica (HPO) e hidrofílica (HPI), cada una de las cuales presenta tres fracciones: ácida, básica y neutra (Hendricks, 2006; Sillanpää, 2015).

La MOD está compuesta principalmente por carbohidratos, lípidos, aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias húmicas, productos microbianos y los subproductos orgánicos de las reacciones biológicas, químicas y fotoquímicas de la descomposición de plantas y animales en medio acuoso (Hendricks, 2006; Crittenden *et al.*, 2012). En la **Tabla 1.1** se presentan algunos compuestos químicos representativos de las diferentes fracciones de la MOD.

Tabla 1.1. Fracciones de la MOD y compuestos químicos representativos

Fracciones	Ácido/Base	Compuestos químicos
Hidrofóbica	Ácidos fuertes	Ácidos Húmicos Ácidos Fúlvicos Alquilo monocarboxílico y ácidos dicarboxílicos de alto peso molecular Ácidos aromáticos
	Ácidos Débiles	Fenoles Taninos Alquilo monocarboxílico/ácidos dicarboxílicos de mediano peso molecular
	Bases	Proteínas Anilina Aminas aromáticas Alquil amina de alto peso molecular
	Neutrales	Hidrocarbonos Aldehídos Metil cetonas de alto peso molecular Alcoholes de alquilo, éteres, furanos y pirrol de alto peso molecular
Hidrofílica	Ácidos	Ácido cítrico Ácidos grasos Hidroxiácidos, azucares, sulfónicos Alquilo monocarboxílico y ácidos dicarboxílicos de bajo peso molecular
	Bases	Oligopéptidos, proteínas Aminoácidos, purinas, pirimidinas Alquil aminas de bajo peso molecular
	Neutrales	Polisacáridos Polisucrosa Oligosacáridos Carbohidratos Alcoholes de alquilo, aldehídos y cetonas de bajo peso molecular

Fuente: Hendricks, (2006); Matilainen *et al.*, (2010)

1.1.3. Características fisicoquímicas de la MOD

La materia orgánica natural disuelta no es volátil y es altamente soluble, está compuesta principalmente de partículas cargadas negativamente. El 90% de la MOD tiene un peso molecular entre 500 y 3000 Da. Su composición elemental es 45-60% de carbono, 4-5% de hidrógeno, 35-40% de oxígeno y 1% de nitrógeno (Crittenden *et al.*, 2012). Sin embargo, el tipo y las características de la MOD son muy complejos y variantes de un cuerpo de agua a

otro, como resultado de las condiciones particulares del mismo (el suelo, el clima y condiciones hidrológicas), por lo cual es difícil hacer una caracterización química general de la MOD y el impacto en los procesos de tratamiento será variable dependiendo del cuerpo de agua (Crittenden *et al.*, 2012).

1.1.4. Concentración típica de la MOD en aguas superficiales

La variedad y complejidad de la composición de la materia orgánica hace que medir sus componentes individualmente sea muy complicado, por lo que para estimar su concentración en el agua se emplean parámetros indirectos. Los estimadores más usados son el carbono orgánico total (COT), carbono orgánico disuelto (COD) y la absorbancia UV a 254 nm (UV₂₅₄). En la **Tabla 1.2** se presenta los valores típicos de COT, COD y UV₂₅₄ para cuantificar la MOD en agua superficial (Hendricks, 2006; Matilainen *et al.*, 2010; Abdallah, 2012).

Tabla 1.2. Valores típicos de los parámetros indirectos indicadores de MOD en agua superficial

Parámetro	Agua Natural	Agua tratada
UV ₂₅₄	0.025-0.125 cm ⁻¹	0.05-0.08 cm ⁻¹
COT agua superficial	1-20 mg/L concentración típica 3-6 mg/L	-
COD	1.3-16 mg/L	0.8-5.4 mg/L

Fuente: Abdallah (2012); Crittenden *et al.* (2012)

1.2. Cianobacterias y sus metabolitos (cianotoxinas)

1.2.1. Definición y clasificación

Las cianobacterias (algas verde-azules) son organismos procariontes, autótrofos, fotosintéticos, se clasifican como bacterias Gram negativas y pertenecen a la materia orgánica natural particulada (AWWA, 2010; Crittenden *et al.*, 2012). En el ambiente están ampliamente distribuidas y pueden encontrarse en agua de mar, agua dulce y en suelos en intervalos que van de los 2 a los 40 µm de diámetro (AWWA, 2010; Chen, 2011). Pueden presentarse desde formas unicelulares hasta colonias o filamentos, generalmente son

microscópicas, pero hay poblaciones que pueden ser observadas a simple vista y muchas producen mucilago que rodea las células o las colonias (Quiblier *et al.*, 2013).

Durante su crecimiento las cianobacterias pueden producir subproductos metabólicos que se clasifican en tóxicos y no tóxicos. Dentro de los metabolitos no tóxicos se encuentran la geosmina y el 2-metilisborneol, causantes de olor y sabor en el agua (terroso-mohoso). Los tóxicos, conocidos como cianotoxinas, causan efectos dañinos a los seres vivos, incluido el hombre, y de manera general se clasifican en cinco grupos: a) neurotoxinas (anatoxina-a, anatoxina-a(s), homoanatoxina-a y saxitoxinas), b) hepatotoxinas (microcistina, cilindrospermopsina y nodularina), c) citotoxinas (cilindrospermopsina), d) irritantes y toxinas gastrointestinales (lipopolisacáridos) y e) dermatotoxinas (aplisaxitoxinas, debromoaplisaxitoxinas y limbiatoxina-a) (Elías Maxil, 2007; Mercado, 2007; Dixon *et al.*, 2011; Pantelić *et al.*, 2013).

Las cianobacterias producen las cianotoxinas dentro de la célula (intracelular) durante la fase de crecimiento exponencial. El 95% de las cianotoxinas producidas son intracelulares, mientras que hasta un 20% pueden ser liberadas al medio, también conocidas como extracelulares. La liberación de las toxinas intracelulares en el agua puede ocurrir durante la muerte de las células o bien debido al sometimiento a estrés como: la escasez de nutrientes, defensa contra depredadores o al responder a un factor externo como la aplicación de un alguicida u oxidante (Carrasco, 2007; Merel *et al.*, 2010; Westrick *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011). Las cianotoxinas pertenecen a la MOD y son el grupo de mayor importancia sanitaria por sus efectos negativos a la salud humana (Mercado, 2007; Pantelić *et al.*, 2013).

1.2.2. Selección de la cianobacteria y la cianotoxina empleadas en este trabajo de investigación

La US-EPA señala a la microcistina-LR (MC-LR), la cilindrospermopsina y la anatoxina-a como las toxinas de mayor prioridad, basándose en 4 criterios: efectos a la salud, ocurrencia en los EUA, susceptibilidad a los tratamientos de potabilización de agua y estabilidad (AWWA, 2010). Con base en esto, se hizo un análisis comparativo para seleccionar la toxina a estudiar en este trabajo de investigación, para esto se tomaron en cuenta los

criterios siguientes: probabilidad de encontrarse en un cuerpo de agua superficial, reportes de intoxicación en seres humanos, abundancia y distribución temática de las publicaciones sobre cianotoxinas, regulación oficial de su concentración máxima en agua potable y características físico-químicas.

Probabilidad de presentarse en un cuerpo de agua superficial. Según la clasificación del código internacional de nomenclatura botánica, existen más de 150 géneros y más de 2000 especies de cianobacterias (WHO, 1999; Percival y Williams, 2014). Tomando esto como punto de partida, se realizó un análisis de publicaciones sobre cianobacterias y las cianotoxinas que producen, el cual se presenta en la **Tabla I.1** del **ANEXO I**. Como resultado de este análisis se identificaron un total de 67 especies (28 géneros) de cianobacterias que producen cianotoxinas, de las cuales destacan las microcistinas que son producidas por el 49.3% de las especies analizadas, seguidas por la anatoxina-a con 35.8% y la cilindrospermopsina con 14.9%. Es conveniente mencionar que no se consideró el porcentaje de los lipopolisacáridos, ya que prácticamente están contenidos en todas las cianobacterias porque forman parte de la pared celular; además, algunas investigaciones afirman que los lipopolisacáridos pueden irritar la piel, mientras que otras ponen en duda los efectos tóxicos de estos compuestos (Stewart *et al.*, 2006). De este análisis se puede concluir que las microcistinas son las cianotoxinas que tienen mayor probabilidad de encontrarse en un cuerpo de agua superficial, debido al gran número de especies de cianobacterias que las producen.

Reportes de intoxicaciones por cianotoxinas. Intoxicaciones de seres humanos con microcistinas han sido reportadas en al menos ocho países, dentro de los cuales están: Australia, Canadá, China, Brasil, Estados Unidos, Finlandia, Reino Unido y Suecia; en cuanto a la cilindrospermopsina existen reportes confirmados en Australia y Brasil; y para la anatoxina-a sólo se identificó un caso reportado en Estados Unidos (Stewart *et al.*, 2006; Bláha *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2011; Hauxwell *et al.*, 2011; Merel *et al.*, 2013; Pantelić *et al.*, 2013). Cabe resaltar que el mayor número de intoxicaciones se han reportado en Brasil, China y Australia (Ramírez *et al.*, 2004; Pantelić *et al.*, 2013) y no se encontró información

de intoxicaciones en seres humanos relacionados con otras cianotoxinas. Por lo tanto, la MC-LR destaca en cuanto a intoxicaciones en seres humanos.

Abundancia y distribución temática de las publicaciones sobre cianotoxinas. A partir de los primeros reportes de intoxicaciones en seres humanos, que se remontan a los años setenta, se pudo observar un incremento significativo y progresivo del número de publicaciones relacionadas con las cianobacterias y cianotoxinas. En una investigación realizada por Merel *et al.* (2013b) de un total de 5,293 publicaciones en el 2012, las cianotoxinas más reportadas fueron microcistinas (56%), seguidas de las saxitoxinas (27%), anatoxinas (9%), nodularinas (9%), cilindrospermopsina (7%) y el resto de las toxinas representan tan sólo el 2%. Sin embargo, considerando el área de investigación, menos del 20% de las publicaciones están relacionadas con temas de biología del agua, bioquímica, biología molecular y recursos del agua. Se puede concluir que las microcistinas son las toxinas que presentan mayor interés en investigación, por el elevado número de publicaciones y debido a que aún es poca la cantidad de investigaciones relacionadas a la remoción de cianotoxinas del agua.

Regulación oficial de la concentración máxima para agua potable. La concentración máxima de MC-LR en agua potable está regulada en al menos 13 países, seguida por la cilindrospermopsina en al menos cinco países y finalmente la anatoxina-a en sólo dos países. Considerando esta información, se concluye que la microcistina-LR es sin duda la toxina más regulada y la única para la cual la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece un valor guía de 1 µg/L para agua potable (Merel, *et al.*, 2013).

Características físico-químicas. La consideración final se hizo con base en las características físico-químicas (**ANEXO II**).

En este trabajo de investigación se decidió trabajar con la microcistina-LR debido a que es la toxina más producida por las cianobacterias, la más persistente, una de las más tóxicas, muy estable en agua, la que mayor cantidad de reportes de intoxicación en seres humanos ha presentado y cuenta con reglamentación en mayor número de países (**Tabla 1.3**), aunado

a que la EPA la establece como una toxina prioritaria para su remoción (EPA, 2012). Además, en el caso particular de México, se está considerando su reglamentación (COFEMER, 2017) y existen reportes de su presencia en cuerpos de agua que sobrepasan el límite de concentración establecido para agua potable, lo cual se discute en el apartado **1.2.3**. La cianobacteria *Microcystis aeruginosa* (MA), es una de las principales productoras de microcistina-LR y la cual será usada como modelo en este trabajo de investigación.

Tabla 1.3. Resumen comparativo de las toxinas de mayor interés

Consideración	Unidad	ANA-a	MC-LR	CYL
Producción (67 especies)	%	35.8	49.3	14.9
Normatividad	países	2	13	5
DL ₅₀ (Ratón)	µg/Kg	250-375	25-150	2100/24 h 200/5 d
Estabilidad	-	< 8 pH	5-10 pH < 40 °C	< 6 pH < 50 °C
Vida media	-	1-2 h	meses-años	10 d
Publicaciones	%	8.82	56.13	6.88
Reportes de intoxicación	países	1	8	2

Ana-a: anatoxina-a, MC-LR: microcistina-LR, CYL: cilindrospermopsina

Fuente: Mercado, (2007); AWWA, (2010); Dörr *et al.*, (2010); Westrick *et al.*, (2010); Chen, *et al.*, (2011); Puschner and Roegner, (2012); Merel, *et al.*, (2013)

No se consideró la anatoxina-a, a pesar de ser la siguiente en toxicidad y producción, debido a su corto tiempo de vida media, ya que en presencia de luz solar se degrada a su forma no tóxica en 1 a 2 horas. La cilindrospermopsina fue descartada por ser la menos tóxica de las tres y degradarse en presencia de luz solar en 3 días (Westrick *et al.*, 2010).

1.2.2.1. Características generales de *Microcystis aeruginosa* (MA)

Microcystis aeruginosa es un procarionte, carece de núcleo y organelos (mitocondria, cloroplastos), tiene un diámetro celular de 4-6 µm y se reproduce por fusión binaria. Se

caracteriza por formar colonias con células esféricas pertenecientes al orden de las *Chroococcales* que alcanzan los 600-900 μm de largo. Las células tienen un color verde-azulado con muchos aerotopos (vacuolas de gas) que son visibles en el microscopio como puntos oscuros (**Figura 1.1**). El mucilago es incoloro a veces forma un claro y delgado margen alrededor de las células y su función es ayudar a la formación de colonias y brindar protección. Las cianotoxinas que produce principalmente son las microcistinas en especial la MC-LR (Cronberg, 2005; UNESCO, 2009; AWWA, 2010; Cirés y Quesada, 2011).

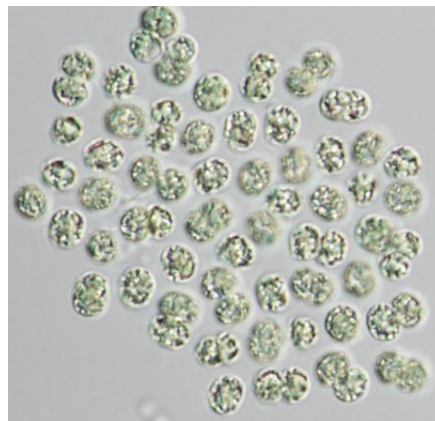


Figura 1.1. Micrografía de *Microcystis aeruginosa*
Fuente: Rosen, (2015)

Las bacterias Gram-negativas, como *Microcystis aeruginosa*, están delimitadas en su superficie por dos estructuras membranosas, una interna compuesta por fosfolípidos y una externa de lipopolisacáridos, fosfolípidos y lipoproteínas; estas membranas están separadas por una capa de aproximadamente 4 nm de espesor de peptidoglicano (Oberholster *et al.*, 2004; Chatterjee y Chaudhuri, 2011). El mucilago en la superficie de la célula no es parte integral de la pared celular y está compuesto principalmente de polisacáridos (Šejnohová, 2008).

1.2.2.2. Características generales de la microcistina-LR (MC-LR)

En la **Figura 1.2** se muestra la estructura química de la microcistina-LR, que es un heptapéptido monocíclico con 5 aminoácidos (que no varían en todas las microcistinas) y dos aminoácidos específicos (Leucina y Arginina, LR). Las características generales de la

MC-LR se presentan en el **ANEXO II**. La microcistina-LR tiene un diámetro aproximado de 3 nm (0.003 μm) con un peso molecular de 995.17 g/mol y un volumen aproximado de polarizabilidad de 936.98 \AA^3 . La microcistina-LR es una molécula anfifática (posee un extremo hidrofílico y otro hidrofóbico). Los grupos funcionales hidrofílicos incluyen grupos carboxilo en ácido glutámico y ácido metilaspártico y el grupo amino de la arginina; mientras que el grupo 3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8-trimetil-deca-4,6-ácido dienóico (ADDA) es hidrofóbico; cabe señalar que su comportamiento es mayoritariamente hidrofóbico y permanece en suspensión. La carga neta de la microcistina-LR es negativa (-1) en un amplio intervalo de valores de pH ($3 < \text{pH} < 12$), como resultado de la disociación de los dos grupos carboxilo y la única carga positiva del grupo amino (Rivasseau *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 1999).

La microcistina-LR tiene una solubilidad en agua mayor a 1 g/L y el grupo funcional responsable de su toxicidad es el grupo ADDA, que contiene dobles enlaces conjugados (Banker *et al.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2007; Merel *et al.*, 2010b).

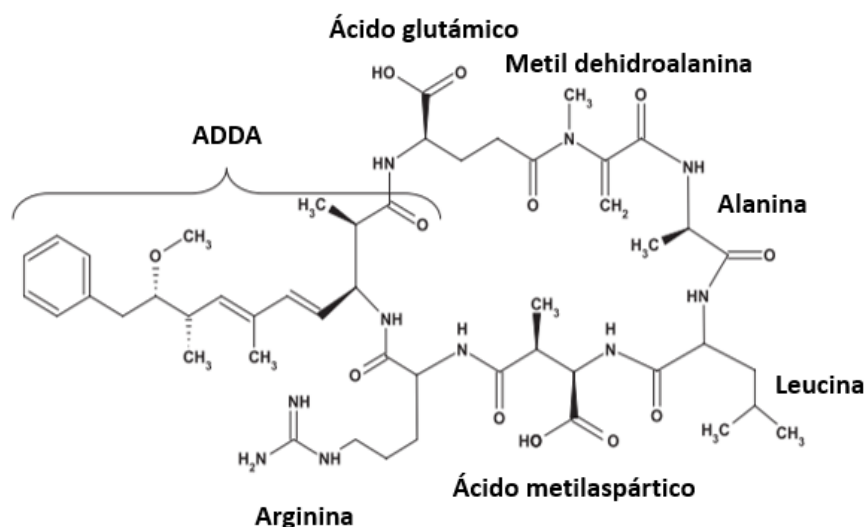


Figura 1.2. Estructura química de la microcistina-LR
Fuente: Rodríguez *et al.* (2007)

1.2.3. Antecedentes en México de la presencia de cianobacterias y cianotoxinas

En México los reportes de la presencia de cianobacterias se remontan a los años noventa, cuando se presentaron quejas por olor y sabor en el agua potable de la planta potabilizadora

“Los Berros” del sistema Cutzamala (CNA, 1998). Su identificación y estudio han venido aumentando desde entonces, sin embargo, aún es poca la información disponible en México.

La mayoría de los reportes en México están relacionados a la presencia de cianobacterias en cuerpos de agua superficiales, por lo tanto, se puede inferir que es altamente probable la presencia de sus metabolitos en forma disuelta. Como ejemplo se encuentran los estudios con cianobacterias realizados por Martínez (2006), Pineda (2009) y Arzate (2008) en los que tomaron muestras de las presas de Valle de Bravo y Villa Victoria, pertenecientes al sistema Cutzamala, que abastecen a la planta potabilizadora “Los Berros”, las cuales procesaron provocando el rompimiento de las células de las cianobacterias, con la finalidad de liberar sus toxinas para posteriormente poder identificarlas por HPLC o ELISA. Obtuvieron como resultado la presencia de la microcistina-LR en ambos embalses concluyendo que las especies de cianobacterias que florecen en estas presas producen esta cianotoxina.

En la literatura solamente se encontraron dos reportes de la presencia de la microcistina-LR disuelta (extracelular) en fuentes de abastecimiento de agua, uno realizado por Vasconcelos *et al.* (2010) en el que identificaron esta cianotoxina en algunos cuerpos de agua en México y otro realizado por Alillo *et al.* (2014) quienes analizaron muestras de agua de la Presa Valle de Bravo, que es la principal fuente de agua que abastece al sistema Cutzamala. La **Tabla 1.4** presenta las concentraciones detectadas en ambos estudios; considerando que las OMS establece un riesgo alto cuando la concentración está en un intervalo de 20-2000 µg/L de MC-LR (WHO, 1999), la Laguna de Zumpango y la Presa de los Ángeles presentaron condiciones de alto riesgo, mientras que la presa Valle de Bravo podría ser clasificada como de bajo riesgo.

Tabla 1.4. Reportes de la presencia de la microcistina-LR disuelta en cuerpos de agua superficial en México

Cuerpo	Concentración (µg/L)
Laguna de Zumpango	62.4
Presa de Los Ángeles	26.3
Presa Valle de Bravo	0.25-5.56

Fuente: Vasconcelos *et al.* (2010), Alillo *et al.*(2014)

Por lo tanto, aunque son pocos los datos, se cuenta con antecedentes de la presencia de cianobacterias y MC-LR en cuerpos de agua superficial de México, además de que se reporta su presencia en dos cuerpos que abastecen a la planta potabilizadora más grande del país (presas de Villa Victoria y Valle de Bravo). Debido a lo anterior surge la importancia de estudiar su remoción del agua superficial, considerando su potencial de causar daños a la salud y que esta propuesta para reglamentarse en México (COFEMER, 2017).

1.3. Normatividad en materia de agua potable para la MOD, cianobacterias y cianotoxinas en México

1.3.1. Normatividad para la MOD

A pesar de que el COT, COD y UV₂₅₄ son los parámetros más empleados para estimar el contenido de MOD en agua, no se identificó normatividad que regule su concentración en agua potable. Sin embargo, la US-EPA sugiere mantener el COT ≤ 2 mg/L para evitar la formación de subproductos de la desinfección (EPA, 2001). La parte de la MOD que recientemente se ha incluido son los metabolitos de las cianobacterias los cuales se discutirán más adelante. Sin embargo, parámetros indirectos que podrían indicar la presencia de MOD y que se reglamentan son: el color, el olor y el sabor, de los cuales se muestran sus límites permitidos en la **Tabla 1.5**. La MOD es la que mayor contribuye al color amarillo-marrón del agua y es la que ocasiona el olor y sabor terroso-mohoso, por lo tanto la medición de estos parámetros es un indicador indirecto del contenido de MOD (Merel *et al.*, 2013; Sillanpaa, 2015). Cabe aclarar que la presencia de estos parámetros podría no estar relacionada con la MOD, por tal motivo, se prefiere usar el COD para estimar la concentración de MOD.

Tabla 1.5. Normatividad para indicadores indirectos de la presencia de MOD en agua potable

Parámetro	Límite máximo		
	OMS	EPA	NOM-127-SSA1-1994
Color	15 unidades de color	15 Unidades de color	20 Pt-Co
Olor	Aceptable	3 Umbral de olor	Agradable
Sabor	Aceptable	-	Agradable

1.3.2. Normatividad para cianobacterias (*M. aeruginosa*) y cianotoxinas (microcistina-LR) en agua

En México no existe normatividad que regule la cantidad de cianobacterias en un cuerpo de agua superficial o una fuente de abastecimiento para agua potable. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido tres criterios o niveles de alerta por la presencia de cianobacterias en cuerpos de agua superficial y ha recomendado las medidas que pueden aplicarse, los parámetros usados para cada nivel de alerta son la densidad celular o su valor equivalente en clorofila-a (**Tabla 1.6**).

Estos niveles de alerta sirven para monitorear el comportamiento de la densidad celular de las cianobacterias en el agua con la finalidad de aplicar medidas preventivas para evitar daños a la salud en caso de presentarse un florecimiento algal.

Si la densidad celular superara las 2,000 céls/mL existe un riesgo real de que se presente un florecimiento algal en un cuerpo de agua superficial, sin embargo, no representa un riesgo para la salud pues la concentración de MC-LR permanece por debajo del límite normado para agua potable (WHO, 1999; Newcombe *et al.*, 2010). Por otra parte, la OMS establece un bajo riesgo a la salud mientras la concentración de cianobacterias se mantenga por debajo de las 20,000 céls/mL, puesto que, si se supera este valor, la MC-LR podría alcanzar concentraciones de 2-4 µg/L, con picos que podrían llegar a los 10 µg/L, siempre y cuando sean predominantes las especies de cianobacterias que producen esta toxina. También debe considerarse que la concentración de cianobacterias y cianotoxinas podría duplicarse en unas horas debido a la elevada densidad celular (WHO, 1999).

De lo anterior se puede concluir que, cuando la densidad celular alcanza o sobrepasa las 20,000 céls/mL deben tomarse las medidas necesarias en una planta potabilizadora para asegurar que no se presenten en el efluente concentraciones de MC-LR superiores a los límites máximos establecidos en la normatividad.

Tabla 1.6. Niveles de alerta de la presencia de cianobacterias en cuerpos de agua superficiales

Nivel de alerta	Densidad celular o clorofila-a	Acciones
Vigilancia	200 céls/mL 1 colonia ≥ 5 filamentos/mL	Detectar cianobacterias en muestras de agua. Realizar monitoreos continuos semanalmente. No existen condiciones de bloom por la poca densidad detectada.
1	2,000 céls/mL 1 µg/L de clorofila-a	Aplicar un tratamiento, ya que se observan tendencias a un incremento de cianobacterias o a mantener un número moderado. Hacer pruebas de toxinas en las fuentes de agua potable, particularmente si predominan las especies tóxicas. Contabilizar semanalmente la cantidad de cianobacterias y emitir informes al público. Existe un bajo riesgo de irritación en la piel o de enfermedades gastrointestinales, por contacto recreacional primario (nadar, esquí acuático, etc.).
2	100,000 céls/mL 50 µg/L clorofila-a	Realizar pruebas de toxicidad semanalmente en todos los abastecimientos. Persiste un alto número de cianobacterias tóxicas en todos los recursos acuáticos, localizadas a simple vista, se forman películas y el agua sin tratamiento adecuado no es apta para beber. Efectuar conteos de cianobacterias semanalmente y de forma continua, ya que se incrementa el riesgo de efectos adversos para la salud de las personas que tengan contacto recreativo con las fuentes de abastecimiento. Aumentar la divulgación en los medios para alertar a la población acerca del riesgo que se corre en las fuentes de abastecimiento.

Fuente: WHO, (1999)

La microcistina-LR es la cianotoxina más regulada, ya que en al menos 13 países está establecido un límite de concentración máxima para agua potable; dependiendo del país, los límites de concentración para esta toxina oscilan entre 1 µg/L y 1.5 µg/L (Merel *et al.*,

2013). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda un límite de 1 µg/L de microcistina-LR (WHO, 2008). En México se tiene como antecedente el “PROY-NOM-127-SSA1-2017” de la Secretaría de Salud dentro del cual se establece un límite de microcistina-LR de 1 µg/L (COFEMER, 2017). Por lo tanto, la concentración de la microcistina-LR en agua potable pronto podría ser regulada en México y es necesario tomar medidas para asegurar el cumplimiento con la normatividad. En la **Tabla 1.7** se presenta la reglamentación identificada para regular la concentración de microcistina-LR en varios países.

Tabla 1.7. Regulación de la concentración de microcistina-LR en agua potable

País	MC-LR (µg/L)
OMS	1
Australia	1.3
Brasil	1
Canadá	1.5
Republica Checa	1
Francia	1
Alemania	1
Holanda	1
Nueva Zelanda	1
Singapur	1
España	1
Turquía	1
Uruguay	1
Sudáfrica	1
México (PROY NOM-127-SSA1-2017)	1

Fuente: Merel *et al.* (2013); COFEMER, (2017)

1.4. Problemática asociada a la presencia de la MOD, cianobacterias y cianotoxinas en aguas superficiales y procesos de potabilización

La MOD deteriora la calidad del agua provocando problemas de color, olor y sabor, interfiere con el proceso natural de oxidación, puede formar complejos con metales y compuestos orgánicos sintéticos (pesticidas) haciéndolos más solubles, por lo que pueden transportarse más fácilmente en los sistemas acuáticos y los hace más difíciles de remover durante los procesos de potabilización convencionales (Sillanpaa, 2015).

En los procesos de potabilización, la MOD puede interferir en la remoción y oxidación del hierro y del manganeso, aumenta la dosis de coagulante, causa ensuciamiento en las resinas de intercambio iónico, se absorbe rápidamente en el carbón activado acelerando su saturación y dificultando la predicción de las isothermas de adsorción, acelera la colmatación de las membranas, reacciona con los desinfectantes aplicados en plantas potabilizadoras dando como resultado el aumento de su dosis, es la principal precursora de subproductos tóxicos de la desinfección y provoca problemas de corrosión y crecimiento de microorganismos en los sistemas de distribución (Hendricks, 2006; Crittenden *et al.*, 2012).

La remoción de cianobacterias del agua es importante debido a los efectos negativos que ocasionan cuando se presenta un florecimiento; que se define como el crecimiento exponencial de biomasa en un periodo corto de tiempo, también conocido como “bloom” por su nombre en inglés. El aumento de nutrientes en el agua, derivado de las actividades humanas, y los efectos del cambio climático han aumentado la frecuencia e intensidad de los florecimientos (Quiblier *et al.*, 2013). Durante un florecimiento en condiciones ideales las cianobacterias pueden duplicar su población en un día y un bloom puede durar semanas y comúnmente desaparece con la disminución de la temperatura (Pérez y Aga, 2005; Chen *et al.*, 2011; Fan, 2012; Merel *et al.*, 2013).

El principal problema de un florecimiento es la producción de cianotoxinas, por sus efectos dañinos a la salud; también impacta en la diversidad de especies, deteriora la calidad del agua (provoca turbidez, disminución del oxígeno disuelto, genera olor y sabor). En los procesos de potabilización las cianobacterias y sus metabolitos compiten para su remoción con los compuestos de MOD disminuyendo la calidad del efluente, aceleran la colmatación de filtros, membranas y de las partículas del carbón activado, incrementan las dosis de coagulante y floculantes y pueden generar MOD precursora de subproductos de la desinfección (AWWA, 2010).

1.5. Procesos y trenes de tratamiento para la remoción de MOD, cianobacterias y cianotoxinas

En la **Tabla 1.8** se presenta un resumen de los principales procesos para la remoción de MOD, cianobacterias y cianotoxinas, presentando sus ventajas y desventajas. Los procesos que pueden remover los tres contaminantes son: la coagulación-floculación, oxidación y la filtración con membranas (nanofiltración y ósmosis inversa). La mayor remoción de los tres contaminantes se obtiene aplicando filtración con membranas, sin embargo, son los procesos más costosos y se usan normalmente como pulimiento para incrementar la calidad final del agua, en particular para eliminar microcontaminantes recalcitrantes. Por otro lado, la oxidación además de ser costosa tiene la desventaja de generar subproductos tóxicos dependiendo del tipo de oxidante aplicado. Debido a lo anterior, se busca mejorar la eficiencia del proceso de coagulación-floculación, principalmente para aumentar la remoción de MOD (10-60%) y cianotoxinas (0-39%), por ser el más económico (Sillanpaa, 2015), y el de mayor aplicación en plantas potabilizadoras en México (24%), lo que equivale al 69% del agua potable producida (SEMARNAT, 2015). Debido a estas razones, se seleccionó estudiar coagulación-floculación en este trabajo de tesis.

Una alternativa para mejorar la remoción por coagulación-floculación es combinarlo con otros procesos. La preoxidación y el carbón activado son los principales pretratamientos aplicados para incrementar su eficiencia. Sin embargo, el carbón activado tiene un alto costo e incrementa la generación de lodos. En cambio, la preoxidación ha sido reportada como un proceso de fácil aplicación y bajos costos, y que es coadyuvante del proceso de coagulación-floculación debido a los mecanismos involucrados (Matilainen *et al.*, 2010; Sillanpaa, 2015).

Tabla 1.8. Procesos de tratamiento empleados para la remoción de MOD, cianobacterias y sus cianotoxinas

Proceso de tratamiento	Remoción (%)			Ventajas	Desventajas	Fuentes
	MOD	CB	CT			
Coagulación-Floculación	10-60	70-90	0-39	Bajo costo, común aplicación y remoción simultánea de MOD, CB y CT	Generación de lodos, remoción baja de CT y MOD	Hendricks, 2006; Elías Maxil, 2007; Mercado, 2007; Crittenden <i>et al.</i> , 2012; Merel, <i>et al.</i> , 2013; Sorlini <i>et al.</i> , 2013
Flotación con aire disuelto	-	95-99	Baja	Remoción de cianobacterias	Sensible a variaciones de temperatura y características de los sólidos, costo elevado	Elías Maxil, 2007; Mercado, 2007; Merel <i>et al.</i> , 2013
Microfiltración y Ultrafiltración	80-90	98	Baja	Alta eficiencia en la remoción de CB y MOD	No remueve cianotoxinas, saturación de la membrana, pretratamiento avanzado y elevados costos de operación y mantenimiento	Gijsbertsen <i>et al.</i> , 2006; Hendricks, 2006; Elías, 2007; Mercado, 2007; Crittenden <i>et al.</i> , 2012; Merel, <i>et al.</i> , 2013; Sorlini <i>et al.</i> , 2013
Nanofiltración y Ósmosis inversa	> 98	100	98	Alta eficiencia en la remoción de MOD, CB y CT	Elevados costos de operación y mantenimiento, pretratamiento especializado	Gijsbertsen <i>et al.</i> , 2006; Hendricks, 2006; Crittenden <i>et al.</i> , 2012; EPA, 2012; Merel <i>et al.</i> , 2013; Teixeira y Sousa, 2013
Filtración en arena	-	85-99	11-18 16-60 85-99	Bajo costo	Rápido ensuciamiento, requiere grandes espacios y la remoción de las cianotoxinas depende de la biopelícula en el filtro	Ramírez <i>et al.</i> , 2004; Elías, 2007; Mercado, 2007; Merel <i>et al.</i> , 2013)
Oxidación	27-75	90	11-90	Remoción simultánea de MOD, CB y CT	Depende del oxidante, genera subproductos tóxicos	Ramírez <i>et al.</i> , 2004; Hendricks, 2006; Elías, 2007; Mercado, 2007; Rocha, 2011; Crittenden <i>et al.</i> , 2012; Merel <i>et al.</i> , 2013
Carbón Activado	60-90	-	>98	Altas eficiencia de remoción de MOD y CT	Saturación del carbón, competencia con la MOD, variaciones en la eficiencia de adsorción y elevado costo	Ramírez <i>et al.</i> , 2004; Hendricks, 2006; Elías Maxil, 2007; Mercado, 2007; Crittenden <i>et al.</i> , 2012; EPA, 2012

MOD: materia orgánica disuelta, CB: cianobacterias, CT: cianotoxinas, (-) No reportado

1.6. El proceso de coagulación-floculación y la aplicación de preoxidación como coadyuvante para la remoción de MOD, MA y MC-LR

1.6.1. La coagulación-floculación

1.6.1.1. Definición

La coagulación son todas las reacciones y mecanismos involucrados en la desestabilización de partículas coloidales al añadir un reactivo químico para su posterior aglomeración en partículas de mayor tamaño (floculación) que puedan precipitar más fácilmente. La coagulación generalmente ocurre en tiempos menores a 10 s mientras que la floculación puede ir de 25 a 45 min (Metcalf y Eddy, 2003; Hendricks, 2006; Crittenden *et al.*, 2012).

1.6.1.2. Tipos de coagulantes

Los principales reactivos usados en los procesos de coagulación-floculación son las sales inorgánicas de aluminio y hierro (sulfato de aluminio, cloruro de aluminio, cloruro férrico, sulfato férrico), sin embargo, el sulfato de aluminio es el más utilizado por su bajo costo y fácil manejo (Hendricks, 2006; Crittenden *et al.*, 2012). Por lo tanto, será el coagulante empleado en este trabajo de investigación.

1.6.1.3. Mecanismos de acción del sulfato de aluminio

El pH determina el mecanismo de acción del sulfato de aluminio como coagulante. El mecanismo de neutralización de carga se presenta en el intervalo de pH de 4-6, en el que predominan las especies monoméricas y poliméricas de Al ($Al_x(OH)_y^{n+}$); consiste en la desestabilización de las partículas al adsorber los iones positivos de las especies de aluminio y facilitar su aglomeración, la cual ocurre en milésimas de segundo. El mecanismo de barrido se presenta en valores de pH comprendidos entre 6 y 8; consiste en el arrastre de las partículas por la sedimentación del hidróxido de aluminio ($Al(OH)_3$), que permite la formación de un precipitado gracias a su gran área superficial (200-300 m^2/g) y carga positiva, que brindan sitios de enlace disponibles y favorecen la adsorción de partículas con carga negativa, normalmente requiere un tiempo de 1 a 7 s (Hendricks, 2006). Cabe resaltar que pueden estar involucrados otros mecanismos como la adsorción y

formación de complejos con los iones metálicos y debido a la variación de la composición de la MOD los mecanismos pueden ser diferentes para moléculas específicas de esta (Sillanpaa, 2015).

1.6.2. La preoxidación

1.6.2.1. Definición

Se define como preoxidación a la aplicación de un oxidante al inicio de un tren de tratamiento. Es un proceso que se emplea en potabilización como coadyuvante de la coagulación-floculación en la remoción de diversos contaminantes. Su aplicación mejora las características organolépticas (olor, color y sabor) del agua, al contribuir con la eliminación de compuestos minerales, materia orgánica natural, algas y microorganismos patógenos (Meneses, 2011; Crittenden *et al.*, 2012).

1.6.2.2. Compuestos químicos usados como preoxidantes

Los compuestos químicos principalmente empleados en la preoxidación son: cloro y sus derivados, dióxido de cloro, ozono y permanganato de potasio (**Tabla 1.9**). El cloro y sus derivados son los preoxidantes más usados en potabilización por su bajo costo y aplicación; pero con la desventaja de producir olor y sabor en el agua, además de generar la mayor cantidad de subproductos tóxicos, principalmente trihalometanos y ácidos haloacéticos (Hendricks, 2006; R. Henderson *et al.*, 2008; Matilainen *et al.*, 2010; Ghernaout *et al.*, 2014).

Tabla 1.9. Ventajas y desventajas de los principales preoxidantes

Preoxidante	Ventajas	Desventajas	Potencial Redox
Ozono	Es el oxidante más fuerte, no genera color ni olor en el agua	Altos costos, reacciona con el bromo para producir subproductos bromados	2.07
Permanganato de potasio	Elimina hierro, manganeso, olor y sabor e inactiva patógenos y no promueve la formación de subproductos bromados o	Sensible a variaciones de pH, genera color en el agua, requieren mayores dosis y tiempos de contacto, es irritante para la piel y membranas	1.68

Preoxidante	Ventajas	Desventajas	Potencial Redox
Dióxido de cloro	clorados Genera menos subproductos comparado con el cloro, no reacciona con el amonio, no tiene punto que quiebre por lo que se necesitan dosis más bajas, no depende el pH, no causa olor ni sabor	mucosas Genera cloritos y cloratos, es inestable, no se puede almacenar ni transportar, es explosivo en concentraciones mayores al 10% y temperaturas mayores a 40°C	1.57
Cloro y sus derivados	Disposición, bajo costo, fácil aplicación, deja un efecto residual, inactiva patógenos	Produce olor, color, mayor generador de subproductos tóxicos, reacciona con el bromuro y la MOD para producir compuestos halogenados y es sensible al pH	1.36

Fuente: Ma *et al.* (2001); Huerta, (2011); Meneses, (2011)

Debido a los problemas que presentan los derivados del cloro, diversos preoxidantes alternativos han comenzado a ser evaluados, siendo el dióxido de cloro una opción que está tomando importancia debido a que su eficiencia no depende del pH, requiere dosis menores comparado con el cloro, no genera olor ni sabor y produce únicamente dos subproductos tóxicos: cloritos y cloratos (Aieta y Berg, 1986; Hendricks, 2006; Rodríguez *et al.*, 2007; Henderson *et al.*, 2008).

Por lo anterior, se decidió emplear el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro como preoxidantes en este trabajo de investigación, además de que ambos tienen un costo menor comparado con el ozono y no generan color como el permanganato de potasio. Cabe señalar que no se identificó ningún estudio en el que hayan investigado las propiedades de ambos reactivos como coadyuvantes para mejorar el proceso de coagulación-floculación para la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR.

1.6.3. Parámetros con influencia en el proceso de preoxidación con coagulación-floculación

El proceso de preoxidación combinado con la coagulación-floculación puede verse afectado por diversos factores como son:

- La naturaleza y propiedades de la MOD, MA y MC-LR como: solubilidad, hidrofobicidad, carga superficial y peso molecular,
- La competencia entre los tres contaminantes por el preoxidante y el coagulante,
- La temperatura; a bajas temperaturas disminuyen las reacciones,
- El pH; determina las especies de cloro (HOCl y OCl⁻), el mecanismo de coagulación y la ionización de los compuestos de la MOD y la MC-LR,
- La dosis y tipo de preoxidante y coagulante; una dosis baja afecta la eficiencia de remoción de los contaminantes mientras que una sobredosis ocasiona una re-estabilización de partículas, lisis celular o generación de MOD de menor peso molecular,
- El tiempo de contacto; determina el grado de interacción entre el preoxidante y el coagulante con los contaminantes,
- Las condiciones de mezcla hidráulica; para obtener un mezclado homogéneo y una adecuada interacción entre el preoxidante y el coagulante con los contaminantes, y
- La densidad celular y concentración inicial de MOD; si aumenta su concentración inicial se incrementa la demanda de preoxidante y coagulante (Hendricks, 2006; Merel *et al.*, 2010; Merel *et al.*, 2010b; Shen *et al.*, 2011; Crittenden *et al.*, 2012; Zamyadi *et al.*, 2012; Sillanpaa, 2015).

1.7. La preoxidación como coadyuvante del proceso de coagulación-floculación para la remoción de MOD, cianobacterias y cianotoxinas

Debe considerarse que la preoxidación aplicada para mejorar el proceso de coagulación-floculación en la remoción de MOD, cianobacterias y cianotoxinas, ha reportado efectos positivos y negativos en literatura. Por esta razón la EPA y la *Global Water Research Coalition* no recomiendan su aplicación a menos que se haga de manera controlada para

evitar la presencia de cianotoxinas en el efluente (GWRC, 2009; EPA, 2012). Esto abre un área de oportunidad debido a que, a pesar de que el proceso ha sido reportado como un mejorador de la coagulación-floculación, no se han establecido con claridad las variables de influencia y las condiciones óptimas para conseguir esta mejora.

El tiempo de contacto, la dosis y tipo de preoxidante son parámetros importantes a considerar para disminuir los efectos negativos que puede tener la preoxidación sobre la coagulación-floculación (Ma *et al.*, 2012). Sin embargo, sus valores presentan mucha variación en literatura y se corre el riesgo de provocar la transformación de los compuestos de la MOD de alto peso molecular a compuestos de bajo peso molecular que son más difíciles de remover, demandan más coagulante y son precursores de subproductos tóxicos. El mayor riesgo de las cianobacterias es que se presente lisis celular generando la liberación de las cianotoxinas y MOD intracelular, lo cual aumenta el contenido de COD y puede contener materia orgánica precursora de la formación de subproductos tóxicos, además de incrementar la demanda de coagulante (Ma *et al.*, 2012; Ghernaout *et al.*, 2014).

Para contrarrestar estos efectos negativos se ha estudiado la influencia que tienen la dosis del preoxidante y el tiempo de contacto para evitar el rompimiento celular. Estudios realizados por Fan (2012), Zamyadi *et al.* (2012) y Fan *et al.* (2013) reportan que con dosis de cloro menores a 2 mg/L y tiempos de contacto de hasta 2 minutos se provoca menos del 10% de lisis celular. Sin embargo, debe considerarse que, si bien con dosis menores no hay rompimiento celular, puede haber liberación de cianotoxinas con tiempos mayores a 2 minutos. Ma *et al.*, (2012) reportan el aumento de microcistina-LR al emplear una dosis de 0.8 mg/L de cloro durante 10 minutos.

En cuanto al dióxido de cloro, la dosis debe ser menores a 1 mg/L con tiempos inferiores a 10 minutos, debido a que con valores superiores se puede alcanzar un 95% de lisis celular y la formación de cloritos y cloratos residuales (Kull *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014).

Ma *et al.*, (2012b) reportan un aumento de 15% en la remoción de MOD (medida como COD) y de 10 a un 15% de MA, preoxidando con cloro y aplicando sulfato de aluminio en la coagulación, con una dosis de coagulante que disminuyó de 0.92 a 0.79 mg Al/mg MOD con la aplicación del preoxidante, es decir, 14% menor a la utilizada en las pruebas realizadas sin aplicar el preoxidante. Estos autores concluyeron que la mejor dosis de cloro fue de 1 mg/L, ya que, aplicando dosis superiores, los efectos fueron negativos ya que disminuyeron la remoción y se requiere una dosis mayor de coagulante. En cuanto a la remoción de cianotoxinas, no se identificó literatura relacionada con el uso de la preoxidación para aumentar su remoción por coagulación-floculación.

Algunas de las teorías propuestas de la manera como la preoxidación mejora el proceso de coagulación-floculación se describen a continuación:

- La preoxidación puede provocar una alteración o transformación de los compuestos, generando compuestos inocuos o facilitando su remoción posterior por otro proceso como coagulación-floculación (Merel, Walker, *et al.*, 2013).
- Los preoxidantes reaccionan con la MOD y, como resultado, las partículas pierden parte de su carga negativa y se desestabilizan más fácilmente cuando se usan sales metálicas, lo cual facilita la floculación. Los oxidantes pueden propiciar la precipitación de MOD al formarse grupos de ácidos carboxílicos que forman enlaces con iones de calcio y puede producir precipitación directa de la MOD (Meneses, 2011; Crittenden *et al.*, 2012).
- La preoxidación mejora la remoción de algas como resultado de la desestabilización coloidal e inactivación celular; esto último se atribuye a la acción de cuatro mecanismos: un cambio significativo en la estructura externa de la célula después de la preoxidación, la eliminación del movimiento en las especies con flagelos, la excreción de sustancias poliméricas extracelulares que ayudan a la coagulación por tener una consistencia pegajosa (al igual que los polielectrolitos aniónicos y no-aniónicos) y la degradación de materia orgánica extracelular. Estas modificaciones mejoran la agregación, sedimentación y formación de flóculos (Henderson *et al.*, 2008; Shen *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2012b).

- Los preoxidantes pueden inhibir la capacidad fotosintética de MA e inactivar la célula al atacar primeramente las glicoproteínas, glicolípidos o ciertos aminoácidos de la pared celular y el plasma de la membrana (Zhou *et al.*, 2014).
- La composición de la materia orgánica extracelular (MOE) liberada por las algas está integrada principalmente por: polisacáridos, proteínas y lípidos que podrían tener un comportamiento como polielectrolitos aniónicos y no iónicos. La MOE a bajas concentraciones se reporta que actúa formando puentes entre las partículas facilitando su remoción, sin embargo, a elevadas concentraciones afecta la coagulación, aumentando la demanda de coagulante para desestabilizar la carga de las células de las algas y formando complejos entre la materia orgánica extracelular y el coagulante, impidiendo la hidrólisis del mismo (Ma *et al.*, 2012b).

CAPITULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**2.1. Pruebas experimentales del tren de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación (P-C-F-S)**

Las pruebas experimentales de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación (P-C-F-S) se realizaron en cuatro bloques, para dar cumplimiento a cada uno de los objetivos específicos planteados (**Figura 2.1**). Se utilizó un diseño de experimentos para realizar las pruebas de los primeros dos bloques, y así identificar los factores con influencia significativa y las condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento aplicado, para cada uno de los preoxidantes, con la finalidad de lograr la máxima remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR. Mientras que, para las pruebas de los dos últimos bloques, se realizaron experimentos por duplicado reproduciendo las condiciones óptimas de operación calculadas de los factores estudiados para P-C-F-S, con la finalidad de determinar el efecto de MA y MC-LR sobre la remoción de MOD y el de la preoxidación sobre la remoción simultánea de los tres contaminantes.

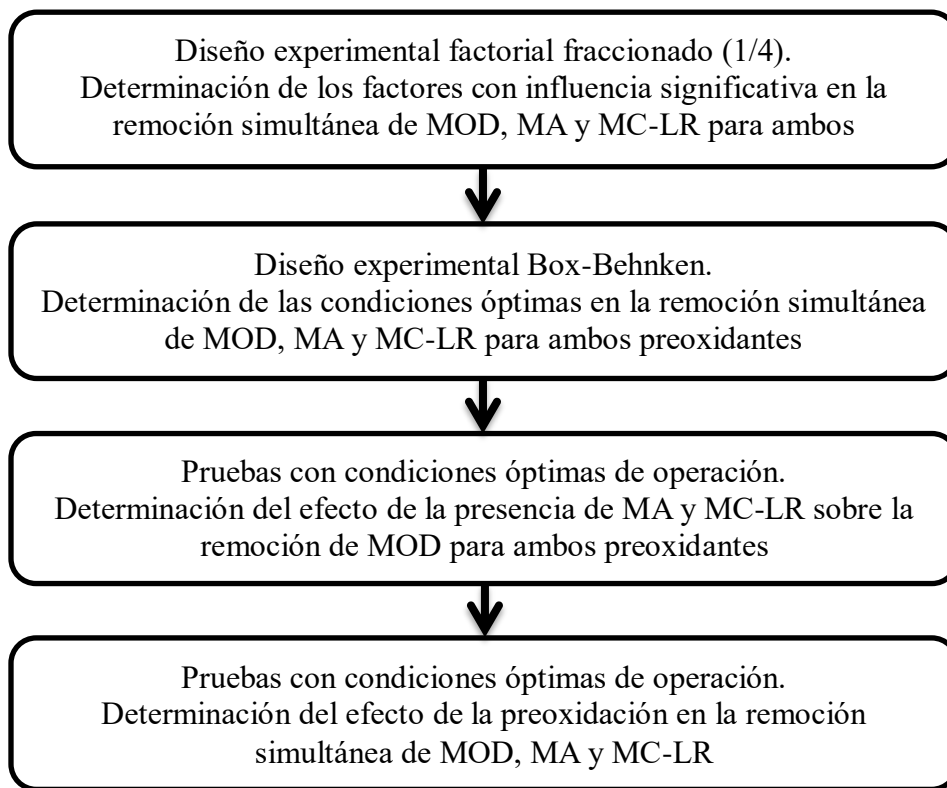


Figura 2.1. Diagrama de las pruebas experimentales de P-C-F-S

Cada bloque de pruebas inició con la preparación del agua, seguida por realización de las pruebas de jarras y finalizó con la toma de muestras para la medición de los parámetros de control.

2.1.1. Preparación del agua para pruebas experimentales

El empleo en las pruebas de muestras de agua preparada permitió controlar los valores iniciales establecidos para cada contaminante, con base en los diseños experimentales empleados, como son: la relación másica entre la fracción hidrofílica e hidrofóbica de la MOD, la alcalinidad, el pH, la turbiedad, la concentración de MC-LR y de MA. Considerando lo anterior, para la preparación de las muestras de agua se usaron los compuestos modelo de la MOD evaluados por Cerón (2016), quien con base en una revisión bibliográfica estableció la composición porcentual promedio (medida como COD) y los compuestos modelo representativos de cada fracción de la MOD en aguas superficiales a nivel mundial (**Tabla 2.1**). De igual manera, Cerón (2016) calculó la concentración másica y la aportación de COD de cada compuesto de la MOD para obtener siempre una concentración de 5 mg COD/L en el agua, pero para diferentes proporciones entre la relación hidrofóbica e hidrofílica (HPO:HPI); esto con base en el análisis de aportación porcentual promedio de COD de cada fracción de la MOD. En la **Tabla 2.2** se muestran las relaciones HPO:HPI utilizadas en este trabajo de investigación.

La preparación de 2 L de muestra de agua, utilizados en cada prueba experimental de laboratorio, consistió en seis pasos:

- 1) Se pesaron y colocaron 1.26 g de bicarbonato de sodio para obtener una alcalinidad de 750 mg/L como CaCO_3 .
- 2) Se adicionaron los compuestos de la MOD (**Tabla 2.1**) en diferentes proporciones (porcentajes de materia orgánica hidrofóbica : hidrofílica de: 80:20, 50:50 y 20:80), de acuerdo al diseño experimental, para obtener una concentración inicial de 5 mg COD/L (**Tabla 2.2**).

- 3) Se adicionó la cepa de MA en la cantidad o concentración inicial requerida en cada prueba, de acuerdo con el diseño experimental.
- 4) Se añadió el estándar de MC-LR a la concentración inicial requerida por el diseño experimental aplicado.
- 5) Se ajustó la turbiedad inicial en 5 UTN con bentonita.
- 6) Finalmente, se ajustó el pH empleando hidróxido de sodio o ácido sulfúrico; su valor inicial se estableció de acuerdo con el diseño experimental.

La concentración inicial de COD utilizada fue el valor promedio reportado para la mayoría de las fuentes superficiales de abastecimiento de agua potable, la turbiedad inicial fue el valor promedio en época de estiaje y la alcalinidad se seleccionó para evitar una variación de pH por la adición del coagulante en el proceso (Hendricks, 2006; Crittenden *et al.*, 2012).

Tabla 2.1. Composición típica de las fracciones de la MOD como COD y compuestos modelo

Fracción	% de COD	Compuesto modelo
Hidrofóbica ácida (HPOA)	47	Ácido fúlvico (70%) y húmico (30%)
Hidrofóbica básica (HPOB)	2	Anilina
Hidrofóbica neutra (HPON)	3.7	Ácido gálico
Hidrofilica ácida (HPIA)	16.3	Ácido cítrico
Hidrofilica básica (HPIB)	3	Glutación
Hidrofilica neutra (HPIN)	28	Polisucrosa

Fuente: Cerón (2016)

Tabla 2.2. Concentraciones máxicas iniciales y aportación de COD de cada compuesto modelo de la MOD para diferentes relaciones HPO:HPI

Fracción	Relación HPO:HPI					
	80:20		50:50		20:80	
	mg/L	mg COD/L	mg/L	mg COD/L	mg/L	mg COD/L
HPOA	11.13	3.57	6.96	2.23	2.77	0.89
HPOB	0.29	0.15	0.18	0.09	0.08	0.04
HPON	0.96	0.28	0.6	0.18	0.25	0.07
HPIA	1.54	0.35	3.81	0.86	6.09	1.37
HPIB	0.26	0.06	0.63	0.16	1.02	0.25
HPIN	1	0.59	2.25	1.48	3.49	2.38
MOD total	15.18	5	14.43	5	13.7	5

Fuente: Cerón (2016)

Las especificaciones de los reactivos y muestras utilizados en la preparación del agua se muestran en la **Tabla 2.3**.

Tabla 2.3. Reactivos y muestras usados en la preparación del agua

Reactivo o muestras	Características
Agua	Tipo II, resistividad 15 MΩ.cm
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Monocultivo obtenido del laboratorio de bacteriología de la FES-Iztacala de la UNAM
Microcistina-LR	Marca Cayman Chemical, pureza 95% No. CAS 101043-37-2
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	Marca J.T. Baker™ No. CAS 144-55-8
Bentonita	Marca Sigma-Aldrich No. CAS 1302-78-9
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	Marca REASOL pureza 95-98% No. CAS 7664-93-9
Hidróxido de sodio (NaOH)	Marca J.T. Baker No. CAS 1310-73-2

2.1.2. Diseño de experimentos

El diseño de experimentos es un método eficaz para planear las pruebas experimentales, debido a que minimiza tiempo y recursos. Considerando lo anterior, fue la herramienta utilizada para determinar los factores con influencia significativa y las condiciones óptimas

de operación del tren de tratamiento de P-C-F-S, aplicando por separado cada preoxidante, con el fin de lograr la máxima remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR.

Se utilizaron dos diseños experimentales. El primer diseño tuvo el objetivo de estudiar todos los factores que, con base en el conocimiento del proceso, se consideró que podían tener un efecto estadísticamente significativo sobre las variables de respuesta. El segundo diseño fue para obtener las condiciones óptimas de los factores con influencia significativa para conseguir la máxima remoción simultánea de los tres contaminantes estudiados. Las matrices experimentales y el análisis de resultados, para ambos diseños, se realizaron con el software STATGRAPHICS.

Para fines del diseño de experimentos debe entenderse por:

- **Variable de respuesta:** el efecto o resultado de cada prueba experimental que mide el desempeño del proceso.
- **Factor:** cualquier variable que se investiga cómo influye o afecta las variables de respuesta y que puede ser controlado manipulando su nivel de operación (es necesario probar al menos dos niveles).
- **Niveles de operación:** valores asignados a cada factor estudiado en un diseño experimental (Gutierrez y de la Vara, 2008).

2.1.2.1. Variables de respuesta para los diseños experimentales

Las variables de respuesta fueron: los porcentajes de remoción de MA, MOD y MC-LR. Se seleccionaron estas variables debido a que el objetivo es obtener las condiciones óptimas para su remoción simultánea, así como, evaluar el efecto de la preoxidación como coadyuvante para eliminación de estos contaminantes.

2.1.2.2. Factores y sus niveles para los diseños experimentales

La selección de los factores se hizo con base en un análisis de información publicada en la literatura. En la **Tabla 2.4** se presentan los factores evaluados y sus valores para el nivel bajo (-1), el nivel alto (1) y el punto central (0).

Los factores y la justificación correspondiente para la selección de los valores se presentan a continuación:

- **pH:** Se estudió su efecto debido a que el valor de este factor determina las especies de aluminio, el mecanismo de coagulación, la especiación del NaOCl y la ionización de los diferentes grupos funcionales de la MOD, MA y la MC-LR (Rivasseau et al., 1998; Hendricks, 2006; Merel et al., 2010; Zhang et al., 2012). Los valores seleccionados de pH se encuentran en el intervalo que marca la normatividad para agua potable y en el de mejor desempeño del sulfato de aluminio.
- **Dosis inicial de coagulante ([Coagulante]₀):** Se evaluó este factor debido a que la cantidad agregada de coagulante determina el grado de desestabilización de partículas y la formación de complejos para su posterior remoción. Una subdosificación de este reactivo representa que no hay suficiente para realizar la desestabilización de los coloides y, una sobredosis provoca una re-estabilización de estos, por lo que en ambos casos la remoción se ve mermada. El límite máximo de la dosis de aluminio se estableció considerando que es el valor típico aplicado para concentraciones iniciales de COD de hasta 10 mg/L (de Vargas, 2004; Hendricks, 2006; Cerón, 2016).
- **Relación hidrofóbica:hidrofílica (HPO:HPI) de la MOD en agua:** Se estudió debido a que la concentración de compuestos con características hidrofóbicas, con respecto a los hidrofílicos, es variable en todos los cuerpos de agua y esto impacta la eficiencia de remoción. En las pruebas, se evaluó la variación típica de la relación entre ambas fracciones (Hendricks, 2006; Sillanpaa, 2015; Cerón, 2016)
- **Concentración inicial de MA ([MA]₀):** Se estudió el efecto de este factor debido a que en la literatura se reporta que su presencia en agua superficial afecta la eficiencia de remoción de los procesos convencionales de tratamiento y para compensar esta disminución se debe aumentar la dosis de coagulante y preoxidante; además, este microorganismo libera cianotoxinas y compuestos precursores de subproductos de la desinfección. Se trabajó con la concentración mínima a la cual debe aplicarse tratamiento al agua superficial (según la OMS) y la concentración máxima reportada en la principal fuente de abastecimiento para la potabilizadora más grande del país (WHO, 1999; Gaytan et al., 2011; Alillo et al., 2014)

- **Concentración inicial de MC-LR ([MC-LR]₀):** Se estudió este factor debido a que existe poca información sobre la capacidad de remoción por este proceso y compete en la remoción con los compuestos de la MOD. En las pruebas realizadas la concentración inicial disuelta de MC-LR se mantuvo constante, y su valor fue el máximo reportado en un cuerpo de agua para abastecer a la planta potabilizadora más grande de México (Alillo et al., 2014).
- **Dosis inicial y tipo de preoxidante ([ClO₂]₀ o [NaOCl]₀):** Se seleccionó este factor debido a la controversia que existe sobre su efecto como mejorador del proceso de coagulación-floculación y para comparar las eficiencias entre el ClO₂ y el NaOCl. Las dosis máximas de NaOCl y ClO₂ se seleccionaron considerando evitar la lisis celular de MA y por lo tanto la liberación de materia orgánica y cianotoxinas, lo que provocaría un mayor riesgo sanitario y un incremento de la demanda de coagulante. Con dosis de cloro de 2 mg/L, en un minuto se provoca un 10% de lisis, sin embargo, si la dosis aumenta a 3 mg/L, más del 90% de las células se pueden romper (Fan, 2012; Fan et al., 2013). En cuando al dióxido de cloro, con una dosis de 1 mg/L y un minuto de contacto puede presentarse más de un 95% de lisis (Fan et al., 2013; Zhou et al., 2014).

Tabla 2.4. Valores reales y codificados de los factores evaluados en el diseño factorial fraccionado para la remoción de MOD, MA y MC-LR por los procesos de P-C-F-S

Factores	Unidades	Nivel			Fuente
		-1	0	1	
[MC-LR] ₀	µg/L	1.5	3.25	5	Alillo <i>et al.</i> , 2014
[Coagulante] ₀	Mg Al/L	3.6	8.55	13.5	Cerón, 2016
pH	pH	5	6.5	8	Cerón, 2016
[MA] ₀	céls/mL	20000	60000	100000	WHO, 1999
HPO:HPI	:%	80:20	50:50	20:80	Cerón, 2016
[ClO ₂] ₀	mg/L	0.1	0.505	1	Zhou <i>et al.</i> , 2014
[NaOCl] ₀	mg/L	0.25	1.125	2	Zamyadi <i>et al.</i> , 2012

2.1.2.3. Diseño factorial fraccionado

Para determinar los factores con influencia significativa en el proceso, se utilizó un diseño factorial fraccionado ($2^{k-p} + n_c$), donde: el número “2” indica los niveles (-1 y +1), la “k” es

el número de factores, la “p” indica la fracción y la “n_c” son el número de repeticiones de la prueba del punto central (0). Este tipo de diseños se aplican como una estrategia para estudiar la mayor cantidad de factores, reduciendo de manera importante el número de experimentos y, al mismo tiempo, se pierda el mínimo de información valiosa. Esto se logra utilizando diseños factoriales fraccionados que tengan alta resolución; esta característica indica que tan bien pueden estimarse los efectos potencialmente importantes mediante tal diseño (Gutierrez y de la Vara, 2008).

Considerando lo anterior se evaluó el efecto de seis factores (**Tabla 2.4**), realizando tres repeticiones o réplicas del punto central, y utilizando un cuarto del diseño factorial completo, lo que representa un total de 19 pruebas experimentales por preoxidante ($2^{6-2} + 3$). Debido a que el diseño experimental utilizado fue de resolución IV, se pudieron estimar los efectos principales de cada factor, ya que no existe confusión entre ellos ni con las interacciones dobles; por lo tanto, se cumple el objetivo de identificar los factores con influencia significativa en el proceso. Por otra parte, las réplicas del punto central permiten evaluar la existencia de curvatura, que indica la necesidad de utilizar un modelo orden mayor para obtener un mejor ajuste (Gutierrez y de la Vara, 2008).

2.1.2.4. Diseño de superficie de respuesta

Para determinar las condiciones óptimas se realizó un diseño de superficie de respuesta tipo Box-Behnken ($2^k + 2k + n_c$), donde: el número “2” indica los niveles (-1 y +1), la “k” es el número de factores y la “n_c” son el número de repeticiones de la prueba del punto central (0). Este tipo de diseño tiene la característica de no incluir puntos extremos, ya que por limitaciones técnicas, físicas o tecnológicas no se pueden realizar, además, es una buena alternativa porque tiene un número competitivo de tratamientos. Se utilizó este tipo de diseño, en lugar de un central compuesto (DCC), debido a que los puntos axiales del DCC se localizaban fuera de la región de operatividad en la que el proceso podía ser evaluado (Gutierrez y de la Vara, 2008).

2.1.3. Pruebas de jarras del tren compuesto por P-C-F-S

Las pruebas de P-C-F-S se realizaron a escala de laboratorio en un equipo de jarras (Equipo JARTESTER PB 700 PHIPPS & BIRD), y basándose en una modificación a la técnica estandarizada ASTM D2035-80. La secuencia de las pruebas inició con la preoxidación, seguida de la coagulación, posteriormente la floculación y finalizó con la sedimentación **Tabla 2.5**. La duración de cada una de las pruebas y los gradientes de velocidad de mezclado aplicados se mantuvieron constantes por los motivos siguientes:

- El tiempo de preoxidación se fijó en 10 s, considerando el tiempo aplicado en las plantas potabilizadoras “Los Berros” (Ortiz, 2011) y la planta de “Madín” (Felix, 2010), y el gradiente fue establecido considerando el mejor tiempo de mezclado determinado por Cerón (2016).
- El gradiente de coagulación se mantuvo constante debido a que Cerón (2016) determinó que no era un parámetro con influencia significativa en la remoción de MOD y, además, determinó que con 1 s de coagulación se forman flóculos de mejor peso y tamaño.
- La duración y gradientes de floculación fueron establecidos considerando los tiempos aplicados en la planta potabilizadora de “Los Berros” (Ortiz, 2011) y los resultados de Cerón (2016), quien determinó que el mejor gradiente de floculación fue de 100 s^{-1} .
- La sedimentación se fijó considerando que los flóculos formados con sulfato de aluminio precipitan en tiempos menores a dos horas (Hendricks, 2006).

Tabla 2.5. Parámetros fijos en las pruebas de P-C-F-S

Parámetro	Tiempo	Gradiente
Preoxidación	10 s	600 s^{-1} (273 rpm)
Coagulación	1 s	600 s^{-1} (273 rpm)
Floculación	5 min	100 s^{-1} (82 rpm)
	5 min	42 s^{-1} (45 rpm)
	10 min	25 s^{-1} (30 rpm)
Sedimentación	30 min	-

Para cada prueba experimental se empleó como coagulante el sulfato de aluminio y como preoxidantes el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro **Tabla 2.6**.

Tabla 2.6. Reactivos utilizados en las pruebas de P-C-F-S

Reactivo	Características
Sulfato de aluminio $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	Pureza de 99% marca J.T. Baker™. CAS: 7784-31-8
Hipoclorito de sodio (NaOCl)	5.25% v/v marca Golden Bell CAS: 7681-52-9
Dióxido de Cloro (ClO_2)	Generado a partir de*: NaOCl 5.25% v/v marca Golden Bell CAS: 7681-52-9 NaOCl ₂ 25% v/v marca Golden Bell CAS: 7758-19-2 HCl pureza 36.5-38% marca J.T. Baker™ CAS: 7647-01-0

* El método para la generación de dióxido de cloro se describe a detalle en el **ANEXO III**

Al final de cada prueba se colectaron muestras del agua clarificada para medir los parámetros de control y determinar la calidad del agua tratada (**Tabla 2.7**). En los **ANEXOS IV al VII** se presenta una descripción y/o especificaciones de las técnicas más complejas: la extracción y cuantificación de MC-LR (**ANEXO IV**), la curva de calibración para la cuantificación de COD (**ANEXO V**), la determinación del índice de Willcomb y tamaño de los flóculos (**ANEXO VI**) y finalmente el cultivo y cuantificación de MA (**ANEXO VII**).

Tabla 2.7. Parámetros de control medidos en las pruebas de P-C-F-S

Parámetro	Técnica	Materiales y/o Equipos
Microcistina-LR	Concentración por extracción fase sólida y cuantificación HPLC-detector de fotodiodos	Cartuchos STRATA-X
pH	APHA 4500H+B	Multiparámetro: Thermo Orion 3 Star
Color	Método 8025 HACH	Espectrofotómetro: HACH DR/4000U
Turbiedad	APHA 2130B	Turbidímetro: TURBIQUANT 1100 IR
Carbono orgánico disuelto (COD)	APHA método 5310B	Analizador: TOC-L CSH Shimadzu
Cloro residual	Método DPD basado en el método estándar 4500-Cl G.	Reactivos de cloro libre: HANNA (HI 93701-0); Fotómetro de cloro libre: HANNA (HI 96701)
Dióxido de cloro	Método DPD basado en el método estándar 4500 ClO ₂ D.	Reactivos DPD de cloro libre: marca HACH; Espectrofotómetro: HACH DR 3900
Estructura y calidad de los flóculos formados	Índice de Willcomb	-
Densidad de <i>Microcystis aeruginosa</i>	Conteo celular con hemocitómetro	Hemocitómetro (Cámara de Neubauer); Microscopio óptico Olympus CX31 RTSF

APHA: American Public Health Association; ASTM: American Society for Testing and Materials

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MOD, MA y MC-LR empleando como preoxidantes el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro (diseño factorial fraccionado)

Antes de realizar las pruebas fue necesario verificar si las dosis, la agitación y el tiempo de contacto seleccionados para ambos preoxidantes no provocaban el rompimiento celular de MA.

Para evaluar el daño celular, las muestras fueron preoxidadas usando la dosis más alta de ambos preoxidantes durante 10 s, la reacción se detuvo con ácido ascórbico (con la relación mostrada en el ANEXO XVII **Tabla XVII.1**), y posteriormente se observaron en un microscopio óptico a 40x (Olympus CX31 RTSF). Debido a que no se observó rompimiento celular ni daño aparente sobre la pared celular se continuó con la experimentación (**Figura 3.1**).

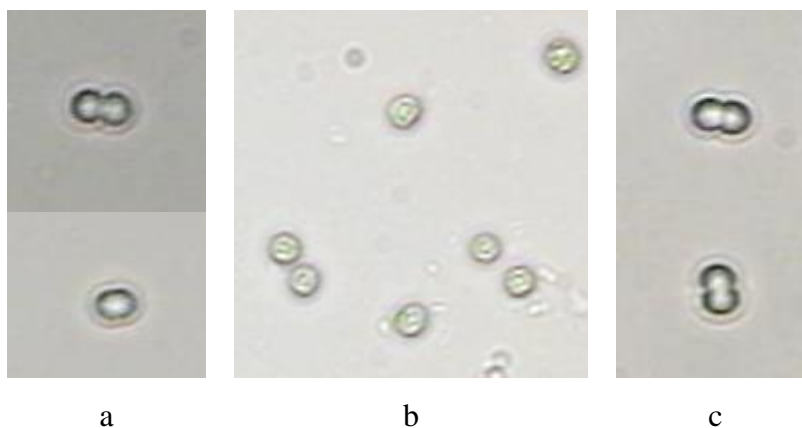


Figura 3.1. *Microcystis aeruginosa* (40x):
a) 1 mg/L ClO₂; b) sin preoxidación; c) 2 mg/L de NaOCl

3.1.1. Factores con influencia significativa en tren tratamiento compuesto por P-C-F-S para cada preoxidante

Las 19 pruebas experimentales, para cada preoxidante, fueron realizadas de manera aleatoria para repartir equitativamente los efectos ambientales y temporales entre los tratamientos. La matriz que muestra la secuencia de los experimentos y los resultados de la

remoción simultánea obtenida en cada prueba se presentan en las **Tablas 3.1 y 3.2**. La remoción se obtuvo de restar la concentración inicial menos la concentración final, en el agua, de cada contaminante.

Estos resultados fueron sometidos a un análisis estadístico para determinar los factores con influencia significativa sobre la remoción simultánea de los contaminantes estudiados. Las herramientas utilizadas para este análisis fueron: el diagrama de Pareto, el análisis de varianza ANOVA (acrónimo en inglés), la verificación de los supuestos del modelo y la prueba de falta de ajuste; los cuales se describen a continuación. Tanto la matriz del diseño experimental, como el análisis estadístico de los resultados experimentales se obtuvieron utilizando el software STATGRAPHICS.

El diagrama de Pareto permite visualizar la magnitud con la que impacta cada uno de los factores sobre la variable de respuesta y determinar los que tengan influencia significativa; que son todos aquellos cuyas barras superan la línea trazada a la altura del valor crítico. El ANOVA también permite detectar los factores con influencia significativa; siendo todos aquellos cuyo valor-P sea menor al nivel de significancia (α). La validez de los resultados del ANOVA está sujeta al cumplimiento de los supuestos del modelo (Gutiérrez y de la Vara, 2008). Los supuestos del modelo son: normalidad, varianza constante o de tratamientos e independencia. Si estos supuestos se cumplen, los residuos corresponden a los de una muestra aleatoria de distribución normal con media cero y varianza constante; siendo los residuos la diferencia entre la respuesta observada y la respuesta predicha o estimada por el modelo. Esto valida la calidad de ajuste del modelo estadístico, es decir, que tan bien son descritos los datos por ese modelo (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

La prueba de falta de ajuste es una prueba adicional que también permite evaluar la calidad del ajuste del modelo, en particular demuestra si el orden del modelo es el adecuado para describir el comportamiento de la respuesta o es necesario utilizar un modelo de orden mayor, para lo cual se plantea como hipótesis nula " H_0 : el modelo se ajusta de manera adecuada a los datos" y como hipótesis alterna " H_A : El modelo no se ajusta en forma satisfactoria". Para realizar esta prueba es necesario haber hecho réplicas, al menos del

punto central. La falta de ajuste es estadísticamente significativa cuando se rechaza la hipótesis nula debido a que su valor- $P < \alpha$, lo es un claro indicio de curvatura (Gutierrez y de la Vara, 2008).

3.1.1.1. Factores con influencia significativa en la remoción de la MOD

La **Figura 3.2** ilustra los diagramas de Pareto para la remoción de la MOD, cuantificada como carbono orgánico disuelto (COD), utilizando NaOCl y ClO₂, en los que se identifica que los factores con influencia significativa en el tren de tratamiento para la aplicación de ambos preoxidantes, fueron: la dosis de coagulante, la relación HPO:HPI y el pH.

La dosis de coagulante presentó un efecto positivo para la remoción de la MOD utilizando ambos preoxidantes; esto significa que a medida que este factor aumente, dentro del intervalo de dosis evaluado, mayor será la remoción, sin embargo, se debe considerar que dosis mayores de ese intervalo pueden producir una sobredosificación que cause el efecto contrario. La dosis de coagulante fue el factor que tuvo la mayor magnitud de influencia, esto se debe a que el sulfato de aluminio desestabiliza las partículas coloidales y permite la formación de complejos con los contaminantes para su posterior remoción del agua (Hendricks, 2006)

El efecto de la relación HPO:HPI fue negativo utilizando ambos preoxidantes, es decir, que a mayor concentración de materia orgánica hidrofóbica mayor remoción. Esto concuerda con lo reportado en la literatura, y se debe a que esta fracción está compuesta principalmente por sustancias húmicas que tienen alto peso molecular. Estos compuestos presentan estructuras fenólicas, dobles enlaces conjugados y grupos carboxilo que tienen una alta afinidad para ser removidos empleando sales de aluminio (Zhang *et al.*, 2012; Sillanpaa, 2015).

Tabla 3.1. Diseño factorial: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando NaOCl

# Prueba	[NaOCl]o (mg/L)	[Coagulante]o (mgAl/L)	[MC-LR]o (µg/L)	[MA]o (céls/mL)	HPO:HPI (%:%)	pH	Remoción de MOD (mgCOD/L)	Remoción de MA (céls/mL)	Remoción de MC-LR (µg/L)
Jarra 1	2	3.6	1.5	20000	20:80	5	1.73	15000	1.24
Jarra 2	1.125	8.55	3.25	60000	50:50	6.5	2.13	43333	1.15
Jarra 3	0.25	13.5	5	20000	80:20	5	2.05	20000	3.91
Jarra 4	2	3.6	1.5	100000	20:80	8	1.14	96666	0.05
Jarra 5	2	13.5	5	20000	20:80	5	1.67	0	5.00
Jarra 6	2	3.6	5	20000	80:20	8	0.12	13333	4.96
Jarra 7	2	3.6	5	100000	80:20	5	2.18	115000	4.39
Jarra 8	0.25	3.6	5	20000	20:80	8	1.08	23333	4.98
Jarra 9	0.25	3.6	1.5	100000	80:20	8	0.77	43333	0.16
Jarra 10	0.25	3.6	5	100000	20:80	5	1.54	41666	4.59
Jarra 11	0.25	13.5	1.5	100000	20:80	5	1.47	26666	1.50
Jarra 12	1.125	8.55	3.25	60000	50:50	6.5	2.11	53333	1.08
Jarra 13	0.25	13.5	5	100000	80:20	8	2.68	101111	3.03
Jarra 14	0.25	13.5	1.5	20000	20:80	8	1.66	26666	0.24
Jarra 15	0.25	3.6	1.5	20000	80:20	5	2.14	15000	1.46
Jarra 16	2	13.5	1.5	100000	80:20	5	1.80	106666	1.44
Jarra 17	1.125	8.55	3.25	60000	50:50	6.5	2.18	36666	1.08
Jarra 18	2	13.5	5	100000	20:80	8	1.87	130000	0.77
Jarra 19	2	13.5	1.5	20000	80:20	8	2.51	16666	1.00

Tabla 3.2. Diseño factorial: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando ClO₂

# Prueba	[ClO ₂] ₀ (mg/L)	[Coagulante] ₀ (mgAl/L)	[MC-LR] ₀ (µg/L)	[MA] ₀ (céls/mL)	HPO:HPI (%:%)	pH	Remoción de MOD (mgCOD/L)	Remoción de MA (céls/mL)	Remoción de MC-LR (µg/L)
Jarra 1	1	3.6	1.5	20000	20:80	5	1.48	20000	1.43
Jarra 2	0.55	8.55	3.25	60000	50:50	6.5	1.90	56667	0.75
Jarra 3	0.1	13.5	5	20000	80:20	5	2.36	20000	4.97
Jarra 4	1	3.6	1.5	100000	20:80	8	0.75	50000	0.50
Jarra 5	1	13.5	5	20000	20:80	5	1.71	6667	5.00
Jarra 6	1	3.6	5	20000	80:20	8	0.62	10000	1.11
Jarra 7	1	3.6	5	100000	80:20	5	2.50	123333	5.00
Jarra 8	0.1	3.6	5	20000	20:80	8	0.19	10000	0.87
Jarra 9	0.1	3.6	1.5	100000	80:20	8	0.43	43333	0.48
Jarra 10	0.1	3.6	5	100000	20:80	5	1.66	30000	2.72
Jarra 11	0.1	13.5	1.5	100000	20:80	5	2.18	80000	1.50
Jarra 12	0.55	8.55	3.25	60000	50:50	6.5	1.76	40000	0.82
Jarra 13	0.1	13.5	5	100000	80:20	8	2.60	80000	3.32
Jarra 14	0.1	13.5	1.5	20000	20:80	8	1.24	3333	0.30
Jarra 15	0.1	3.6	1.5	20000	80:20	5	1.71	20000	1.27
Jarra 16	1	13.5	1.5	100000	80:20	5	2.18	103333	0.00
Jarra 17	0.55	8.55	3.25	60000	50:50	6.5	1.89	60000	0.75
Jarra 18	1	13.5	5	100000	20:80	8	1.17	30000	1.13
Jarra 19	1	13.5	1.5	20000	80:20	8	2.58	20000	1.11

El pH mostró una influencia significativa de tipo negativo con ambos preoxidantes, es decir, a menor pH mayor remoción de la MOD; esto se debe a que este parámetro determina el tipo de especies de aluminio presentes en el medio de reacción, el mecanismo de coagulación, la especiación del NaOCl y la ionización de los diferentes grupos funcionales de la MOD, MA y la MC-LR (Hendricks, 2006; Merel *et al.*, 2010; Rivasseau *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2012); por lo tanto, a valores ácidos de pH la remoción se puede ver favorecida debido a que predominan las especies poliméricas de Al que presentan una mayor densidad de carga positiva con respecto a las especies monoméricas; también se incrementa la concentración del ácido hipocloroso (HOCl), que es la especie más reactiva de la hidrólisis de NaOCl, disminuye la estabilidad de MA y aumenta la disociación de los compuestos de la MOD y la MC-LR (Meneses, 2011; Cerón *et al.*, 2016; Rivasseau *et al.*, 1998; Hadjoudja *et al.*, 2010).

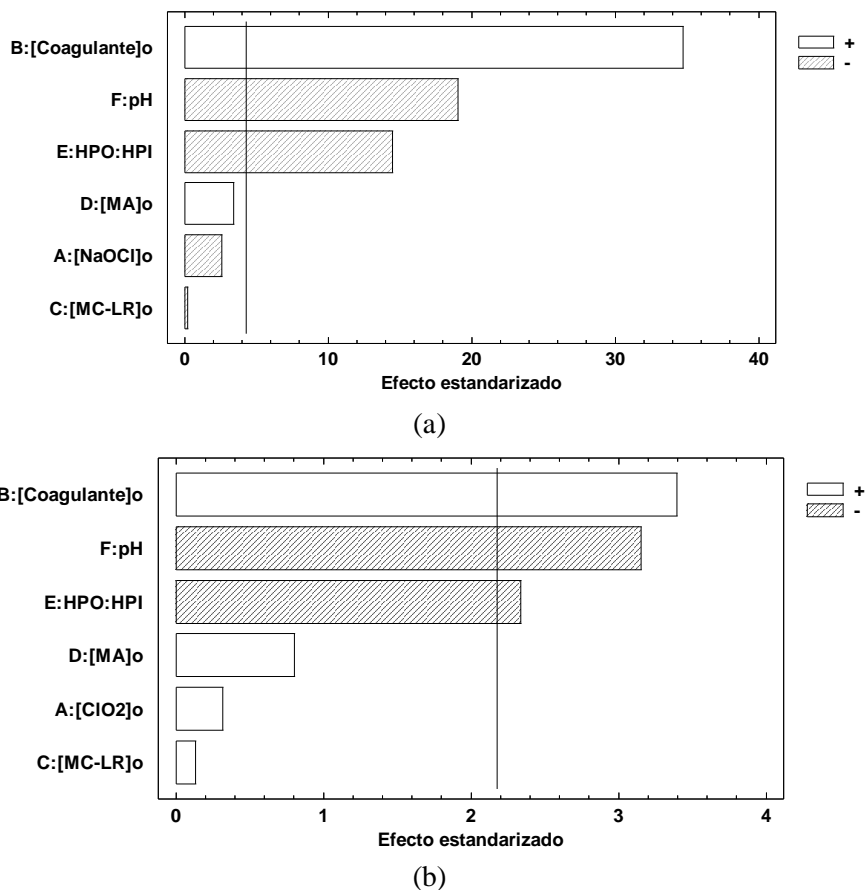


Figura 3.2. Diagramas de Pareto para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MOD por P-C-F-S utilizando: a) NaOCl y b) ClO₂ como preoxidantes

Los resultados del ANOVA (**Tabla 3.3**), confirman que los factores con influencia significativa en el tren de tratamiento para la remoción de MOD preoxidando con NaOCl fueron: la dosis de coagulante, la relación HPO:HPI y el pH, ya que su valor-P es menor a 0.05. De la misma manera, en el **ANEXO VIII** se presenta el ANOVA que confirma que estos mismos factores tuvieron influencia significativa preoxidando con ClO₂.

Tabla 3.3. ANOVA de los datos de remoción de MOD utilizando NaOCl como preoxidante

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:[NaOCl] _o	0.00855625	1	0.00855625	6.58	0.1242
B:[Coagulante] _o	1.56876	1	1.56876	1206.74	0.0008
C:[MC-LR] _o	0.00005625	1	0.00005625	0.04	0.8545
D:[MA] _o	0.0150062	1	0.0150062	11.54	0.0768
E:HPO:HPI	0.273006	1	0.273006	210.00	0.0047
F:pH	0.472656	1	0.472656	363.58	0.0027
Error total	0.0026	2	0.0013		
Total (corr.)	6.91172	18			

Posteriormente, los resultados del ANOVA fueron validados verificando el cumplimiento de los supuestos del modelo para determinar la calidad de su ajuste. Se utilizó un procedimiento gráfico, en el cual, cuando uno o dos puntos no presentan el comportamiento esperado, se puede tratar de un punto aberrante y no de la violación del supuesto en cuestión, lo recomendable es estudiar estas medidas atípicas ya que estos puntos afectan sensiblemente los resultados del análisis y están asociados principalmente a error experimental (Gutiérrez y de la Vara, 2008). A continuación, se muestra la validación de los análisis de varianza para ambos preoxidantes:

a) Verificación de los supuestos del ANOVA para la preoxidación con NaOCl:

La normalidad de los datos se verificó mediante el gráfico de probabilidad normal (**Figura 3.3**). Este supuesto se cumple si los residuos tienden a quedar colocados en una línea recta; el ajuste no tiene que ser perfecto, dado que el análisis de varianza permite pequeñas y moderadas desviaciones al supuesto de normalidad (Gutierrez y de la Vara, 2008). En este caso, la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento del

supuesto de normalidad. Únicamente se observan dos datos que se consideran aberrantes porque se alejan sensiblemente de la recta, pero no comprometen el cumplimiento del supuesto.

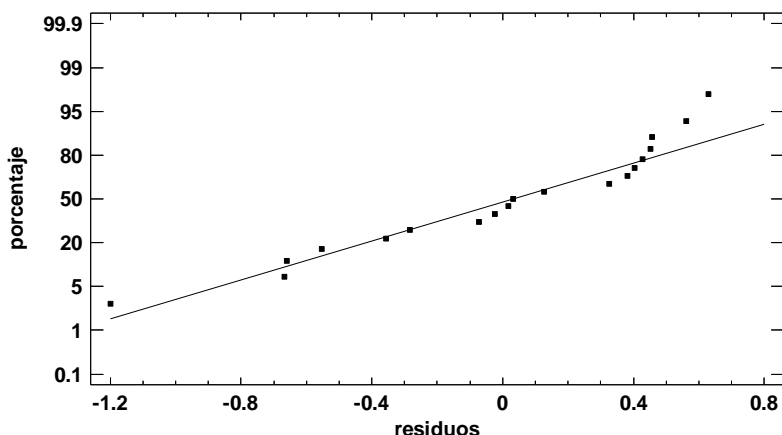


Figura 3.3. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

La varianza constante se verificó en el gráfico de residuos en función de los valores estimados por el modelo (**Figura 3.4**). El supuesto se cumple si los puntos se distribuyen de manera aleatoria en una línea horizontal sin ningún patrón claro o contundente (por ejemplo: forma de corneta o embudo). En la interpretación de este gráfico debe considerarse que las pequeñas diferencias no son significativas (Gutierrez y de la Vara, 2008). Para los datos de remoción de la MOD, en la **Figura 3.4** se pudo comprobar la varianza constante al observar que los puntos cayeron aleatoriamente sin presentar una tendencia.

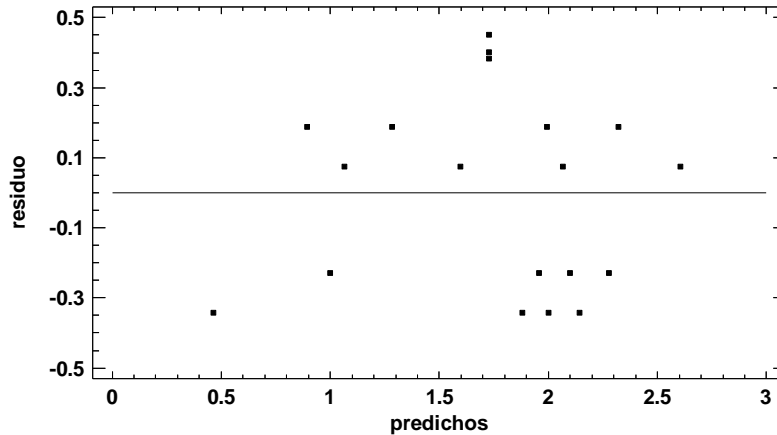


Figura 3.4. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

La independencia se verificó con el gráfico de residuos respecto al orden de ejecución (**Figura 3.5**). El supuesto se cumple cuando el comportamiento de los puntos es aleatorio dentro de la línea horizontal. La violación a este supuesto indica: deficiencias en la planeación y ejecución de los experimentos, que no se cumplió el principio de aleatorización, o bien, que conforme se fueron realizando las pruebas aparecieron factores que afectaron la respuesta observada (Gutierrez y de la Vara, 2008). Como puede observarse en la **Figura 3.5**, no se presentó un patrón determinado ya que los puntos se registraron aleatoriamente, cumpliendo este supuesto y estableciendo que la aleatorización se aplicó de manera correcta.

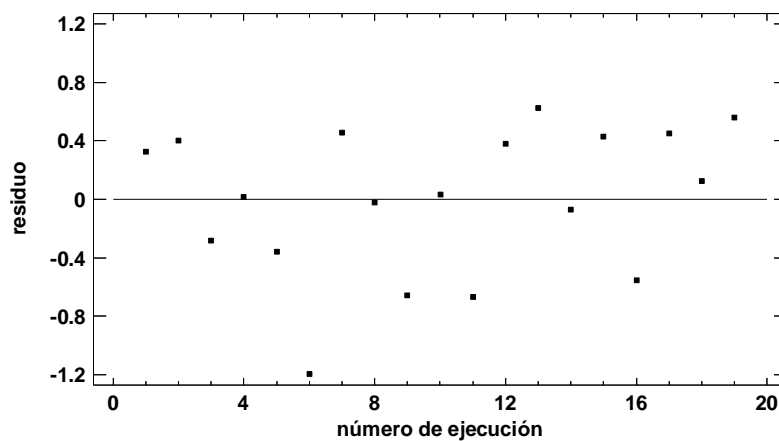


Figura 3.5. Independencia en los residuos de los datos de remoción de la MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

Una vez validados los resultados del ANOVA al cumplirse todos los supuestos del modelo, el siguiente paso fue verificar la curvatura con la prueba de falta de ajuste. Se obtuvo que la falta de ajuste, para la preoxidación con NaOCl, fue estadísticamente significativa, ya que su valor-P = 0.0028 fue menor a 0.05, lo que es un claro indicio de curvatura. Por lo tanto, se requiere aplicar un diseño de segundo orden para obtener un modelo que tenga un mejor ajuste en la descripción de la variación de la respuesta.

b) Verificación de los supuestos para la preoxidación con ClO₂:

Se siguió el mismo procedimiento para la validación del ANOVA obtenido en las pruebas de tratamiento utilizando ClO₂ como preoxidante; todos los supuestos se cumplieron de manera satisfactoria, y las gráficas que lo avalan se presentan en el **ANEXO IX**. La prueba de falta de ajuste en estas pruebas fue estadísticamente significativa con un valor-P = 0.0208, lo cual indica la presencia de curvatura y, por lo tanto, la necesidad de obtener un modelo de orden mayor.

3.1.1.2. Factores con influencia significativa en la remoción de MA

En cuanto a la remoción de *M. aeruginosa* se presentan los diagramas de Pareto para las pruebas realizadas aplicando todos los procesos del tren de tratamiento y utilizando NaOCl y ClO₂ como preoxidantes (**Figura 3.6**).

La concentración inicial de MA fue el principal factor con influencia significativa utilizando ambos preoxidantes; cabe señalar que fue el único que tuvo influencia cuando se utilizó NaOCl. Para los dos preoxidantes su efecto fue positivo, es decir, la remoción de MA se incrementó en función del aumento de su concentración inicial (a mayor concentración inicial mayor remoción).

La magnitud de este factor fue significativamente mayor respecto a la de los demás factores, como puede observarse en la **Figura 3.6**. Gutiérrez y de la Vara (2008) señalan que cuando se presentan estas condiciones en el nivel superior del parámetro en estudio, en este caso la concentración inicial MA, pudo haber sido demasiado bajo para observar un

efecto significativo de los demás factores y, por lo tanto, se recomienda aumentarlo. Sin embargo, en este caso difícilmente pueden encontrarse concentraciones de MA superiores al valor estudiado, debido a que las concentraciones máximas de algas reportadas para el embalse de Valle de Bravo, que abastece a la planta potabilizadora más grande del país, han alcanzado valores máximos de 1×10^5 céls/mL (octubre 2000 y abril 2001) y 1.4×10^5 céls/mL (junio de 2010) (Alillo *et al.* 2014; Gaytan *et al.*, 2011). Además, la Organización Mundial de la Salud recomienda que para que un cuerpo de agua pueda utilizarse como fuente de abastecimiento para agua potable no debe superar concentraciones de 1×10^5 céls/mL (WHO, 1999). Por lo anterior, para las pruebas de optimización se decidió mantener constante el valor de este factor, en la concentración máxima utilizada que fue de 1×10^5 céls/mL.

Para el caso particular de las pruebas utilizando una preoxidación con ClO_2 , además de la concentración inicial de MA, también tuvo influencia significativa la relación HPO:HPI con un efecto negativo, indicando que, a mayor contenido de materia orgánica hidrofóbica, mayor remoción de MA. Se debe considerar que: según lo reportado en literatura, esta fracción es la más fácil de remover (Zhang *et al.*, 2012; Sillanpaa, 2015).

En las pruebas en las que predominó la materia orgánica hidrofóbica, con base en el índice de Willcomb, se determinó que se formaron mejores flóculos, lo que pudo haber contribuido a mejorar la remoción de MA. En los experimentos con el nivel alto de hidrofobicidad (80%) y la dosis alta de coagulante (13.5 mg Al/L), se obtuvo un índice de Willcomb de 6, es decir flóculos grandes que precipitan con lentitud y con un tamaño entre 0.5-2.25 mm, e incluso con la aplicación de la dosis baja de coagulante (3.6 mgAl/L), los flóculos tuvieron índices de hasta 6 y tamaños de 0.3-2.25 mm. Mientras que, cuando predominó la fracción hidrofílica (80%) los flóculos formados alcanzaron un índice de 2, es decir, flóculos muy pequeños de tamaño entre 0.3 a 0.5 mm (**ANEXO X**).

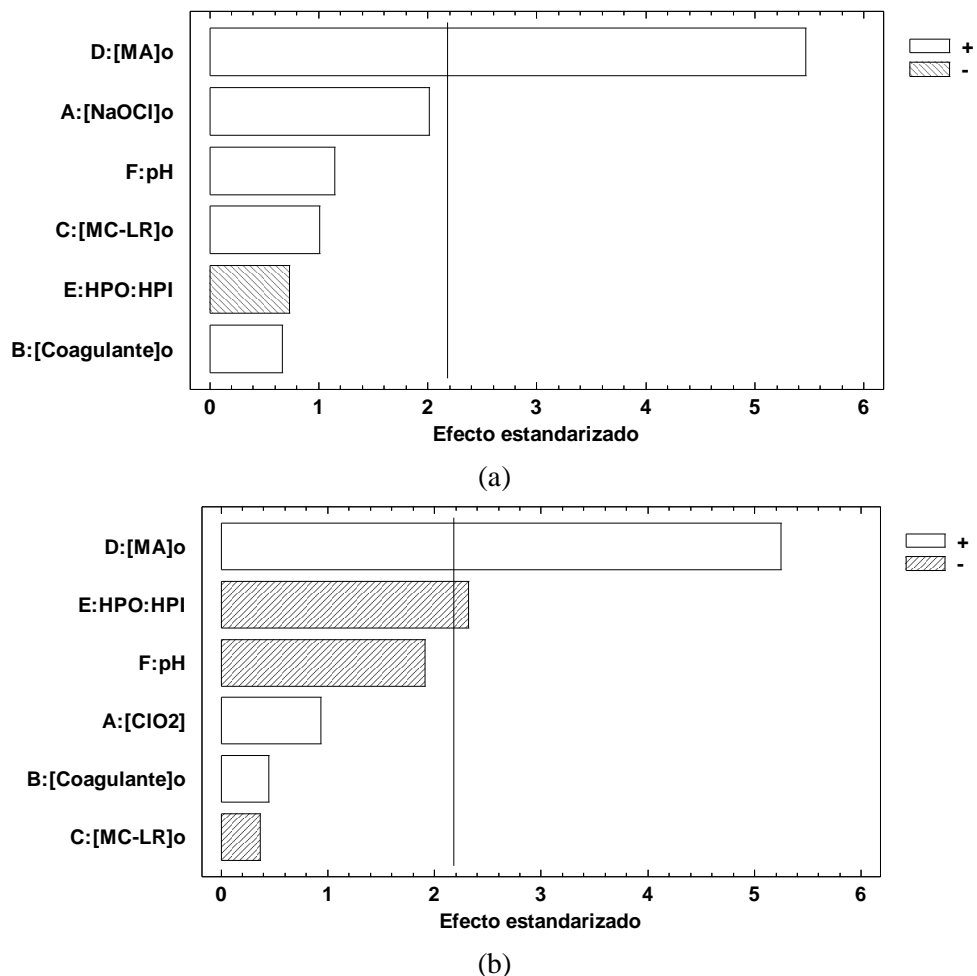


Figura 3.6. Diagrama de Pareto para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MA por P-C-F-S utilizando: a) NaOCl y b) ClO₂ como preoxidantes

Los resultados del ANOVA confirman que, utilizando ambos preoxidantes, la concentración inicial de MA tuvo influencia significativa y, en el caso de las pruebas en las que se aplicó preoxidación con ClO₂, también la relación HPO:HPI. La validez de los resultados de los análisis de varianza se verificó con el cumplimiento de los supuestos del modelo. Tanto los resultados del ANOVA como los gráficos de los supuestos se muestran en el ANEXO XI.

Cabe señalar que en el supuesto de normalidad (**Figura XI.1, ANEXO XI**), para las pruebas en las que se aplicó una preoxidación con NaOCl, la alineación de los residuos respecto a la recta fue baja; esto posiblemente se debió a la variabilidad experimental

obtenida por la técnica utilizada, conteo en cámara de Neubauer, que puede alcanzar un error de hasta un 30% (Bastidas, 2014). Sin embargo, al no cumplirse este requisito, desde el punto de vista práctico, no necesariamente se invalida el modelo ya que el ANOVA es robusto para la falta de normalidad (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

El valor-P de la prueba de falta de ajuste de los modelos obtenidos para estimar la remoción de MA no fue estadísticamente significativo, para ninguno de los preoxidantes, ya que fue mayor a 0.05, (valor-P = 0.0955 para NaOCl y valor-P = 0.2083 para ClO₂); lo que es un indicador de que el orden del modelo fue adecuado para describir el comportamiento de la respuesta (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

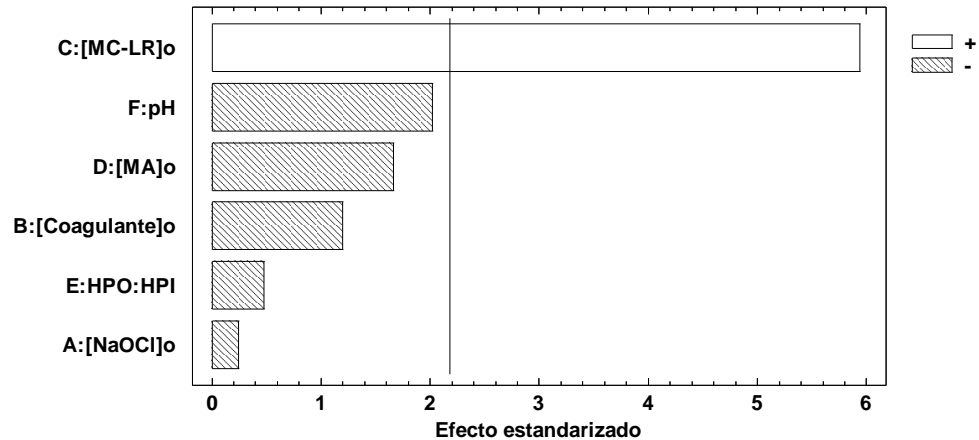
3.1.1.3. Factores con influencia significativa en la remoción de MC-LR

Los diagramas de Pareto de los resultados de remoción de microcistina-LR aplicando el tren de tratamiento, y utilizando NaOCl o ClO₂ como preoxidantes, se presentan en la **Figura 3.7**.

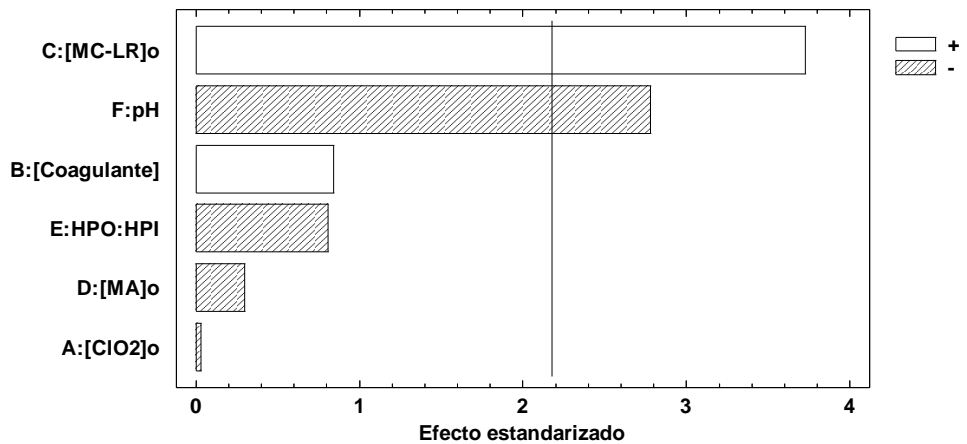
Para ambos preoxidantes la concentración inicial de MC-LR fue un factor con influencia significativa y con efecto positivo (a mayor concentración mayor remoción). La magnitud de este factor fue significativamente mayor, respecto a la de los demás factores, lo cual indica que el valor del nivel superior establecido fue bajo y no permitió observar el efecto de los demás factores. Sin embargo, para las pruebas de optimización se decidió mantener constante la concentración inicial de MC-LR, en su valor natural más alto utilizado en este diseño experimental. Esta decisión se tomó considerando que fue la concentración disuelta máxima detectada en la fuente de abastecimiento de agua para la planta potabilizadora más grande del país (Alillo *et al.*, 2014).

Para las pruebas en las que se aplicó una preoxidación con ClO₂, el pH también tuvo influencia significativa negativa, indicando que, a menor pH mayor remoción de MC-LR. Esto puede estar relacionado a que los grupos carboxilo, que tienen características

hidrofílicas, disminuyen su disociación a valores bajos de pH ($pK_a = 3.3$) y, por lo tanto, aumentan la disponibilidad de la MC-LR para ser eliminada por coagulación-floculación (Rivasseau *et al.*, 1998; Merel *et al.*, 2010).



(a)



(b)

Figura 3.7. Diagramas de Pareto para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MC-LR por P-C-F-S utilizando: a) NaOCl y b) ClO₂ como preoxidantes

Los resultados del ANOVA confirmaron que, aplicando ambos preoxidantes, la concentración inicial de MC-LR fue un factor con influencia significativa y, en el caso de la preoxidación con ClO₂, también lo fue el pH. La validez de los resultados de los análisis de

varianza se verificó con el cumplimiento de los supuestos del modelo. Tanto los resultados del ANOVA como los gráficos de los supuestos se muestran en el (ANEXO XII).

Después de realizar la validación del ANOVA, se realizó la prueba de falta de ajuste y fue estadísticamente significativa para ambos preoxidantes (valor-P = 0.0013 para NaOCl y valor-P = 0.0010 para ClO₂). Esto es un indicio de la existencia de curvatura y, por lo tanto, es necesario utilizar un modelo de orden mayor para obtener un mejor ajuste que describa de manera más adecuada la variación de la respuesta.

En conclusión, como resultado del diseño factorial, para las pruebas de optimización del tren de tratamiento se seleccionó emplear un diseño de segundo orden (superficie de respuesta), en el cual, se mantuvieron constantes, en sus niveles altos, la concentración inicial de MA y MC-LR y se optimizaron los valores de los factores que presentaron una influencia significativa en el proceso (dosis de coagulante, pH y relación HPO:HPI). Por otra parte, a pesar de no ser un factor con influencia significativa en el intervalo estudiado, también se seleccionó determinar la dosis óptima de preoxidante, ya que existe controversia sobre su efecto como un coadyuvante del proceso de coagulación-floculación (Meneses, 2011; Crittenden *et al.*, 2012)

3.2. Determinación de las condiciones óptimas para la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por P-C-F-S empleando como preoxidantes el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro (diseño de superficie de respuesta)

En las pruebas de optimización se evaluaron cuatro factores: la dosis de coagulante, la relación HPO:HPI, el pH y la dosis de preoxidante. Los niveles evaluados fueron los que se presentan en la **Tabla 2.1**, considerando que, los valores de la dosis de MC-LR y de la densidad celular de MA se mantuvieron fijos (en su valor más alto 5 µg/L y 100,000 céls/mL, respectivamente). La optimización se realizó utilizando un diseño de superficie de respuesta tipo Box-Behnken ($2^k + 2k + n_c$) y se realizaron tres réplicas de la prueba del punto central, lo que dio un total de 27 experimentos por preoxidante ($2^4 + (2*4) + 3$). La matriz de diseño (obtenida con STATGRAPHICS) y los resultados de cada prueba experimental se muestran en las **Tablas 3.4 y 3.5**.

Los resultados experimentales fueron sometidos a un análisis estadístico, utilizando el programa STATGRAPHICS, para obtener los modelos estadísticos que permitieron estimar los valores óptimos de cada factor para obtener la máxima remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por un tren de tratamiento compuesto por P-C-F-S.

Para obtener la optimización simultánea en la remoción de MOD, MA y MC-LR, cada una de las variables de respuesta debe estar adecuadamente ajustada a un modelo de segundo orden. Para validar el ajuste, el modelo debe: cumplir con los supuestos (normalidad, varianza constante e independencia), tener un coeficiente de determinación mínimo del 70% y la prueba de falta de ajuste no debe ser estadísticamente significativa. Los modelos y la validación de su ajuste fueron obtenidos con el software de STATGRAPHICS. Debido a que el número de factores evaluados fue menor a cinco, es adecuado utilizar el coeficiente de determinación (R^2) como prueba de bondad de ajuste. El R^2 mide la proporción o porcentaje de variabilidad en los datos experimentales que es explicada por el modelo (Gutierrez y de la Vara, 2008).

Los modelos y R^2 obtenidos, para cada variable de respuesta y por preoxidante, se muestran en la **Tabla 3.6**. Cuando se preoxidó con NaOCl, el coeficiente de determinación para las tres variables de respuesta fue mayor a 70%, por lo tanto, los modelos son adecuados para usarse con fines de predicción. En cambio, cuando se empleó ClO_2 , solamente los modelos para MOD y MC-LR fueron adecuados, ya que el coeficiente de determinación para el modelo de la remoción de MA fue menor al 70%.

Tabla 3.4. Diseño Box-Behnken: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando NaOCl

# Prueba	[NaOCl] _o (mg/L)	[Coagulante] _o (mgAl/L)	HPO:HPI (%:%)	pH	Remoción de MOD (mgCOD/L)	Remoción de MA (cél/s/mL)	Remoción de MC-LR (µg/L)
Jarra 1	2	3.6	50:50	6.5	0.90	0	0.85
Jarra 2	1.125	8.55	20:80	5	0.94	93333	4.93
Jarra 3	2	8.55	50:50	8	1.15	76667	0.00
Jarra 4	0.25	8.55	20:80	6.5	1.83	46667	0.90
Jarra 5	1.125	13.5	80:20	6.5	2.94	80000	4.96
Jarra 6	0.25	13.5	50:50	6.5	2.85	123333	1.41
Jarra 7	1.125	8.55	50:50	6.5	2.92	90000	2.39
Jarra 8	1.125	3.6	80:20	6.5	2.29	0	1.75
Jarra 9	1.125	8.55	80:20	5	2.70	90000	4.81
Jarra 10	2	8.55	50:50	5	2.67	100000	4.80
Jarra 11	1.125	8.55	20:80	8	2.89	0	0.00
Jarra 12	2	8.55	20:80	6.5	2.79	33333	3.94
Jarra 13	1.125	13.5	50:50	5	1.43	90000	1.02
Jarra 14	2	13.5	50:50	6.5	2.95	96667	4.35
Jarra 15	1.125	8.55	50:50	6.5	3.32	50000	0.95
Jarra 16	0.25	8.55	50:50	5	2.74	116667	4.72
Jarra 17	1.125	13.5	50:50	8	2.64	96667	0.98
Jarra 18	1.125	3.6	50:50	8	1.02	0	1.25
Jarra 19	1.125	13.5	20:80	6.5	3.85	86667	0.92
Jarra 20	1.125	8.55	80:20	8	3.03	106667	1.49
Jarra 21	1.125	8.55	50:50	6.5	2.49	83333	1.28
Jarra 22	0.25	8.55	50:50	8	2.19	110000	1.84
Jarra 23	0.25	3.6	50:50	6.5	0.59	30000	1.08
Jarra 24	1.125	3.6	50:50	5	1.63	120000	3.45
Jarra 25	0.25	8.55	80:20	6.5	1.82	66667	4.03
Jarra 26	2	8.55	80:20	6.5	2.67	3333	4.92
Jarra 27	1.125	3.6	20:80	6.5	0.89	16667	1.65

Tabla 3.5. Diseño Box-Behnken: matriz de diseño con valores reales y resultados en las pruebas de P-C-F-S utilizando ClO₂

# Prueba	[NaOCl]o (mg/L)	[Coagulante]o (mgAl/L)	HPO:HPI (%:%)	pH	Remoción de MOD (mgCOD/L)	Remoción de MA (cél/s/mL)	Remoción de MC-LR (µg/L)
Jarra 1	1	3.6	50:50	6.5	0.71	30000	1.30
Jarra 2	0.55	8.55	20:80	5	1.92	66667	2.32
Jarra 3	1	8.55	50:50	8	1.69	16667	2.37
Jarra 4	0.1	8.55	20:80	6.5	2.16	0	1.35
Jarra 5	0.55	13.5	80:20	6.5	2.90	60000	2.54
Jarra 6	0.1	13.5	50:50	6.5	2.59	96667	3.40
Jarra 7	0.55	8.55	50:50	6.5	2.36	56667	1.44
Jarra 8	0.55	3.6	80:20	6.5	1.39	23333	2.09
Jarra 9	0.55	8.55	80:20	5	2.47	93333	4.73
Jarra 10	1	8.55	50:50	5	1.54	100000	4.77
Jarra 11	0.55	8.55	20:80	8	1.92	23333	1.33
Jarra 12	1	8.55	20:80	6.5	2.83	50000	1.58
Jarra 13	0.55	13.5	50:50	5	1.83	76667	4.64
Jarra 14	1	13.5	50:50	6.5	2.91	66667	2.50
Jarra 15	0.55	8.55	50:50	6.5	2.84	70000	1.48
Jarra 16	0.1	8.55	50:50	5	3.12	66667	3.31
Jarra 17	0.55	13.5	50:50	8	2.33	0	1.62
Jarra 18	0.55	3.6	50:50	8	0.43	23333	1.38
Jarra 19	0.55	13.5	20:80	6.5	3.68	26667	1.67
Jarra 20	0.55	8.55	80:20	8	2.69	73333	2.67
Jarra 21	0.55	8.55	50:50	6.5	1.68	76667	0.65
Jarra 22	0.1	8.55	50:50	8	2.27	43333	1.30
Jarra 23	0.1	3.6	50:50	6.5	1.03	83333	1.33
Jarra 24	0.55	3.6	50:50	5	2.31	116667	4.06
Jarra 25	0.1	8.55	80:20	6.5	2.76	53333	1.90
Jarra 26	1	8.55	80:20	6.5	2.74	133333	2.39
Jarra 27	0.55	3.6	20:80	6.5	0.77	16667	0.74

Existen cuatro razones por las cuales se obtiene un valor bajo del R^2 : 1) los factores estudiados por si solos no tienen la suficiente influencia para explicar las variaciones observadas en la respuesta, 2) los niveles de los factores son demasiado estrechos (esto hace que el efecto en la variable de respuesta al cambiar de nivel sea demasiado pequeño), 3) los factores no estudiados en el experimento no se mantuvieron lo suficientemente fijos provocando mucha variación experimental, o bien, 4) el modelo no es el adecuado para describir el comportamiento de la respuesta indicando que es necesario utilizar un modelo de orden mayor. Los primeros tres casos pueden solucionarse realizando un mayor número de experimentos y con un mayor conocimiento del proceso; para el cuarto punto, se aplica la prueba de falta de ajuste, que evalúa si el orden del modelo es correcto con base en la diferencia entre el error experimental y el error debido a la falta de ajuste (Gutierrez y de la Vara, 2008).

Considerando lo anterior, el bajo coeficiente de determinación para MA, preoxidando con ClO_2 , podría estar relacionado con la variación experimental que se obtiene por conteo en la cámara de Neubauer que puede alcanzar hasta un 30% (Bastidas, 2014), al ser una variación que no se puede controlar se decidió continuar con la optimización simultánea.

Tabla 3.6. Modelos estadísticos de cada variable de respuesta por preoxidante y su coeficiente de determinación

Hipoclorito de Sodio	R^2 (%)
MOD = $2.91 + 0.09*A + 0.78*B - 0.19*C + 0.07*D - 0.45*A^2 - 0.05*A*B + 0.03*A*C - 0.24*A*D - 0.60*B^2 + 0.58*B*C + 0.46*B*D - 0.02*C^2 + 0.41*C*D - 0.47*D^2$	70
MA = $74444.3 - 15277.8*A + 33888.9*B - 5833.3*C - 18333.3*D - 2777.7*A^2 + 833.5*A*B + 12500.0*A*C - 4166.5*A*D - 10694.3*B^2 - 2500.0*B*C + 31666.7*B*D - 25277.7*C^2 - 27500.0*C*D + 21805.7*D^2$	84
MC-LR = $1.54 + 0.41*A + 0.30*B - 0.80*C - 1.51*D + 0.83*A^2 + 0.79*A*B + 0.54*A*C - 0.48*A*D - 0.31*B^2 - 0.99*B*C + 0.54*B*D + 1.02*C^2 - 0.40*C*D + 0.39*D^2$	76
Dióxido de Cloro	R^2 (%)
MOD = $2.29 - 0.13*A + 0.8*B - 0.14*C - 0.16*D + 0.02*A^2 + 0.16*A*B + 0.17*A*C + 0.25*A*D - 0.41*B^2 + 0.35*B*C + 0.60*B*D + 0.26*C^2 - 0.06*C*D - 0.21*D^2$	78
MA = $67778.0 + 4444.5*A + 2777.9*B - 21110.9*C - 28333.5*D + 2777.7*A^2 + 5833.3*A*B - 7500.0*A*C - 14999.7*A*D - 12222.2*B^2 - 6666.8*B*C +$	60

Hipoclorito de Sodio	R² (%)
$4166.8*B*D - 12222.5*C^2 - 5833.5*C*D - 2222.3*D^2$ MC-LR = $1.19 + 0.19*A + 0.46*B - 0.61*C - 1.10*D + 0.46*A^2 - 0.22*A*B -$ $0.07*A*C - 0.10*A*D + 0.43*B^2 + 0.12*B*C - 0.09*B*D + 0.18*C^2 +$ $0.27*C*D + 1.33*D^2$	88
A = preoxidante, B = coagulante, C = relación HPO:HPI y D = pH	

Se verificaron los supuestos del modelo para confirmar su calidad de ajuste. Para todas las variables de respuesta y para ambos preoxidantes se cumplieron los supuestos de manera satisfactoria y las gráficas que lo demuestran se presentan en el **ANEXO XIII**.

La prueba de falta de ajuste no fue estadísticamente significativa (valor-P < 0.05) para ninguna de las variables de respuesta, empleando ambos preoxidantes; esto indica que los modelos de segundo orden describen de manera adecuada el comportamiento de la respuesta. En la **Tabla 3.7** se muestran los resultados de la prueba de falta de ajuste para cada variable de respuesta y por preoxidante aplicado.

Tabla 3.7. Valor-P de la prueba de falta de ajuste para los modelos por variable de respuesta y para cada uno de los preoxidantes utilizados

Preoxidante	Variable de respuesta	Valor-P
NaOCl	MOD	0.2548
	MA	0.4858
	MC-LR	0.2712
ClO ₂	MOD	0.6365
	MA	0.0791
	MC-LR	0.4070

Después de verificar la validez del ajuste de los modelos, se prosiguió a calcular los valores óptimos de los factores para obtener la máxima remoción simultánea de las tres variables de respuesta aplicando P-C-F-S, utilizando cada uno de los preoxidantes evaluados, para lo cual se empleó la función deseabilidad, obtenida con el software STATGRAPHICS.

La función deseabilidad es aplicada para realizar la optimización de múltiples variables de respuesta. Esta función ayuda a determinar la deseabilidad global transformando el sistema multivariable en un sistema de optimización de una sola variable, con el cual se obtiene la

mejor combinación de todos los factores utilizados para buscar la maximización o minimización simultánea de todas las variables de respuesta. Esta técnica se emplea cuando se tiene más de una variable de respuesta; debido a que, si se aplican las condiciones óptimas calculadas para únicamente una de las variables, podrían resultar condiciones inadecuadas para las restantes. Por lo tanto, es necesario buscar el punto donde todas las variables tengan un valor satisfactorio conocido como óptimo simultáneo. La deseabilidad puede tener valores entre 0 y 1; siendo “1” el valor máximo deseable y “0” un valor inaceptable (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

En la **Tabla 3.8** se presenta el valor óptimo, estimado por la función deseabilidad, para cada uno de los factores evaluados para obtener la máxima remoción simultánea de los tres contaminantes por el tren de P-C-F-S, utilizando ambos preoxidantes. Con estas condiciones, la función estimó una deseabilidad global de 0.80 cuando se preoxidó con NaOCl y de 0.79 cuando se preoxidó con ClO₂.

Tabla 3.8. Condiciones óptimas estimadas por la función deseabilidad para la remoción simultánea de COD, MA y MC-LR por P-C-F-S utilizando ambos preoxidantes

Factor	Unidades	Valor codificado		NaOCl		ClO ₂	
		Bajo	Alto	Valor óptimo		Valor óptimo	
				Codificado	Real	Codificado	Real
[Preoxidante]o	mg/L	-1.0	1.0	-0.79	0.436	1.00	1
[Coagulante]o	mg Al/L	-1.0	1.0	0.74	12.23	0.31	10.1
HPO:HPI	:%: %	-1.0	1.0	-1.00	80:20	-1.00	80:20
pH	-	-1.0	1.0	0.57	7.35	-0.79	5.32

Las condiciones óptimas del tren de tratamiento, para cada preoxidante, fueron reproducidas experimentalmente por duplicado, y los resultados obtenidos se compararon con el valor calculado por el modelo (**Figura 3.8**). La remoción de MOD cuando se preoxidó con NaOCl estuvo dentro del rango estimado por el modelo, sin embargo, cuando se aplicó ClO₂ la remoción fue 18% superior al valor calculado por el modelo. En contraste, las remociones experimentales de MA y MC-LR fueron significativamente menores al valor estimado por el modelo; cuando se aplicó NaOCl la remoción de MA fue un 27% menor y la de MC-LR un 13%, mientras que cuando se preoxidó con ClO₂ la remoción de MA fue 31% menor y la de MC-LR 14% menor respecto al valor estimado. La variación

entre la remoción óptima estimada por el modelo y la reproducción experimental de las condiciones óptimas se debió al porcentaje que no puede ser explicado por el modelo y que posiblemente esté relacionado con el error de la técnica de cuantificación de MA y el error en la técnica de extracción y cuantificación de MC-LR. La técnica de conteo en cámara de Neubauer reporta hasta 30% de error (Bastidas, 2014), mientras que en la técnica de extracción y cuantificación de la MC-LR se tuvieron dificultades para su cuantificación debido a la baja señal por las bajas concentraciones. Los resultados completos de los experimentos se muestran en el **ANEXO XIV**.

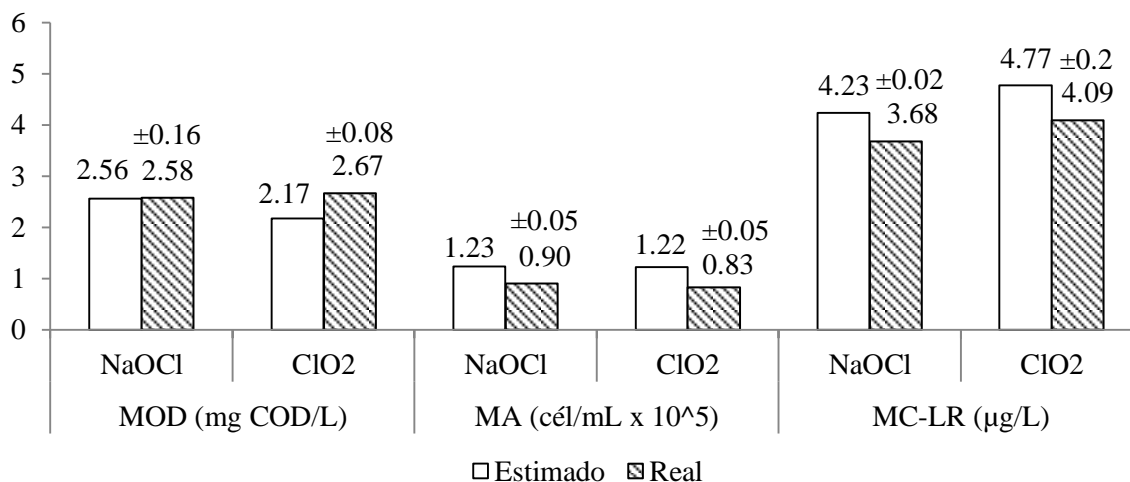


Figura 3.8. Comparación de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR, aplicando las condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento reproducidas en laboratorio, respecto al valor estimado por el modelo, aplicando ambos preoxidantes

Para comparar los resultados con los reportados en la literatura se calculó la remoción porcentual (**Tabla 3.9**). Los resultados de remoción de MOD y MA están dentro de los intervalos reportados en estudios realizados para remover de manera separada ambos contaminantes que van de 10-60% y 70-90%, respectivamente (**Tabla 1.4**), mientras que se consiguió aumentar un 35% la remoción de MC-LR cuando se preoxidó con NaOCl y un 43% cuando se aplicó ClO₂, esto comparado contra la máxima remoción reportada en literatura que fue de un 39% por coagulación-floculación (**Tabla 1.4**).

Es importante señalar que la remoción reportada en literatura de 39% para la MC-LR, fue lograda con una concentración inicial de $1.2 \pm 0.21 \mu\text{g/L}$ (Lambert *et al.*, 1996), mientras que en este trabajo de investigación la concentración inicial fue de $5 \mu\text{g/L}$ y las remociones fueron de 73.5% preoxidando con NaOCl y de 81.7% con ClO_2 . En otras investigaciones como la realizada por Drikas *et al.* (2001) incluso reportan que no hay remoción de MC-LR, con una concentración inicial de $2 \mu\text{g/L}$, por coagulación-floculación con sulfato de aluminio (65 mg Al/L).

Con el objetivo de realizar una comparación más adecuada, los resultados fueron normalizados en función de la dosis de coagulante, lo cual se obtuvo al dividir la remoción de cada una de las variables de respuesta entre la dosis de coagulante aplicada en condiciones óptimas. La remoción normalizada se presenta en la **Tabla 3.9**. Ma *et al.* (2012) reportan una remoción de $1.27 \text{ mg COD/mg Al}$, que es seis veces mayor a la obtenida en este trabajo, sin embargo, no especifican la concentración inicial de COD y la dosis de cloro fue de 4 mg/L , es decir nueve veces superior a la aplicada en este trabajo, y está reportado que con dosis superiores a 2 mg/L puede presentarse rompimiento celular (Zamyadi *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2013). Por otra parte, cuando se preoxidó con ClO_2 , Leoni y Rojas (1999) obtuvieron remociones de MOD de $0.31 \text{ mg COD/mg Al}$, es decir 19% superior a la obtenida en este trabajo; sin embargo, la dosis de dióxido de cloro aplicada fue 20% mayor y las concentraciones iniciales de COD superiores a 5 mg/L .

Para la remoción de MA no se identificaron estudios con condiciones similares a las aplicadas en este estudio. Finalmente, en el caso de la MC-LR la remoción reportada en la literatura es de $0.08 \pm 0.06 \mu\text{g MC-LR/mg Al}$ (Jurczak *et al.*, 2005; Gad y El-Tawel, 2016), que es menor a la remoción obtenida en este trabajo: $0.30 \mu\text{g MC-LR/mg Al}$, cuando se aplicó NaOCl y $0.40 \mu\text{g MC-LR/mg Al}$ cuando se aplicó ClO_2 .

La comparación de los resultados normalizados obtenidos en este estudio, respecto a los datos publicados en la literatura, fue complicada debido principalmente a que las condiciones experimentales utilizados en esos estudios son muy diferentes a las aplicadas

en este trabajo de investigación o no reportan información suficiente para normalizar los resultados.

Tabla 3.9. Remoción simultánea normalizada y porcentual en condiciones óptimas

Variable de respuesta	NaOCl		ClO ₂	
	Normalizada	Porcentual	Normalizada	Porcentual
MA (céls/mg Al)	7,359 ± 385	89 ± 7%	8,251 ± 467	77 ± 4%
MOD (mg COD/mg Al)	0.21 ± 0.01	49.45 ± 4.9%	0.26 ± 0.01	50 ± 1%
MC-LR (µg MC-LR/mg Al)	0.30 ± 0.01	73.57 ± 0.42%	0.40 ± 0.02	81.72 ± 4%

3.2.1. Concentraciones residuales en el agua clarificada después de aplicar el proceso de P-C-F-S en condiciones óptimas y para ambos preoxidantes

En la **Tabla 3.10** se muestran los promedios de los valores residuales de los parámetros de calidad medidos en el agua clarificada después del proceso de sedimentación. El detalle de los resultados se muestra en el **ANEXO XV**.

Con las eficiencias de remoción, alcanzadas en condiciones óptimas utilizando ambos preoxidantes, se determinaron valores residuales de MOD, MA y MC-LR en el agua clarificada que están muy cercanos de cumplir con los estándares o recomendaciones para agua potable. Por otro lado, los parámetros que si cumplen son: la turbiedad en las condiciones óptimas aplicadas con y sin preoxidación con NaOCl y el color verdadero cumplió en todos los casos, excepto cuando no se aplicó NaOCl en condiciones óptimas del tren de tratamiento.

En el caso particular del cloro residual, se aplicaron dosis bajas de ambos preoxidantes y, por lo tanto, no se esperaban valores residuales elevados. En consecuencia, las concentraciones de cloro residual obtenidas en el agua clarificada estuvieron por debajo del rango requerido para el agua después de un proceso de desinfección.

En el caso del índice de Willcomb y el tamaño de flóculo, puede observarse que en todos los casos se obtuvieron flóculos de buen tamaño que sedimentan con lentitud (6) e incluso

flóculos que se depositan fácil pero no completamente (8). Sin embargo, los flóculos formados en las condiciones óptimas para ClO_2 presentaron tamaños más pequeños entre los 0.3 a 1 mm de diámetro mientras que en las condiciones para el NaOCl los tamaños estuvieron entre 1 a 1.5 mm.

Tabla 3.10. Concentraciones residuales en el agua clarificada comparadas contra la normatividad o recomendaciones para agua potable

	Recomendación o LMP	NaOCl		ClO_2	
		S/P	0.436 mg/L	S/P	1 mg/L
MOD ¹	2 mg COD/L	2.90 ± 0.14	2.65 ± 0.35	2.63 ± 0.07	2.72 ± 0.04
MA	S/R céls/mL	20000 ± 9428	11667 ± 7071	23333 ± 4714	25000 ± 7071
MC-LR ²	1 µg/L	1.52 ± 0.60	1.32 ± 0.02	1.62 ± 0.44	0.91 ± 0.20
Turbiedad ³	5 UTN	4.64 ± 0.15	3.74 ± 0.23	8.97 ± 0.35	7.32 ± 0.63
Color verdadero ³	20 Pt-Co	24 ± 1.41	0.0 ± 0.0	3.00 ± 0.0	5.50 ± 0.71
Cloro residual ³	0.2-1.5 mg/L	-	0.01 ± 0.01	-	0.07 ± 0.01
Índice de Willcomb y tamaño del flóculo	S/R	6D	8D	6A	6C

LMP = Límite máximo permisible; S/P = sin preoxidación; S/R = Sin valor de referencia; ¹ = recomendación US-EPA; ² = En proceso de regulación; ³ = NOM-127-SSA1-1994

3.3. Determinación de la influencia de la presencia de MA y MC-LR sobre la remoción de MOD por el proceso de P-C-F-S en condiciones óptimas de operación para ambos preoxidantes

Para determinar la influencia que tiene la presencia de MA y MC-LR sobre la remoción de MOD, se realizó una prueba de P-C-F-S en condiciones óptimas en la que únicamente se colocó MOD; la diferencia en remoción, con respecto a la prueba en la que están presentes los tres contaminantes (MOD+MA+MCLR), corresponde al efecto ocasionado por la presencia de MA y la MC-LR. Para obtener el efecto de la presencia de la MC-LR se realizó otra prueba en la que se colocaron MOD y MC-LR (MOD+MCLR); la diferencia en remoción, con respecto a la prueba en la que se colocó únicamente se colocó MOD, corresponde al efecto de la MC-LR. Finalmente, la influencia de MA se obtuvo restando la remoción obtenida en la prueba de MOD+MCLR menos la remoción obtenida en la prueba de MOD+MA+MCLR. Las pruebas fueron realizadas por duplicado y las tablas completas de los resultados se muestran en el ANEXO XVI.

La **Figura 3.9** presenta la remoción normalizada de MOD (mg COD/mg Al) para comparar las tres condiciones mencionadas en el párrafo anterior.

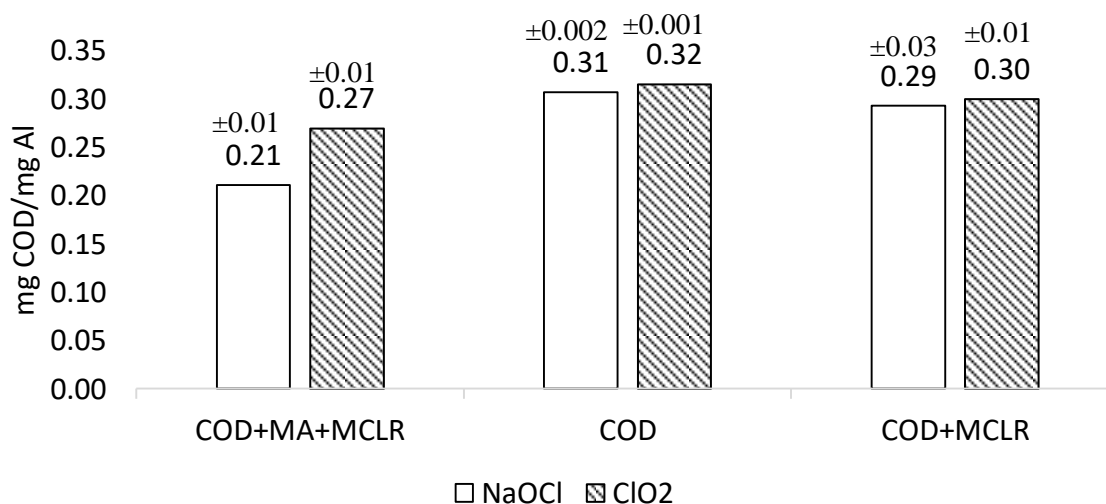


Figura 3.9. Efecto de MA y la MC-LR sobre la remoción de la MOD en condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento

La remoción de MOD, cuando se preoxidó con NaOCl en condiciones óptimas y en ausencia de MA y MC-LR, alcanzó un valor de 0.31 mg COD/mg Al; en contraste, la remoción cuando están presentes los tres contaminantes (MOD+MA+MC-LR) fue de 0.21 mg COD/mg Al. Es decir, la remoción de MOD disminuyó 0.1 mg COD/mg Al (32.25%) debido a la presencia de MA y MC-LR.

Por otra parte, la remoción de MOD cuando está presente la MC-LR (MOD+MCLR) alcanzó 0.29 mg COD/mg Al. Por lo tanto, la presencia de MC-LR disminuyó la remoción de MOD en 0.02 mg COD/mg Al (6.45%), en comparación con la prueba con únicamente MOD. Por lo tanto, se le atribuye a MA una disminución en la remoción de MOD de 0.08 mg COD/mg Al (25.8%).

Cuando se utilizó ClO₂ como preoxidante, la remoción de MOD, en ausencia de los otros contaminantes, alcanzó un valor de 0.32 mg COD/mg Al. La presencia de MA y MC-LR disminuyó la remoción de MOD en 0.06 mg COD/mg Al (18.75%). El efecto individual de

la MC-LR provocó la reducción de la remoción de MOD en 0.02 mg COD/mg Al (6.25%). Por lo tanto, se atribuye a MA una reducción de la eficiencia de la remoción de MOD de 0.04 mg COD/mg Al (12.5%).

Esta disminución en la eficiencia se debe a que, tanto las cianobacterias como sus cianotoxinas, demandan coagulante y preoxidante. El grado en que estos contaminantes afectan la remoción de MOD está relacionado con su concentración inicial, así como con sus características fisicoquímicas (tamaño, solubilidad, carga superficial, composición química), que los pueden hacer más susceptibles a la interacción con el preoxidante y el coagulante. El preoxidante puede interactuar con los compuestos aromáticos conjugados presentes en la MOD, con el grupo 3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8-trimetil-deca-4,6-ácido dienoico (ADDA) de la MC-LR y provoca desestabilización coloidal e inactivación de las células de MA (Ho *et al.*, 2006; R. Henderson, Parsons y Jefferson, 2008; Shen *et al.*, 2011; Ma, Liu, Liu, Qu, *et al.*, 2012).

Por otra parte, la coagulación es más efectiva para remover coloides, con tamaños entre 0.001 a 10 μm , que son partículas con carga negativa, hidrofóbicas y de alto peso molecular, como los ácidos húmicos y fúlvicos, y que se remueven al ser desestabilizados por el coagulante que neutraliza su carga para permitir su aglomeración. En contraste, la coagulación es menos efectiva para remover partículas sin carga, con carácter hidrofílico y con bajo peso molecular como: moléculas, alquilos y polisacáridos, que solamente se pueden remover al formar complejos o por adsorción en los flóculos que precipitan (Hendricks, 2006; Ghernaout *et al.*, 2010).

Considerando lo anterior, MA al ser una partícula coloidal (4-6 μm) con carga superficial negativa y encontrarse en mayor concentración que la MC-LR, es más afín a removerse por coagulación y, por lo tanto, la competencia que representó tuvo un mayor impacto o disminución de la remoción de MOD. En cambio, debido a que la MC-LR es una molécula pequeña (0.003 μm), con menor carga superficial y en menor concentración, es más difícil de remover por coagulación y, en consecuencia, impactó en menor grado la remoción de MOD (Hendricks, 2006; Aiken, 2014; Sillanpaa, 2015).

3.4. Determinación de la influencia del tipo de preoxidante sobre la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por el tren de P-C-F-S en condiciones óptimas de operación

Finalmente, se hizo una prueba de tratamiento, por duplicado, aplicando las condiciones óptimas del tren de P-C-F-S, en la que no se aplicó el preoxidante para determinar su efecto sobre la remoción de MOD, MA y MC-LR. En la **Figura 3.12** se comparan los promedios normalizados, con respecto a la dosis de coagulante, de la remoción simultánea de los tres contaminantes, con y sin aplicar preoxidación. Los resultados completos se muestran en el **ANEXO XV**.

Se observó que no hubo diferencia significativa con o sin aplicación de NaOCl sobre la eficiencia de remoción simultánea para los tres contaminantes estudiados (**Figura 3.10**). Esto se puede atribuir al bajo tiempo de contacto (10 s), durante el cual no se presentó ninguno de los mecanismos reportados para la preoxidación como coadyuvantes de la coagulación, como son: transformación o alteración de los compuestos, la desestabilización e inactivación de MA y la liberación de exopolímeros celulares que sirven como coagulantes naturales (Henderson *et al.*, 2008; Crittenden *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2012).

Es conveniente mencionar que se utilizaron 10 s de preoxidación debido a que es el tiempo aplicado en dos de las principales plantas potabilizadoras que operan en México: “Los Berros” y “Madín”(Felix, 2010). Sin embargo, en diversos estudios realizados en laboratorio solamente fueron observados impactos benéficos de la preoxidación con tiempos de contacto más largos (minutos).

Lapsongpon *et al.* (2017) al preoxidar con 3 mg/L de hipoclorito de calcio determinaron que fueron necesarios 30 minutos para alcanzar la máxima remoción de MA por coagulación-floculación. Estos autores mencionan que la remoción se vio beneficiada por la liberación de exopolímeros celulares, y que al aplicar tiempos de contacto mayores a 30 minutos la elevada concentración de esos compuestos disminuyó la remoción por el aumento de la demanda de coagulante. Además, observaron que MA se inactiva en un

tiempo de 10 minutos y con dosis desde 2 mg/L, lo cual facilita su remoción y evita su crecimiento en procesos posteriores.

Por otra parte, Ma *et al.* (2012) reportaron que después de 20 minutos de preoxidación, con dosis menores a 1 mg/L de NaOCl, la materia orgánica natural aumentó su masa molecular de 2,524 g/mol a 2,589 g/mol, y esto incrementó 15% la remoción de COD. Además, se presentó una inactivación de MA que contribuyó a mejorar su remoción por coagulación-floculación. Sin embargo, también reportaron la liberación de exopolímeros celulares, los cuales demandaron una dosis más alta de coagulante para su remoción.

Cuando se preoxidó con ClO₂, la diferencia entre aplicar y no aplicar preoxidante no fue estadísticamente significativa para la remoción de MA. Sin embargo, la diferencia en la remoción de MOD resultó significativa, siendo 29.7% mayor cuando no se aplicó preoxidación; esto puede deberse a que el ClO₂ provocó la transformación de los compuestos de la MOD con alto peso molecular a bajo peso molecular que son más difíciles de remover. Finalmente, la diferencia en la remoción de MC-LR resultó estadísticamente significativa, favoreciendo la remoción cuando se aplicó preoxidación aumentando en un 21.2%; esto puede deberse a que bajos valores de pH disminuyen la disociación de los grupos carboxilo de la MC-LR, que tienen características hidrofílicas, por lo tanto, esto puede aumentar su disponibilidad para ser eliminada por coagulación-floculación (Rivasseau *et al.*, 1998; Merel *et al.*, 2010). Este resultado concuerda con lo reportado por Ghernaout *et al.*, (2010), quienes mencionan que las microcistinas se remueven mejor en pH de 4 a 6 por coagulación-floculación.

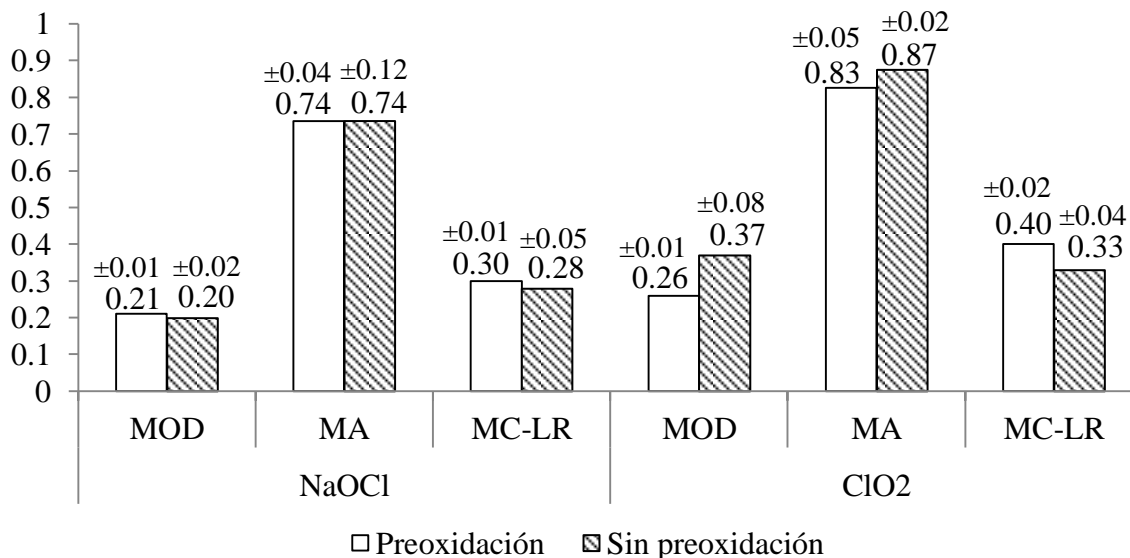


Figura 3.10. Efecto de la preoxidación en la remoción simultánea de MOD (mg COD/mg Al), MA (cél/mg Al x 10⁴) y MC-LR (µg/mg Al)

3.4.1. Pruebas de potencial Z para determinar el efecto de los preoxidantes sobre la estabilidad electrostática de MA

De los tres contaminantes, MA es un coloide que por su tamaño permitió evaluar el efecto de los preoxidantes sobre su estabilidad electrostática, aplicando 10 s de preoxidación. Para su determinación se utilizó la técnica de potencial Z, la cual se describe en el **ANEXO XVII**.

3.4.1.1. Potencial Z de MA preoxidando con hipoclorito de sodio

Los resultados del potencial Z se muestran en la **Figura 3.11**. Cada punto de la gráfica representa el promedio de al menos 30 lecturas. Los resultados completos se muestran en el **ANEXO XVIII**.

En la **Figura 3.11** puede observarse que conforme aumentó la dosis de NaOCl aumentó el valor negativo del potencial Z; esto indica un aumento en la estabilidad coloidal de MA, lo que puede ocasionar una disminución en la eficiencia de remoción, o bien, un incremento en la demanda de coagulante (Henderson y Jefferson, 2008; Sillanpaa, 2015).

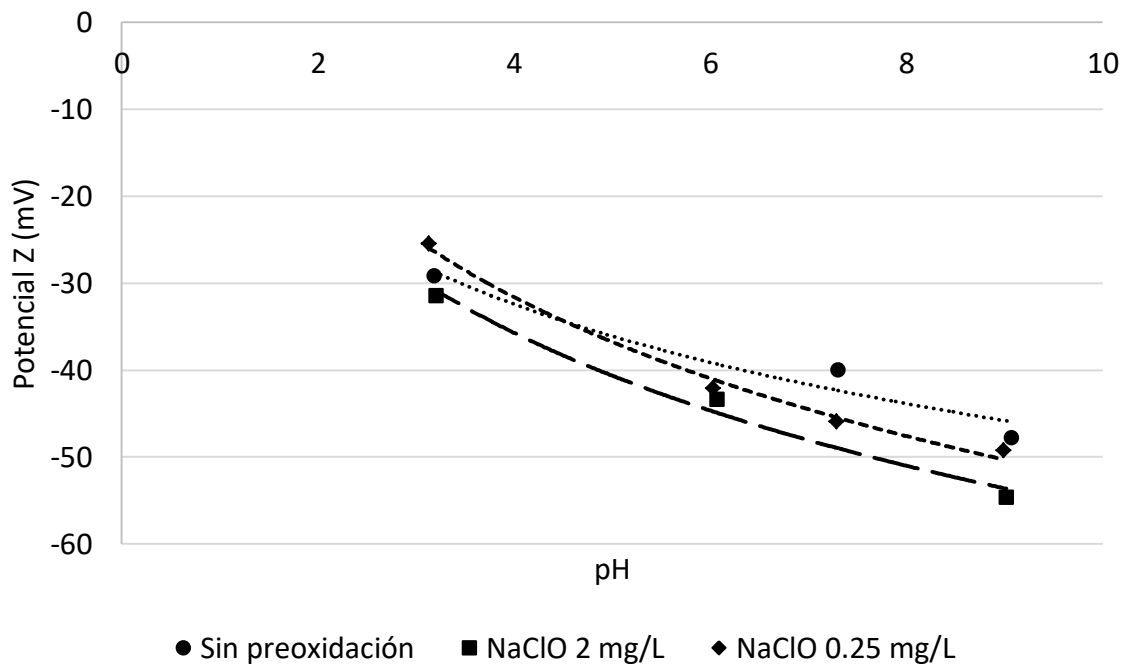


Figura 3.11. Potencial Z de MA a diferentes dosis de preoxidante (NaOCl)

3.4.1.2. Potencial Z de MA preoxidando con dióxido de Cloro

Los resultados de las pruebas de potencial Z se muestran en la **Figura 3.12**, en las que se observa que el preoxidante aumentó el valor negativo del potencial Z, lo que se traduce como un aumento de la estabilidad coloidal y, por lo tanto, podría bajar la remoción de MA o aumentar la demanda de coagulante para conseguir su desestabilización (Henderson y Jefferson, 2008; Sillanpaa, 2015).

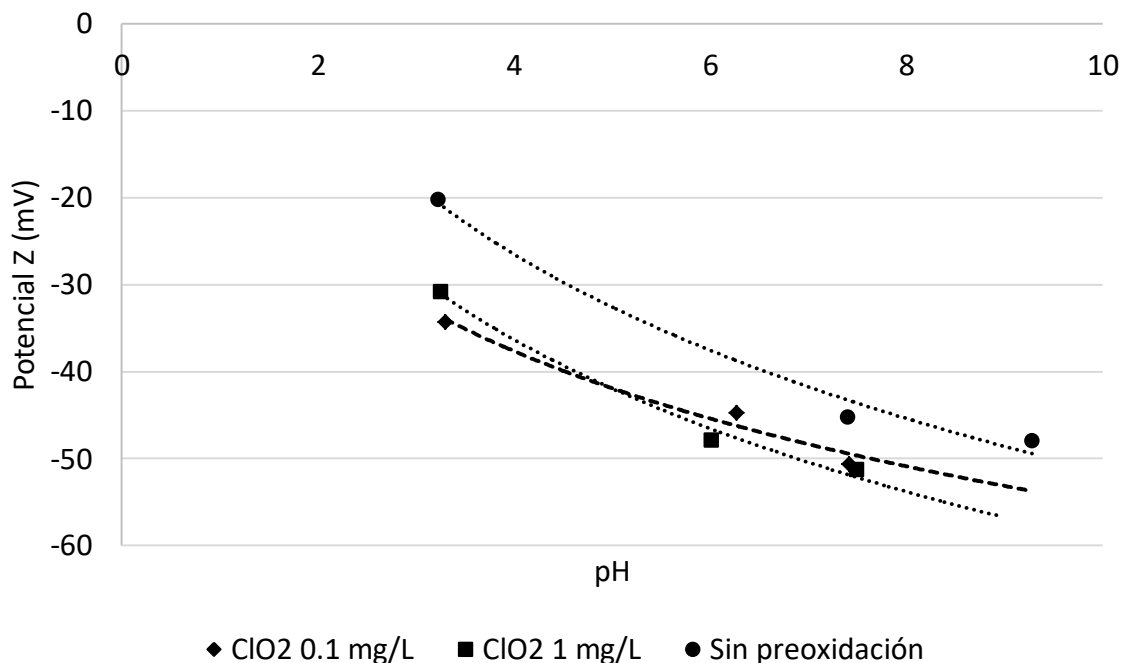


Figura 3.12. Potencial Z de MA a diferentes dosis de preoxidante (ClO_2)

Tanto la preoxidación con hipoclorito de sodio como con dióxido de cloro disminuyeron el valor negativo del potencial Z. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Holmes *et al.* (2008), quienes aplicaron preoxidación con dosis de cloro de 2 a 5 mg/L a 200 rpm y obtuvieron el mismo efecto, un potencial Z más negativo, respecto al valor obtenido sin aplicar preoxidación. En conclusión, la preoxidación aumentó la estabilidad coloidal de MA, lo cual podría disminuir la eficiencia de remoción de MA, o bien, demandar una dosis más alta de coagulante para su desestabilización.

CAPITULO 4. CONCLUSIONES

En este trabajo se estudió y optimizó la remoción simultánea de materia orgánica disuelta, *Microcystis aeruginosa* y microcistina-LR, en un tren de tratamiento compuesto por los procesos de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación, para la potabilización de agua superficial.

La hipótesis planteada se rechaza debido a que las dosis y tiempos de contacto aplicados, para ambos preoxidantes, no provocaron un efecto significativo en la remoción simultánea de los tres contaminantes evaluados en las condiciones óptimas de operación establecidas para un tren de tratamiento compuesto por P-C-F-S.

Se determinó que los factores con influencia significativa en la remoción simultánea de esos tres contaminantes, por P-C-F-S con sulfato de aluminio y utilizando ambos preoxidantes por separado, fueron: la dosis inicial de coagulante, el pH y la relación HPO:HPI.

Se establecieron las condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento compuesto por los procesos de P-C-F-S, aplicando cada preoxidante por separado, para lograr la máxima remoción simultánea de los tres contaminantes. La reproducción experimental de estas condiciones mostró que, cuando se preoxidó con NaOCl se removió simultáneamente: $49.45 \pm 4.9\%$ de MOD, $89 \pm 7\%$ de MA y $73.57 \pm 0.42\%$ de MC-LR; y al preoxidar con ClO_2 la remoción simultánea fue de: $50 \pm 1\%$ de MOD, $77 \pm 4\%$ de MA y $81.72 \pm 4\%$ de MC-LR. Los porcentajes de remoción de MOD y MA obtenidos en este estudio están dentro de los rangos reportados en la literatura para su remoción individual por coagulación-floculación (10-60% para MOD y 70-90% para MA); en cambio, se mejoró significativamente la remoción de MC-LR, ya que el dato reportado por coagulación-floculación individual es de 39%, por lo tanto, se aumentó 35% la eficiencia, en las condiciones óptimas del tren de tratamiento preoxidando con NaOCl y 43% con ClO_2 .

Con los porcentajes de remoción obtenidos para el tren de tratamiento operado en condiciones óptimas, las concentraciones residuales de los contaminantes en el agua clarificada fueron de: 2.65 ± 0.35 mg de COD/L de MOD y 1.32 ± 0.02 $\mu\text{g/L}$ de MC-LR para la preoxidación con NaOCl y 2.72 ± 0.04 mg de COD/L de MOD y 0.91 ± 0.20 $\mu\text{g/L}$ de MC-LR cuando se preoxidó con ClO₂. Por lo tanto, las concentraciones residuales de estos contaminantes estuvieron cercanas, pero no cumplieron con la recomendación de 2 mg COD/L para MOD establecida por la US-EPA y 1 $\mu\text{g/L}$ de MC-LR recomendada por la OMS y establecida en el PROY-NOM-127-SSA1-2017.

Al evaluar el efecto que tiene la presencia de MA y MC-LR sobre la remoción de MOD se obtuvo que, en las condiciones óptimas del tren de tratamiento al preoxidar con NaOCl, su presencia provocó que la remoción de MOD disminuyera hasta 32.25% (6.45% debido a la MC-LR y 25.8% a MA); y cuando se utilizó ClO₂, la remoción de MOD disminuyó 18.75% (6.25% debido a la MC-LR y 12.5% a MA). El motivo por el cual MA tuvo mayor impacto negativo sobre la remoción de MOD se debe a su tamaño coloidal (4-6 μm) y a su mayor concentración inicial (100,000 céls/mL), que favorecen que se pueda remover más fácilmente por el proceso de coagulación-floculación. Mientras que, la MC-LR influyó negativamente en menor grado ya que es más difícil de remover debido a su tamaño (0.003 μm) y su menor concentración inicial (5 $\mu\text{g/L}$).

Se evaluó el efecto de la preoxidación como un coadyuvante del proceso de coagulación-floculación aplicando las condiciones óptimas del tren de tratamiento para la remoción simultánea de los tres contaminantes. Por una parte, se determinó que, cuando se utilizó NaOCl, el uso o no del preoxidante no tuvo efecto estadísticamente significativo sobre la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR. Esto se pudo haber debido a que se aplicó un muy bajo tiempo de contacto (10s), lo que no permitió que se presentara ninguno de los mecanismos coadyuvantes de la coagulación-floculación. Por otra parte, al preoxidar con ClO₂ la remoción de MA no se vio afectada; sin embargo, la remoción de MOD disminuyó 29.7% y la de MC-LR aumentó 21.2%; esto pudo deberse a que el dióxido de cloro provocó una transformación de los compuestos de la MOD en compuestos más hidrofílicos que son más difíciles de remover y, el incremento de la remoción de MC-LR, pudo deberse a que

está reportado que a bajos valores de pH (4-6), disminuye la ionización de los grupos carboxilo, que tiene características hidrofílicas, lo que hace que esta molécula se remueva más fácilmente por coagulación-floculación. Por lo tanto, el uso de preoxidación, con las dosis y tiempo de contacto evaluados, no tuvo un efecto significativo en la mejora de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por P-C-F-S, utilizando ambos preoxidantes.

La medición del potencial Z permitió determinar que ambos preoxidantes aumentaron la estabilidad coloidal de MA y, por lo tanto, no se observó ningún efecto benéfico en la remoción de la cianobacteria. Por lo cual, ninguno de los preoxidantes evaluados fomentó el mecanismo de desestabilización de cargas reportado como coadyuvante del proceso de coagulación.

4.1. Recomendaciones

Se recomienda experimentar con tiempos de preoxidación mayores a 10 s, ya que en literatura se mencionan efectos benéficos, pero se debe tener en cuenta el posible daño celular y la transformación de compuestos de alto peso molecular a compuestos de bajo peso molecular que podrían disminuir la remoción de la MOD.

Se podrían evaluar otros preoxidantes como el permanganato de potasio, del cual se reporta que puede inactivar a MA, sin provocar lisis, y mejorar su remoción por coagulación-floculación (EPA, 2012), además, no ha sido probado para la remoción simultánea de estos contaminantes. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que tiene la desventaja de generar color en el agua y requiere mayor tiempo de contacto (Ma *et al.*, 2001).

Se recomienda evaluar el efecto de la preoxidación sobre la inactivación celular de MA por técnicas como la citometría de flujo y la variación del peso molecular de los compuestos de la MOD y la MC-LR por cromatografía por permeación de gel; para tener un mejor conocimiento de los mecanismos de inactivación celular y de la transformación de los compuestos de la MOD y la MC-LR que podrían estar involucrados en el proceso de preoxidación.

Se podrían utilizar técnicas más finas de conteo celular, como la citometría de flujo, y para la cuantificación de MC-LR, como el UPLC, para obtener modelos que predigan con mayor exactitud las condiciones óptimas.

REFERENCIAS

- (CNA), C. N. de A. (1998) *Estudio Limnológico de la Presa Valle de Bravo*. México.
- Abdallah Baghoth, S. (2012) *Characterizing natural organic matter in drinking water treatment processes and trains*. Delft University of Technology.
- Aieta, E. M. y Berg, J. D. (1986) ‘A Review of Chlorine Dioxide in Drinking Water Treatment’, *American water works association*, 78(6), pp. 62–72.
- Aiken, G. (2014) ‘Dissolved Organic Matter in Aquatic Systems’, in *Comprehensive Water Quality and Purification*. Elsevier Ltd., pp. 230–250. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123821829000761>.
- Alillo-Sanchez, J., Gaytán-Herrera, M., Martínez-Almeida, V. y Ramírez-García, P. (2014) ‘Microcystin-LR equivalents and their correlation with *Anabaena* spp. in the main reservoir of a hydraulic system of Central Mexico’, *Inland Waters*, 4(3), pp. 327–336. doi: 10.5268/IW-4.3.573.
- American Water Works Association (AWWA) (2009) *HYPOCHLORITE—An Assessment of Factors That Influence the Formation of Perchlorate and Other Contaminants*. Denver, CO: AWWA.
- American Water Works Association (AWWA) (2010) ‘Algae: Source to Treatment’, in *Manual of Water Supply Practices M57*. First edit. Denver, CO: AWWA.
- Arzate Cárdenas, M. A. (2008) *Deteccion De Cianobacterias Toxigénicas pertenecientes Al Género Microcystis*. Instituto Politécnico Nacional. Disponible en: <http://www.cic.ipn.mx/sitioCIC/images/sources/cic/tesis/B020892.pdf>.
- Banker, R., Carmeli, S., Werman, M., Teltsch, B., Porat, R. y Sukenik, a (2001) ‘Uracil moiety is required for toxicity of the cyanobacterial hepatotoxin cylindrospermopsin.’, *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 62(4), pp. 281–8. doi: 10.1080/009841001459432.
- Bastidas, O. (2014) ‘Cell Counting with Neubauer Chamber Basic Hemocytometer Usage’, *Technical Note*, (1), pp. 1–444. doi: 10.1007/s13398-014-0173-7.2.
- Bláha, L., Babica, P. y Maršálek, B. (2009) ‘Toxins produced in cyanobacterial water blooms - toxicity and risks.’, *Interdisciplinary toxicology*, 2(2), pp. 36–41. doi: 10.2478/v10102-009-0006-2.
- Carrasco Gata, D. (2007) *Cianobacterias planctónicas y cianotoxinas en embalses*

- españoles*. Universidad Autónoma de Madrid.
- Cerón, O. (2016) *Procesos de coagulación-floculación para la remoción de materia orgánica disuelta responsable del ensuciamiento irreversible de membranas de microfiltración*. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cerón, O., Martín, A., Rigas, F., Solís, M. y Ramírez, R. (2016) 'Optimization of the coagulation-flocculation process for the removal of natural organic matter fractions present in drinking water sources', *Water Quality Research Journal of Canada*, 51(2), pp. 153–166. doi: 10.2166/wqrjc.2016.041.
- Chatterjee, S. N. y Chaudhuri, K. (2011) *Outer Membrane Vesicles of Bacteria, Microalgae as Feedstock for Biofuels*. Springer. doi: 10.1007/978-3-642-17997-6.
- Chen, H., Burke, J. y Prepas, E. (2011) 'Cyanobacterial Toxins in Fresh Waters', *Journal of Hazardous Materials*, pp. 860–871.
- Cirés, S. y Quesada del Corral, A. (2011) *Catálogo de cianobacterias planctónicas potencialmente tóxicas de las aguas continentales españolas*. España: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Comisión Federal de Mejora Regulatoria (COFEMER) (2017) 'Proyecto de norma oficial mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua.', in *No. Expediente: 02/0021/280617*, pp. 1–170.
- Crittenden, J., Rhodes, R., Hand, D., Howe, K. y Tchobanoglous, G. (2012) *MWH's Water treatment: principles and design*. Third edit. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Cronberg, G. (2005) *Photo guide to cyanobacteria workshop of biology and taxonomy of cyanobacteria*. University of Lund.
- Dixon, M. B., Falconet, C., Ho, L., Chow, C. W. K., O'Neill, B. K. y Newcombe, G. (2011) 'Removal of cyanobacterial metabolites by nanofiltration from two treated waters', *Journal of Hazardous Materials*. Elsevier B.V., 188(1–3), pp. 288–295. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.01.111.
- Dörr, F. A., Pinto, E., Soares, R. M., Oliveira, F. y Azevedo, S. M. (2010) 'Microcystins in

- South American aquatic ecosystems: Occurrence, toxicity and toxicological assays', *Toxicon*. Elsevier Ltd, 56(7), pp. 1247–1256. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.03.018.
- Drikas, M., Chow, C. W. K., House, J. y Burch, M. D. (2001) 'Using coagulation, and settling to remove toxic cyanobacteria', *Journal / American Water Works Association*, 93(2), pp. 100–111.
- Elías Maxil, J. E. (2007) *Remoción de metabolitos de cianobacterias presentes en agua natural mediante el acoplamiento del reactivo de Fenton con el proceso de flotación con aire disuelto*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.
- EPA (2001) 'The Stage 1 Disinfectants and Disinfection Byproducts Rule What Does it Mean to You?', *United States Environmental Protection Agency*, (EPA 816-R-01-014), p. 62.
- EPA (2012) 'Cyanobacteria and Cyanotoxins: Information for Drinking Water Systems', *United States Environmental Protection Agency*, (EPA-810F11001), pp. 1–9.
- Fan, J., Ho, L., Hobson, P. y Brookes, J. (2013) 'Evaluating the effectiveness of copper sulphate, chlorine, potassium permanganate, hydrogen peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity.', *Water research*. Elsevier Ltd, 47(14), pp. 5153–64. doi: 10.1016/j.watres.2013.05.057.
- Fan, Y. (2012) *Chlorination of Toxic Cyanobacterial Cells and Their Associated Toxins*. École Polytechnique de Montréal Mémoire.
- Felix Cañedo, T. E. (2010) *Remoción de contaminantes emergentes en lo sistemas de potabilización de la Ciudad de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gad, A. A. M. y El-Tawel, S. (2016) 'Effect of pre-oxidation by chlorine/permanganate on surface water characteristics and algal toxins', *Desalination and Water Treatment*. Taylor & Francis, 57(38), pp. 17922–17934. doi: 10.1080/19443994.2015.1087337.
- Gaytan-Herrera, M. L., Martinez-Almeida, V., Oliva-Martinez, M. G., Duran-Diaz, Á. y Ramirez-Garcia, P. (2011) 'Temporal variation of phytoplankton from the tropical reservoir Valle de Bravo, Mexico', *Journal of Environmental*

- Biology*, 32(1), pp. 117–126.
- Ghernaout, B., Ghernaout, D. y Saiba, A. (2010) ‘Algae and cyanotoxins removal by coagulation/flocculation: A review’, *Desalination and Water Treatment*, 20(1–3), pp. 133–143. doi: 10.5004/dwt.2010.1202.
- Ghernaout, D., Moulay, S., Messaoudene, N. A., Aichouni, M., Naceur, M. W. y Boucherit, A. (2014) ‘Coagulation and chlorination of NOM and algae in water treatment : A review’, 2(3), pp. 23–34. doi: 10.11648/j.ijema.s.20140203.14.
- Gijsbertsen-Abrahamse, A. J., Schmidt, W., Chorus, I. y Heijman, S. G. J. (2006) ‘Removal of cyanotoxins by ultrafiltration and nanofiltration’, *Journal of Membrane Science*, 276(1–2), pp. 252–259. doi: 10.1016/j.memsci.2005.09.053.
- Giordani, S., Gonzáles, L., Morales, A., Quijano, J. y Tejada, A. (2008) ‘Factibilidad del uso de polímeros para la clarificación del agua potable en la ciudad de Mérida.’, *Revista Científica Juvenil*, VII, pp. 97–107. Available at: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/creando/article/view/1655>.
- Global Water Research Coalition (GWRC) (2009) *International Guidance Manual for the Management of Toxic Cyanobacteria*. Edited by G. Newcombe.
- Gutierrez Pulido, H. y De la Vara Salazar, R. (2008) *Análisis y diseño de experimentos*. Segunda ed. McGraw-Hill.
- Hadjoudja, S., Deluchat, V. y Baudu, M. (2010) ‘Cell surface characterisation of *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella vulgaris*’, *Journal of Colloid and Interface Science*. Elsevier Inc., 342(2), pp. 293–299. doi: 10.1016/j.jcis.2009.10.078.
- Hauxwell, J., Werner, M. y Asplund, T. (2011) *Information item on blue-green algae in Wisconsin water-ecology and ecological effects, locations of blooms, human health effects, and Department monitoring and responses*. Wisconsin.
- Henderson, R., Parsons, S. A. y Jefferson, B. (2008) ‘The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae.’, *Water research*, 42(8–9), pp. 1827–45. doi: 10.1016/j.watres.2007.11.039.
- Henderson, R., Parsons, S. y Jefferson, B. (2008) ‘Successful Removal of Algae through the Control of Zeta Potential’, *Separation Science and Technology*, 43(7), pp. 1653–1666. doi: 10.1080/01496390801973771.

- Hendricks, D. (2006) *Water treatment unit processes: physical and chemical*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis.
- Ho, L., Onstad, G., Gunten, U. Von, Rinck-Pfeiffer, S., Craig, K. y Newcombe, G. (2006) 'Differences in the chlorine reactivity of four microcystin analogues', *Water Research*, 40(6), pp. 1200–1209. doi: 10.1016/j.watres.2006.01.030.
- Holmes, M., Reeve, P., Pestana, C., Chow, C., Newcombe, G., West, J. y Water, S. A. (2015) 'Zeta Potential Measurement for Water Treatment Coagulation Control', *Australia Australian Water Association*, pp. 1–8.
- Huerta Aguilar, C. A. (2011) *Degradación de compuestos aromáticos por medio de dióxido de cloro y sus análisis comparativos*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Jurczak, T., Tarczynska, M., Izydorczyk, K., Mankiewicz, J., Zalewski, M. y Meriluoto, J. (2005) 'Elimination of microcystins by water treatment processes - Examples from Sulejow Reservoir, Poland', *Water Research*, 39(11), pp. 2394–2406. doi: 10.1016/j.watres.2005.04.031.
- Kull, T. P. J., Backlund, P. H., Karlsson, K. M. y Meriluoto, J. a. O. (2004) 'Oxidation of the Cyanobacterial Hepatotoxin Microcystin-LR by Chlorine Dioxide: Reaction Kinetics, Characterization, and Toxicity of Reaction Products', *Environmental Science & Technology*, 38(22), pp. 6025–6031. doi: 10.1021/es0400032.
- Lambert, T. W., Holmes, C. F. B. y Hrudehy, S. E. (1996) 'Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment', *Water Research*, 30(6), pp. 1411–1422. doi: 10.1016/0043-1354(96)00026-7.
- Lapsongpon, T., Leungprasert, S. y Yoshimura, C. (2017) 'Pre-chlorination contact time and the removal and control of *Microcystis aeruginosa* in coagulation', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 67(1). doi: 10.1088/1755-1315/67/1/012011.
- Lee, H. S., Jeong, C. K., Lee, H. M., Choi, S. J., Do, K. S., Kim, K. y Kim, Y. H. (1999) 'On-line trace enrichment for the simultaneous determination of microcystins in aqueous samples using high-performance liquid chromatography with diode-array detection', *Journal of Chromatography A*,

- 848(1–2), pp. 179–184. doi: 10.1016/S0021-9673(99)00499-9.
- Leoni, N. y Rojas, I. (1999) ‘Estudio de la preoxidación por el cloro, dióxido de cloro o peróxido de hidrógeno como mejoramiento de los procesos convencionales utilizados para la potabilización del agua’, *Revista de Ingeniería Universidad de Los Andes*, 9, pp. 38–43.
- Ma, J., Li, G. B., Chen, Z. L., Xu, G. R. y Cai, G. Q. (2001) ‘Enhanced coagulation of surface waters with high organic content by permanganate preoxidation’, in *Water Science and Technology: Water Supply*, pp. 51–61.
- Ma, M., Liu, R., Liu, H. y Qu, J. (2012) ‘Chlorination of *Microcystis aeruginosa* suspension: cell lysis, toxin release and degradation.’, *Journal of hazardous materials*. Elsevier B.V., 217–218, pp. 279–85. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.03.030.
- Ma, M., Liu, R., Liu, H., Qu, J. y Jefferson, W. (2012) ‘Effects and mechanisms of pre-chlorination on *Microcystis aeruginosa* removal by alum coagulation: Significance of the released intracellular organic matter’, *Separation and Purification Technology*. Elsevier B.V., 86, pp. 19–25. doi: 10.1016/j.seppur.2011.10.015.
- Martínez Salgado, M. D. (2006) *Mecanismos físico-químicos de la degradación de la toxina Microcistina-LR*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Matilainen, A., Vepsäläinen, M. y Sillanpää, M. (2010) ‘Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review’, *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier B.V., 159(2), pp. 189–197. doi: 10.1016/j.cis.2010.06.007.
- Meneses, R. (2011) *Evaluación técnico-económica de los procesos de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación utilizando hipoclorito de sodio y coagulantes poliméricos para la remoción de algas en agua de presa*. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mercado, B. (2007) *Estudio sobre la remoción de cianobacterias y sus metabolitos en la planta potabilizadora “ Los Berros”, Sistema Cutzamala*. Tesis de doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Merel, S., Clément, M., Mourot, A., Fessard, V. y Thomas, O. (2010) ‘Characterization of

- cylindrospermopsin chlorination.’, *The Science of the total environment*. Elsevier B.V., 408(16), pp. 3433–42. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.04.033.
- Merel, S., Clément, M. y Thomas, O. (2010) ‘State of the art on cyanotoxins in water and their behaviour towards chlorine’, *Toxicon*, 55(4), pp. 677–691. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.10.028.
- Merel, S., Villarín, M. C., Chung, K. y Snyder, S. (2013) ‘Spatial and thematic distribution of research on cyanotoxins’, *Toxicon*. Elsevier Ltd, 76, pp. 118–131. doi: 10.1016/j.toxicon.2013.09.008.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E. y Thomas, O. (2013) ‘State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins’, *Environment International*. Elsevier Ltd, 59, pp. 303–327. doi: 10.1016/j.envint.2013.06.013.
- Metcalf y Eddy (2003) *Wastewater engineering treatment and reuse*. Fourth Edi. Ney York: McGraw-Hill.
- Newcombe, G., House, J., Ho, L., Baker, P. y Burch, M. D. (2010) *Management strategies for Cyanobacteria: a guide for water utilities*. Adelaide, Australia: Water Quality Research Australia Limited.
- Oberholster, P. J., Botha, A.-M. y Grobbelaar, J. U. (2004) ‘Microcystis aeruginosa: source of toxic microcystins in drinking water’, *African Journal of Biotechnology*, 3(3), pp. 159–168. doi: 10.4314/ajb.v3i3.14935.
- Ortiz Vázquez, A. (2011) *Palicación de la coagulación-floculación acoplada a flotación con aire disuelto para la remoción de algas en un agua de presas*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pantelić, D., Svirčev, Z., Simeunović, J., Vidović, M. y Trajković, I. (2013) ‘Cyanotoxins: Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia’, *Chemosphere*, 91(4), pp. 421–441. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.003.
- Percival, S. L. y Williams, D. W. (2013) ‘Cyanobacteria’, in *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition*. Second Edi. Elsevier, pp. 79–88. doi: 10.1016/B978-0-12-415846-7.00005-6.
- Pérez, S. y Aga, D. S. (2005) ‘Recent advances in the sample preparation, liquid

- chromatography tandem mass spectrometric analysis and environmental fate of microcystins in water’, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 24(7), pp. 658–670. doi: 10.1016/j.trac.2005.04.005.
- Pineda Mendoza, R. M. (2009) *Determinación de cianobacterias toxigénicas productoras de microcistinas por métodos moleculares y bioensayos*. Instituto Politécnico Nacional.
- Puschner, B. y Roegner, A. (2012) *Veterinary Toxicology*. Second Edi, *Veterinary Toxicology*. Second Edi. Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-385926-6.00083-1.
- Quiblier, C., Wood, S., Echenique-Subiadre, I., Heath, M., Villeneuve, A. y Humbert, J.-F. (2013) ‘A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria--ecology, toxin production and risk management.’, *Water research*, 47(15), pp. 5464–79. doi: 10.1016/j.watres.2013.06.042.
- Ramírez, P., Martínez, E., Martínez, M. D. y Eslava, C. (2004) ‘Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton y su relación con la salud humana’, in Rosas, I., Cravioto, A., and Ezcurra, E. (eds) *Microbiología Ambiental*. México: SEMARNAT, p. 134. Disponible en: http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/descarga.html?cv_pub=593&tipo_file=pdf&filename=440.
- Rivasseau, C., Martins, S. y Hennion, M. (1998) ‘Determination of some physicochemical parameters of microcystins (cyanobacterial toxins) and trace level analysis in environmental samples using liquid chromatography’, *Journal of Chromatography A*, 799, pp. 155–169.
- Rocha Lay, D. R. (2011) *Remoción de materia orgánica natural del agua de la presa Madín mediante procesos fisicoquímicos*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rodríguez, E., Onstad, G. D., Kull, T. P. J., Metcalf, J. S., Acero, J. L. y von Gunten, U. (2007) ‘Oxidative elimination of cyanotoxins: comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate.’, *Water research*, 41(15), pp. 3381–93. doi: 10.1016/j.watres.2007.03.033.
- Rosen, B. H. (2015) *Microcystis aeruginosa Microscopic View*, U.S. Geological Survey.

- Šejnohová, L. (2008) *Microcystis: New findings in peptide production, taxonomy and autecology*. Czech Academy of Sciences.
- SEMARNAT (2015) *Inventario Nacional De Plantas Municipales De Potabilización Y De Tratamiento De Aguas Residuales En Operación. Diciembre 2015*. México.
- Shen, Q., Zhu, J., Cheng, L., Zhang, J., Zhang, Z. y Xu, X. (2011) ‘Enhanced algae removal by drinking water treatment of chlorination coupled with coagulation’, *Desalination*. Elsevier B.V., 271(1–3), pp. 236–240. doi: 10.1016/j.desal.2010.12.039.
- Sillanpaa, M. (2015) *NATURAL ORGANIC MATTER Characterization and Treatment Methods*. First edit. Oxford, UK: Elsevier Inc.
- Sorlini, S., Gialdini, F. y Collivignarelli, C. (2013) ‘Removal of cyanobacterial cells and Microcystin-LR from drinking water using a hollow fiber microfiltration pilot plant’, *Desalination*. Elsevier B.V., 309, pp. 106–112. doi: 10.1016/j.desal.2012.09.028.
- Stewart, I., Schluter, P. J. y Shaw, G. R. (2006) ‘Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health - a review.’, *Environmental health : a global access science source*, 5, p. 7. doi: 10.1186/1476-069X-5-7.
- Teixeira, M. R. y Sousa, V. S. (2013) ‘Fouling of nanofiltration membrane: Effects of NOM molecular weight and microcystins’, *Desalination*. Elsevier B.V., 315, pp. 149–155. doi: 10.1016/j.desal.2012.03.012.
- UNESCO (2009) *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay: Manual para la identificación y medidas de gestión*. Edited by S. Bonilla. Montevideo, Uruguay: Programa Hidrológico Internacional.
- de Vargas, L. (2004) *Tratamiento de agua para consumo humano. Plantas de filtración rápida. Manual I: Teoría Tomo I*. Lima, Perú: Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente.
- Vasconcelos, V., Martins, A., Vale, M., Antunes, A., Azevedo, J., Welker, M., Lopez, O. y Montejano, G. (2010) ‘First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico’, *Toxicon*. Elsevier Ltd, 56(3), pp. 425–431. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.04.011.
- Walker, H. W. (2015) *Harmful Algae Blooms in Fresh Water Bodies*. Boca Raton, Florida:

- Group, Taylor & Francis.
- Westrick, J. a., Szlag, D. C., Southwell, B. J. y Sinclair, J. (2010) ‘A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment’, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(5), pp. 1705–1714. doi: 10.1007/s00216-010-3709-5.
- World Health Organization (1999a) *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*, Retrieved March. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01107.x.
- World Health Organization (1999b) *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*, Retrieved March. Edited by I. Chorus and J. Bartram. London: E & FN Spon. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01107.x.
- World Health Organization (2008) ‘Guidelines for drinking-water quality’, *WHO chronicle*, 1(3), p. 564. doi: 10.1016/S1462-0758(00)00006-6.
- Zamyadi, A., Ho, L., Newcombe, G., Bustamante, H. y Prévost, M. (2012) ‘Fate of toxic cyanobacterial cells and disinfection by-products formation after chlorination’, *Water Research*, 46(5), pp. 1524–1535. doi: 10.1016/j.watres.2011.06.029.
- Zhang, X., Yang, Z., Wang, Y., Gao, B. Y. y Yue, Q. (2012) ‘The removal efficiency and reaction mechanism of aluminum coagulant on organic functional groups-carboxyl and hydroxyl’, *Chemical Engineering Journal*. Elsevier B.V., 211–212, pp. 186–194. doi: 10.1016/j.cej.2012.09.056.
- Zhou, S., Shao, Y., Gao, N., Li, L., Deng, J., Zhu, M. y Zhu, S. (2014) ‘Effect of chlorine dioxide on cyanobacterial cell integrity, toxin degradation and disinfection by-product formation.’, *The Science of the total environment*. Elsevier B.V., 482–483, pp. 208–13. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.03.007.

ANEXOS

ANEXO I. Géneros de cianobacterias y cianotoxinas que producen

Tabla I.1. Géneros de cianobacterias y las cianotoxinas que producen

Genero/especie	Metabolitos												
	Neurotoxinas			Hepatotoxinas			Hepatotoxina y citotoxina	Irritantes y toxinas gastrointestinales	Dermatotoxinas			Olor y sabor	
	ANA-a	ANA-a(s)	HANA-a	SAX	NOD	MC	CYL	LPS	APSAX	DBrAPSAX	LA	2-MIB	GEO
<i>Anabaena sp</i>	X					X		X				X	X
<i>Anabaena bergii</i>							X	X					
<i>Anabaena circinalis</i>	X			X		X		X					
<i>Anabaena lappoinica</i>							X	X					
<i>Anabaena lemmermanni</i>		X				X		X					
<i>Anabaena macrospora</i>	X							X					
<i>Anabaena medotae</i>	X							X					
<i>Anabaena nos-aquae</i>	X	X				X		X					
<i>Anabaena planctonica</i>	X							X					
<i>Anabaena spiroides</i>	X					X		X					
<i>Anabaenopsis milleri</i>								X					
<i>Aphanizomenon sp.</i>	X							X					X
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	X			X			X	X					
<i>Aphanizomenon gracile</i>				X				X					
<i>Aphanizomenon issatschenkoi</i>	X			X				X					
<i>Aphanizomenon ovalisporum</i>								X					
<i>Arthrospira fusiformis</i>	X					X		X					
<i>Calothrix crustacean</i>						X		X	X				
<i>Cyanobium bacillare</i>								X					
<i>Cylindrospermum sp.</i>	X							X					
<i>Cylindrospermopsis sp.</i>	X			X				X					
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>				X				X					
<i>Hapalosiphon hibernicus</i>						X		X					
<i>Limnothrix redekei</i>						X		X					
<i>Lyngbya sp.</i>				X				X	X	X			
<i>Microcystis sp.</i>						X		X					
<i>Microcystis aeruginosa</i>	X					X		X					
<i>Microcystis botrys</i>						X		X					
<i>Microcystis farlowian</i>						X		X					
<i>Microcystis flos-aquae</i>						X		X					
<i>Microcystis panniformis</i>						X		X					
<i>Microcystis viridis</i>						X		X					
<i>Microcystis wesenbergii</i>						X		X					

ANEXOS

<i>Nodularina sp.</i>			X			X		
<i>Nodularia spumigena</i>			X			X		
<i>Nostoc sp.</i>				X		X		
<i>Nostoc linckia</i>				X		X		
<i>Nostoc muscorum</i>						X	X	
<i>Nostoc paludosum</i>				X		X		
<i>Nostoc rivulare</i>				X		X		
<i>Nostoc zetrstedrii</i>				X		X		
<i>Oscillatoria sp.</i>	X	X		X		X	X	X
<i>Oscillatoria formosa</i>		X				X		
<i>Oscillatoria limosa</i>				X		X		
<i>Oscillatoria perornata</i>				X		X		
<i>Oscillatoria tenuis</i>				X		X		
<i>Phormidium sp.</i>	X	X				X		X
<i>Phormidium favosum</i>	X					X		
<i>Planktothrix sp.</i>	X					X		
<i>Planktothrix agardhii</i>	X			X		X		X
<i>Planktothrix isothrix</i>	X			X		X		
<i>Planktothrix rubescens</i>	X			X		X		
<i>Pseudoanabaena sp.</i>						X		X
<i>Radiocystis fernandoi</i>				X		X		
<i>Radiocystis curvata</i>					X	X		
<i>Radphidiopsis curvata</i>					X	X		
<i>Schizothrix sp.</i>						X		
<i>Schizothrix calcicola</i>						X	X	
<i>Scytonema mirabile</i>						X	X	
<i>Snowella lacustris</i>				X		X		
<i>Symploca muscorum</i>						X	X	
<i>Synechocystis spp.</i>	X			X		X		
<i>Tolypothrix byssoidea</i>					X	X		
<i>Trichormus variabilis</i>	X					X		
<i>Umezakia</i>					X	X		
<i>Woronichinia aegelian</i>				X		X		
<i>Woronichinia naegeliana</i>	X					X		

ANA-a: Anatoxina-a, ANA-a(S): Anatoxina-a(S), HANA-a: Homoanatoxina-a, SAX: Saxitoxinas, NOD: Nodularina, MC: Microcistina, CYL: Cilindrospermopsina, LPS: Lipopolisacáridos, APSAX: Aplisaxitoxinas, DBrAPSAX: Debromoaplisaxitoxinas, LA: Linbiatoxina-a, 2-MIB: 2-Metilisoborneol, GEO: Geosmina

Fuente: Carrasco (2007); Mercado (2007); Puschner y Roegner (2012)

ANEXO II. Características fisicoquímicas de las cianotoxinas

Tabla II.1. Características fisicoquímicas de las principales cianotoxinas

Metabolito	Grupo funcional	Fórmula química	Peso Molecular (g/mol)	Efecto tóxico	DL ₅₀ µg/kg ratón	Mecanismo de acción	Principales géneros productores	Comentarios
Cianotoxinas								
ANA-a	Alcaloide constituido por una amina secundaria con 6 variantes conocidas	C ₁₀ H ₁₅ NO	165	Neurotóxica	250-375	Se une a los receptores nicotínicos de la acetilcolina lo que produce parálisis muscular	<i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix</i> y <i>Aphanizomenon</i>	Foto sensible se transforma en su forma no tóxica, vida media 1-2 h, estable a pH neutro y ácido (menor a 8), protonada pH (1-8), es soluble, su oxidación depende del pH. pKa = 9.6
CYL	Alcaloide cíclico de guanidina, con 3 variantes conocidas	C ₁₅ H ₂₁ N ₅ O ₇ S ⁺	415.12	Hepatotóxica Citotóxica	2100/24 h 200/5 d	Inhibición de la síntesis de proteínas lo que produce insuficiencia hepática y renal y es promotora de tumores	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Umezakia</i> y <i>Aphanizomenon</i>	Se descompone a altas temperaturas (50°C). Se degrada por la luz solar en 2-3 d, vida media > 10 días, se encuentra en una relación 50:50 de extracelular:intracelular, a pH típico presenta cargas positivas y negativas, es soluble, hidrofílica y resistente a cambios de pH pKa = 8.8
MC	Más de 70 tipos de heptapéptidos cíclicos (varía el aminoácido)	Microcistina LR C ₄₉ H ₇₄ N ₁₀ O ₁₂	995.17	Hepatotóxica	25-150	Inhibición de la enzima fosfatasa lo que produce insuficiencia hepática y hemorragia hepática	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Nostoc</i> y <i>Anabaenopsis</i>	Extremadamente estable y resistente a la hidrólisis química, vida media de meses a años, resistente a temperaturas mayores a 40°C y a pH elevado a bajo (5 a 8), foto degradación mayor a 2 sem y hidrofóbica, pKa = 3.3 (MC-LR)

ANA-a: Anatoxina-a, MC: Microcistina, CYL: Cilindrospermopsina

Fuente: Mercado (2007); Merel *et al.* (2010); Westrick *et al.* (2010); Chen *et al.* (2011); Walker (2015)

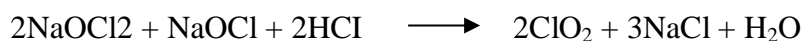
ANEXO III. Generación de dióxido de cloro

Con este procedimiento se obtienen 250 mL de una solución de dióxido de cloro con una concentración aproximada de 3000 mg/L.

Reactivos:

- NaOCl 5.25% v/v marca Golden Bell CAS: 7681-52-9
- NaOCl₂ 25% v/v marca Golden Bell CAS: 7758-19-2
- HCl pureza 36.5-38% marca J.T. Baker™ CAS: 7647-01-0

Reacción:



Procedimiento:

1. Pesar 3.98 g de NaOCl₂
2. Pesar 7.86 g de NaOCl
3. Pesar 1.16 g de HCl
4. Colocar de 150 a 250 mL de agua destilada en un recipiente volumétrico de 250 mL
5. Añadir el NaOCl y mezclar
6. Añadir el HCl y mezclar
7. Añadir el NaOCl₂ y mezclar
8. Aforar a 250 mL con agua destilada
9. Esperar un minuto de reacción antes de usar
10. Ajustar el pH entre 2.5 a 3.5 usando HCl (1N) o NaOCl (1N)

Nota: la generación y almacenamiento del dióxido de cloro debe hacerse en ausencia de luz

ANEXO IV. Técnica para la extracción y cuantificación de MC-LR

Técnica: Extracción en fase sólida y cuantificación por HPLC-Fotodiodos

Materiales y equipos:

- Muestra; se tomaron 500 mL del agua clarificada en cada prueba de jarras
- Cartuchos de extracción fase sólida; marca Phenomenex tipo Strata-X, 33 μm , 500 mg/6 mL 8B-S100-HCH
- Sistema de extracción en fase sólida
- Rotavapor; marca Heidolph Instruments Laborota 4011-digital
- HPLC; marca Agilent modelo 1100

Procedimiento:

El procedimiento de la técnica se muestra en el diagrama siguiente:

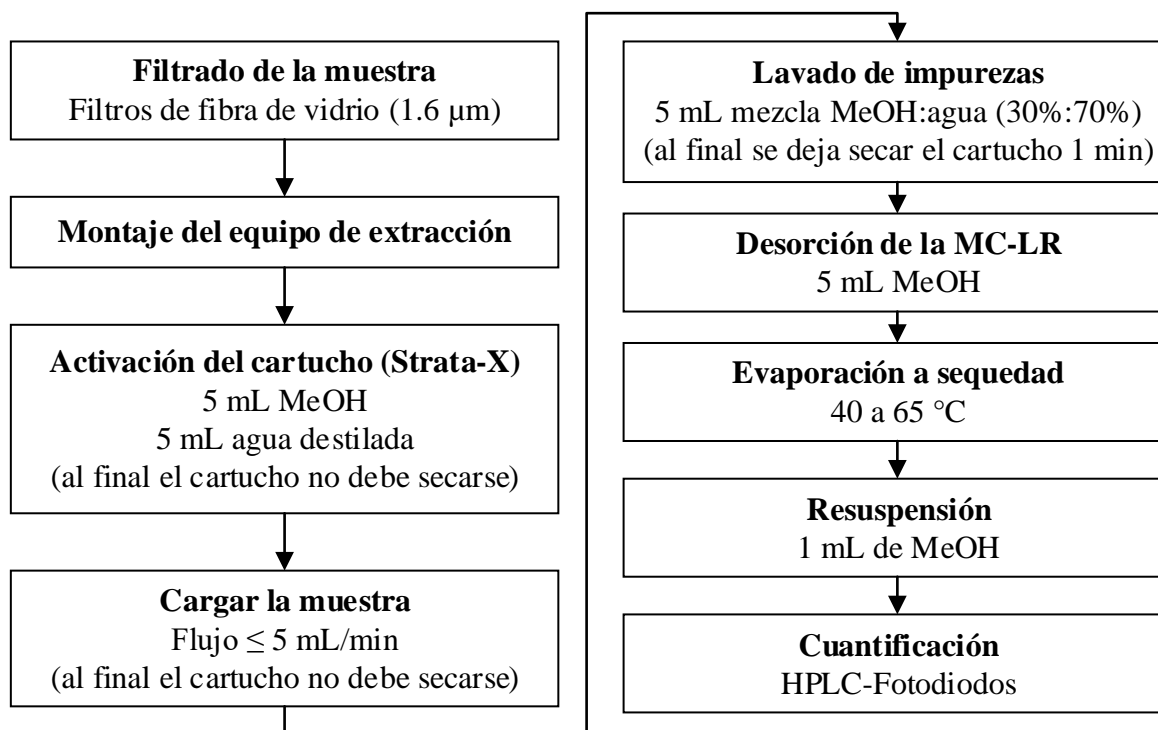


Figura IV.1. Diagrama del procedimiento para cuantificación de la MC-LR

Condiciones cromatográficas para cuantificación de MC-LR:

Se empleó una columna marca J'Sphere ODS-HBO 4 μm (150 x 4.6 mm) marca YMC y las condiciones cromatográficas se muestran en la **Tabla IV.1 y IV.2.**

Tabla IV.1 Condiciones cromatográficas para cuantificación de microcistina-LR.

Condición	
Fase móvil	Gradiente: Ácido fosfórico 0.1%- MeOH- CH ₃ CN
Longitud de onda	238 nm
Flujo	0.7 mL/min
Temperatura	40°C
Volumen de inyección	20 μL
Tiempo de retención	13.4 min
Tiempo de corrida	18 min

Tabla IV.2 Gradientes

Tiempo (min)	% Metanol	% Acetonitrilo	% Ac. Fosfórico 0.1%
0	5	5	90
9	5	35	60
13	5	35	60
17	5	5	90

Curva de calibración:

La curva de calibración para la cuantificación de MC-LR por HPLC se muestra en la **Figura IV.2.**

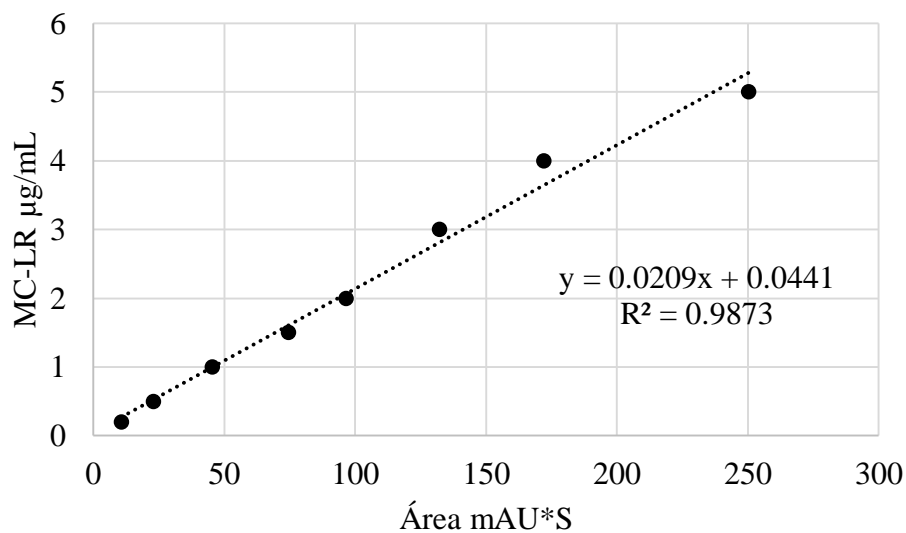


Figura IV.2. Curva de calibración para la cuantificación de MC-LR por HPLC

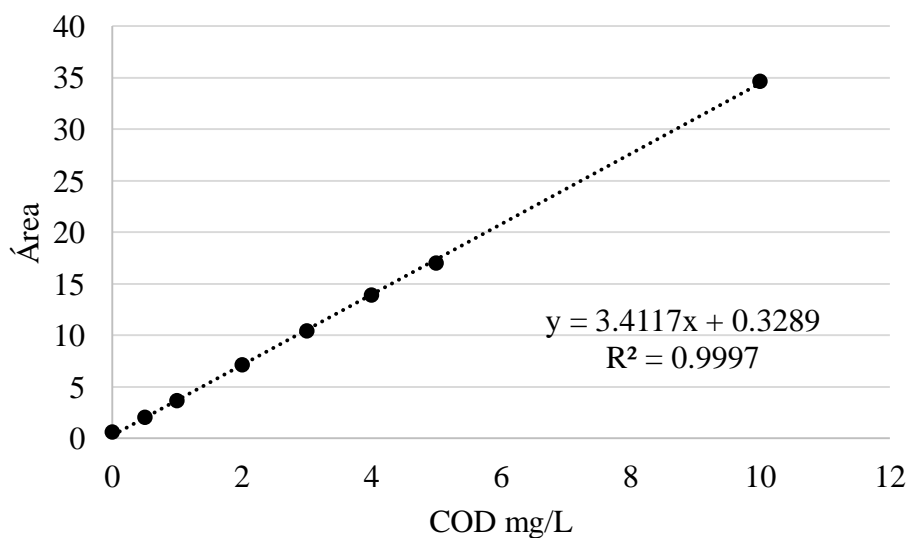
ANEXO V. Curva de calibración de COD

Figura V.1. Curva de calibración para la cuantificación de COD

ANEXO VI. Índice de Willcomb y tamaño de los flóculos

Permite evaluar la calidad de los flóculos producidos asignando un valor cualitativo dependiendo de la observación de su consistencia y velocidad de sedimentación (**Tabla VI.1**). El tamaño y la dispersión de los flóculos se estimó utilizando como referencia la **Figura VI.I** (Giordani *et al.*, 2008).

Tabla VI.1 Valor cualitativo para evaluar la calidad de los flóculos (índice de Willcomb)

No. de índice	Descripción
0	Flóculo coloidal: ningún signo de aglutinación
2	Visible: flóculo muy pequeño, casi imperceptible para un observador no entrenado
4	Disperso: flóculo bien formado pero uniformemente distribuido (sedimenta muy lentamente o no sedimenta)
6	Claro: flóculo de tamaño relativamente grande pero que precipita con lentitud
8	Bueno: flóculo que deposita fácil, pero no completamente
10	Excelente: flóculo que deposita fácil y completamente dejando el agua cristalina

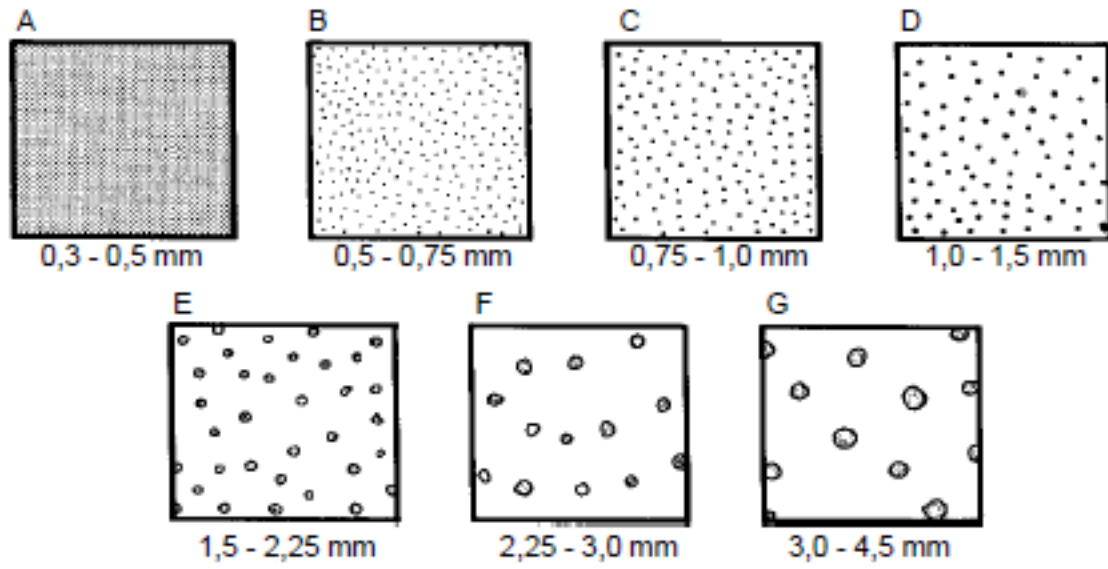


Figura VI.1. Diámetros típicos de referencia para la evaluación de flóculos

ANEXO VII. Cultivo y cuantificación de la cepa de MA:

Caracterización morfológica de la cepa de MA:

La cepa de *Microcystis Aeruginosa*, proporcionada por el laboratorio de bacteriología de la Fes-Iztacala del Dr. Pedro Ramírez, fue aislada de la presa de Valle de Bravo y su identificación se hizo considerando sus características morfológicas.

La identificación morfológica de la cepa fue por observación en microscopio, para lo cual se empleó un microscopio invertido (invertoscopio). Al observar la cepa al microscopio fue posible apreciar su forma esférica con un diámetro de 3-5 μm , el cual está dentro del rango para MA, también fue clara la presencia de aerotopos y la carencia de flagelos (Cronberg, 2005). Sin embargo, no fue posible observar las colonias, sino que se observaron células individuales debido a que bajo las condiciones de cultivo en el laboratorio no tiende a formar colonias (**Figura VII.1**).

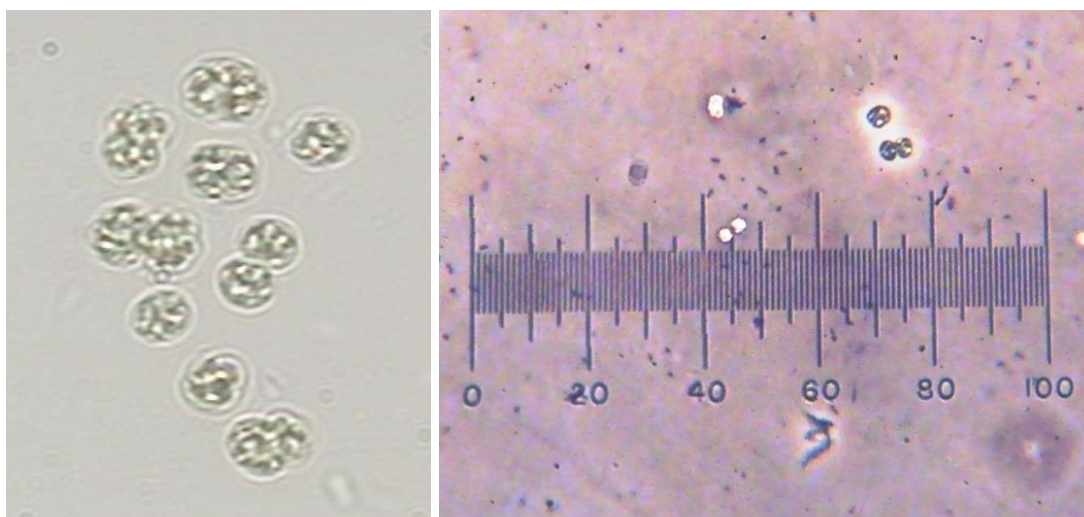


Figura VII.1. A la izquierda se observan células de MA; a la derecha un ejemplo de la medición del diámetro celular

Cultivo de la cepa de MA:

El cultivo de la cepa de *Microcystis aeruginosa* fue realizado en condiciones controladas (Tabla VII.1). Se utilizó un medio de cultivo líquido, denominado Z8 (Tablas VII.2 a VII.5) y el crecimiento se realizó en suspensión empleando una agitación constante.

Tabla VII.1. Condiciones de cultivo de la cepa de MA

Parámetro	Condición
Temperatura	28.5 ± 0.5 °C
Fotoperiodo	14 h (lámparas Sylvania Cool White F30T8/CW 30W)
Modo de crecimiento	Suspensión (dinámico)
Velocidad de agitación	110 rpm

Preparación del medio cultivo Z8:**Tabla VII.2.** Solución stock 1

Compuesto	Cantidad
NaNO ₃	23.35 g
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	2.95 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.25 g

Para preparar la solución stock 1 disolver por separado y en orden cada reactivo en 500 mL de agua destilada.

Tabla VII.3. Solución stock 2

Compuesto	Cantidad
K ₂ HPO ₄	1.55 g
Na ₂ CO ₃	1.05 g

Para preparar la solución stock 2 disolver por separado y en orden cada reactivo en 500 mL de agua destilada.

Tabla VII.4. Solución stock 3

Compuesto	Cantidad
FeCl ₃ ·6H ₂ O	2.80 g
EDTA-Na ₂	3.90 g

Para la solución stock 3 es necesario preparar las siguientes soluciones:

- Solución de Fe: disolver los 2.8 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 100 mL de agua destilada 0.1N HCl
- Solución de EDTA: disolver los 3.9 g de EDTA- Na_2 en 100 mL de agua destilada 0.1N NaOH

Para preparar 100 ml de stock 3 tomar 1 mL de la solución de Fe y disolver en 90 mL de agua destilada, después agregar 0.95 mL de la solución EDTA y aforar a 100 mL

Tabla VII.5. Solución Stock 4

Solución	Formula	Cantidad
1	$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.330 g/100 mL
2	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.880 g/100 mL
3	KBr	1.20 g/100 mL
4	KI	0.83 g/100 mL
5	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.87 g/100 mL
6	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.55 g/100 mL
7	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.46 g/100 mL
8	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.25 g/100 mL
9	$\text{NiSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.98 g/100 mL
10	$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	0.410 g/100 mL
11	V_2O_5	0.0890g/1000 mL
12	$\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	4.74 g/100 mL
13	H_3BO_3	31.0 g
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3 g/1000 mL

Para preparar la solución del stock 4 se agrega 1 mL de las soluciones 1-10 y 12, y 10 mL de las soluciones 11 y 13 a 700 mL de agua destilada y se afora a 1L con agua destilada.

Las soluciones stock se deben esterilizar en autoclave a 120 °C por 15 min.

Para hacer el medio de cultivo Z8 se deben agregar a 500 mL de agua destilada previamente bombeados con CO_2 gaseoso durante 30 minutos, las soluciones stock de la manera siguiente:

- 10 mL de la solución stock 1
- 10 mL de la solución stock 2
- 10 mL de la solución stock 3
- 1 mL de la solución stock 4

La solución se afora a 1 L con agua destilada, se debe esterilizar en autoclave y debe tener un pH entre 6-7.

Procedimiento para preparación del cultivo:

El procedimiento para cultivar la cepa de MA se muestra en el diagrama siguiente (**Figura VII.2**):

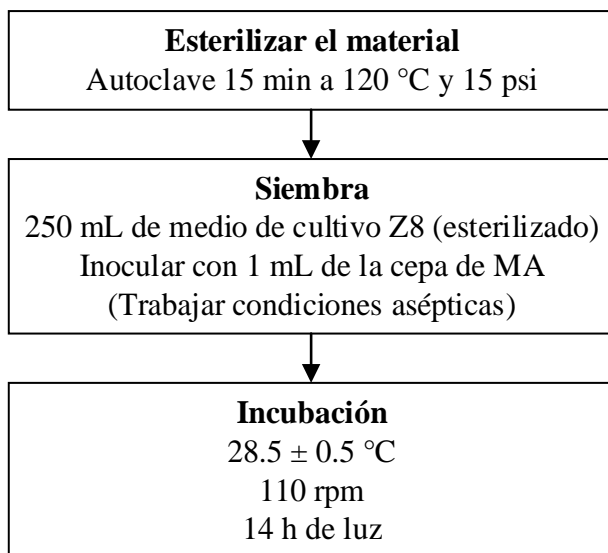


Figura VII. 2. Diagrama del procedimiento para cultivar la cepa de MA

Determinación de la densidad celular:

La concentración celular fue determinada por conteo en cámara de Neubauer y el procedimiento se muestra en el diagrama siguiente (**Figura VII.3**):

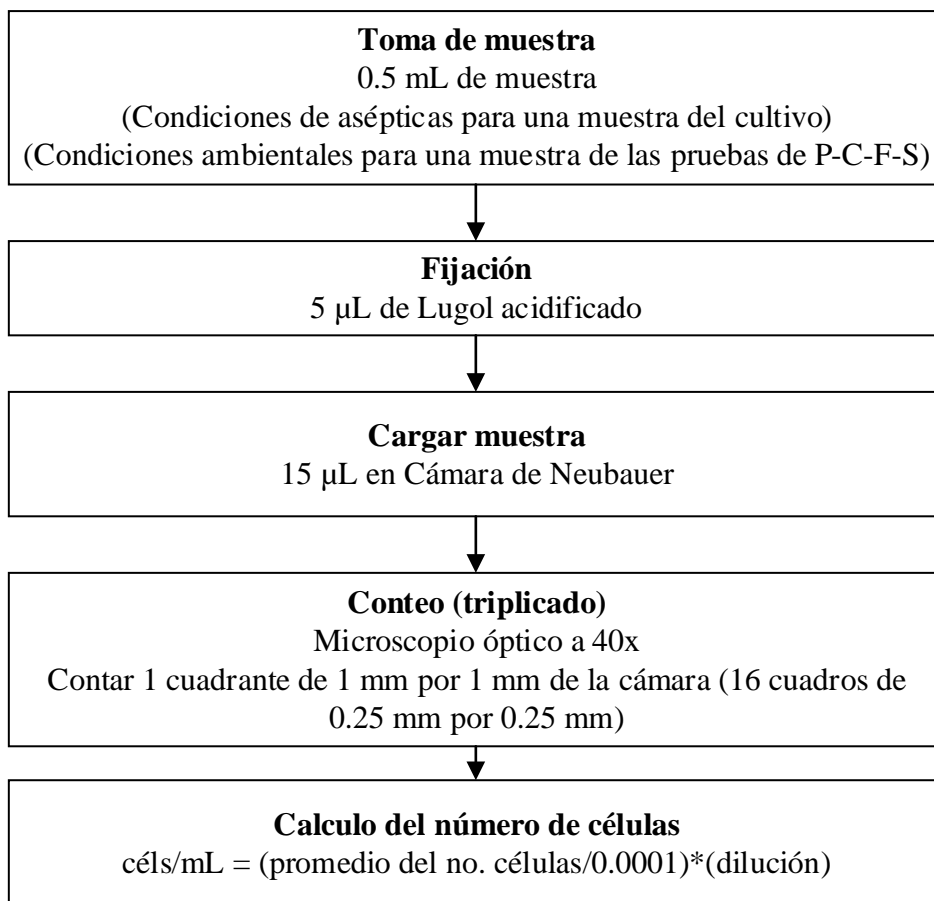


Figura VII.3. Diagrama del procedimiento para calcular la densidad de MA

Preparación de la solución de Lugol acidificado:

Reactivos

Yodo sublimado (I)

Yoduro de Potasio (KI)

Ácido Acético Concentrado (C₂H₄O₂)

Preparación

- Pesar 20 g de Yoduro de potasio (KI)
- Pesar 10 g de Yodo sublimado (I)
- Disolver el yoduro de potasio y el yodo sublimado en 200 mL de agua destilada
- Colocar los 20 mL de ácido acético concentrado
- Agitar para hasta disolver

Resultados de la reproducción de la cepa de MA:

Los resultados del conteo y crecimiento celular se muestran en la **Figura VII.4**. Pudo observarse que los cultivos dinámicos D1, D2 y D3 tuvieron una fase de adaptación de aproximadamente de cinco a seis días, que fue cuando se disparó el crecimiento exponencial alcanzando la fase estacionaria en aproximadamente el día 17 con una densidad celular aproximada de 3×10^7 céls/mL.

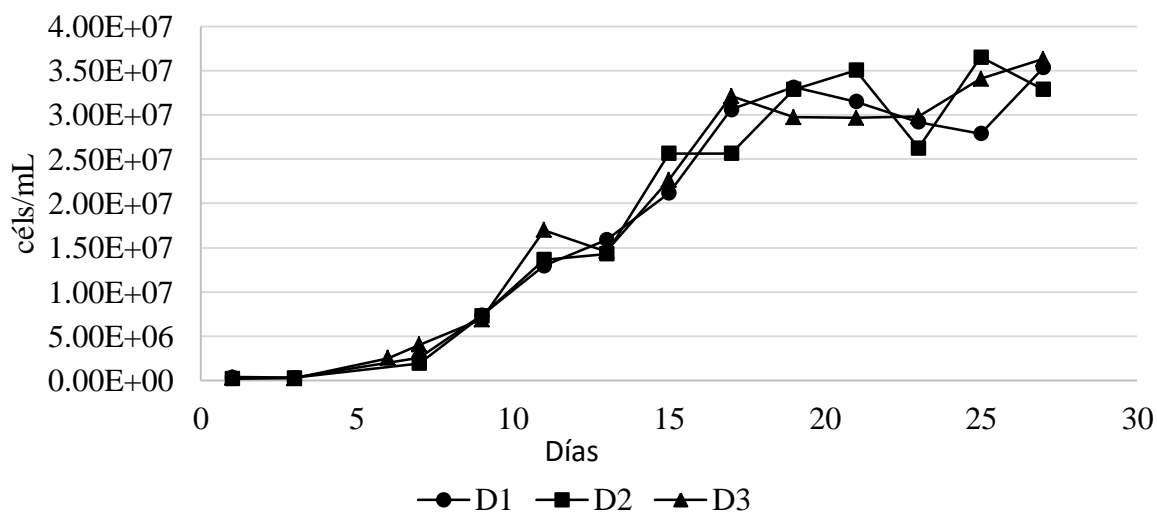


Figura VII.4. Curvas de crecimiento de los cultivos de *M. aeruginosa* en medio dinámico Z8

ANEXO VIII. Análisis de varianza ANOVA para determinar los factores con influencia significativa en la remoción de MOD preoxidando con ClO_2

Tabla VIII.1. ANOVA de los datos de remoción de MOD preoxidando con ClO_2

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:[ClO_2]o	0.024025	1	0.024025	0.10	0.7582
B:[Coagulante]o	2.7889	1	2.7889	11.52	0.0053
C:[MC-LR]o	0.004225	1	0.004225	0.02	0.8971
D:[MA]o	0.156025	1	0.156025	0.64	0.4377
E:HPO:HPI	1.3225	1	1.3225	5.46	0.0376
F:pH	2.4025	1	2.4025	9.92	0.0084
Error total	2.90524	12	0.242103		
Total (corr.)	9.60341	18			

ANEXO IX. Verificación de los supuestos del modelo para validar los resultados del ANOVA en la determinación de los factores con influencia significativa para la remoción de MOD preoxidando con ClO_2

En la gráfica de normalidad (**Figura IX.1**) puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

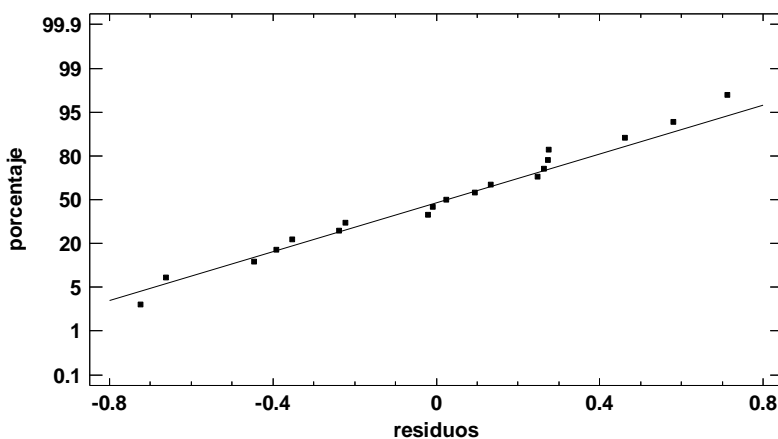


Figura IX.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

En la **Figura IX.2** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia clara.

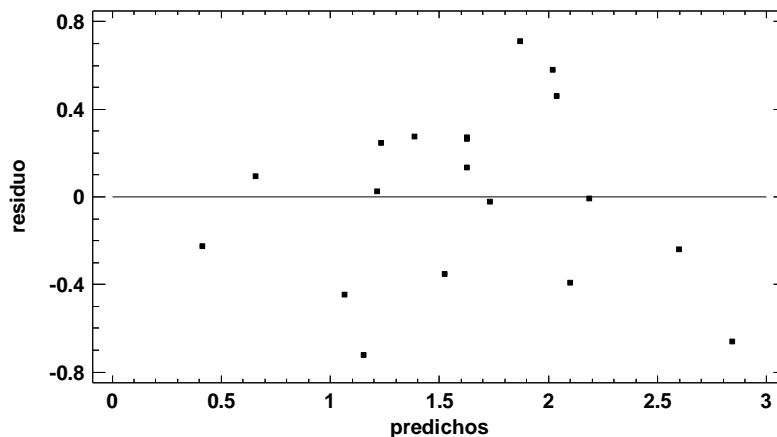


Figura IX.2. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

En la **Figura IX.3** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto.

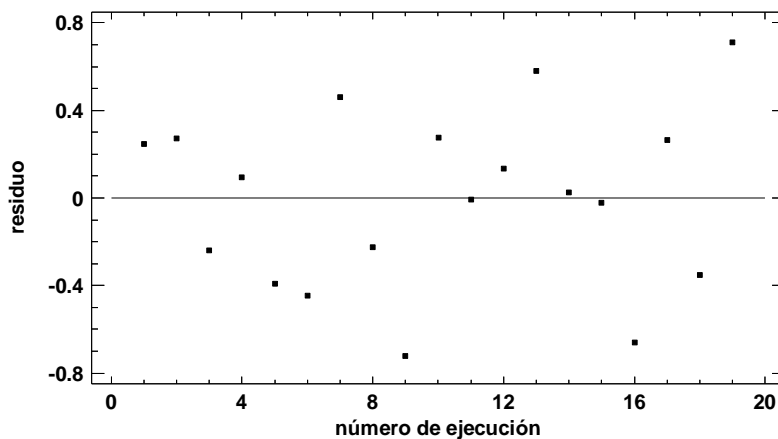


Figura IX.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de la MOD para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

ANEXO X. Determinación de la calidad y tamaño de los flóculos

El índice de Willcomb y el tamaño de los flóculos fueron determinados como se describe en el **ANEXO VI**.

Tabla X.1. Índice de Willcomb y tamaño de los flóculos formados en las pruebas de P-C-F-S (diseño factorial fraccionado)

# Prueba	Hidrofobicidad (%)	Dosis de coagulante (mgAl/L)	Preoxidación con NaOCl		Preoxidación con ClO ₂	
			Índice de Willcomb	Diámetro de referencia	Índice de Willcomb	Diámetro de referencia
Jarra 1	20	3.6	2	A	2	A
Jarra 2	50	8.55	4	B	4	B
Jarra 3	80	13.5	8	C	6	E
Jarra 4	20	3.6	0	A	2	A
Jarra 5	20	13.5	2	A	4	C
Jarra 6	80	3.6	0	A	2	A
Jarra 7	80	3.6	6	C	6	E
Jarra 8	20	3.6	0	A	0	A
Jarra 9	80	3.6	0	A	0	A
Jarra 10	20	3.6	2	A	2	A
Jarra 11	20	13.5	2	A	6	D
Jarra 12	50	8.55	2	A	4	A
Jarra 13	80	13.5	6	D	6	D
Jarra 14	20	13.5	0	A	0	A
Jarra 15	80	3.6	8	C	6	C
Jarra 16	80	13.5	6	C	6	C
Jarra 17	50	8.55	0	A	4	A
Jarra 18	20	13.5	2	B	4	B
Jarra 19	80	13.5	6	C	6	B

ANEXO XI. Tablas del ANOVA y su validación con la verificación de los supuestos del modelo para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MA preoxidando con NaOCl y ClO₂

ANOVA y verificación de los supuestos para los factores con influencia significativa en el tren de tratamiento de P-C-F-S preoxidando con NaOCl.

Tabla XI.1. ANOVA de los datos de remoción de MA preoxidando con NaOCl

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: [NaOCl] _o	2.39013E9	1	2.39013E9	4.05	0.0671
B:[Coagulante] _o	2.59564E8	1	2.59564E8	0.44	0.5197
C:[MC-LR] _o	5.97558E8	1	5.97558E8	1.01	0.3341
D:[MA] _o	1.76299E10	1	1.76299E10	29.88	0.0001
E:HPO:HPI	3.16057E8	1	3.16057E8	0.54	0.4783
F:pH	7.7159E8	1	7.7159E8	1.31	0.2751
Error total	7.07989E9	12	5.89991E8		
Total (corr.)	2.90447E10	18			

Verificación de los supuestos para validar el ANOVA de la **Tabla XI.1**

Normalidad (**Figura XI.1**). Puede observarse la variación que existe entre los residuos presenta un bajo ajuste a la línea recta indicando la variabilidad experimental obtenida por el conteo en cámara de Neubauer.

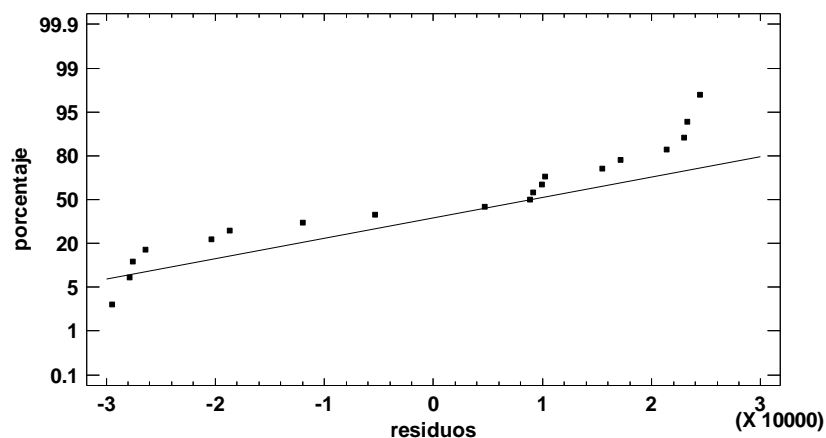


Figura XI.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

En la **Figura XI.2** se comprueba el principio de varianza constante al no presentar los residuos una tendencia, por lo tanto, se puede concluir que se distribuyen aleatoriamente.

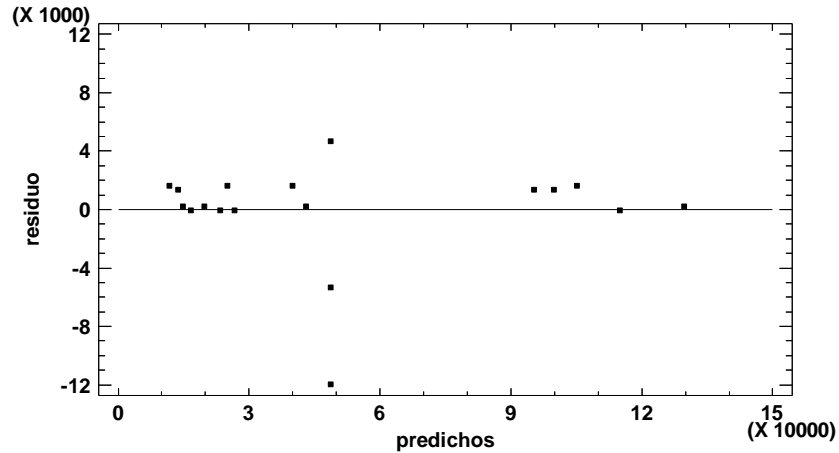


Figura XI.2. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

En la **Figura XI.3** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto, estableciendo que la aleatorización se aplicó de manera correcta.

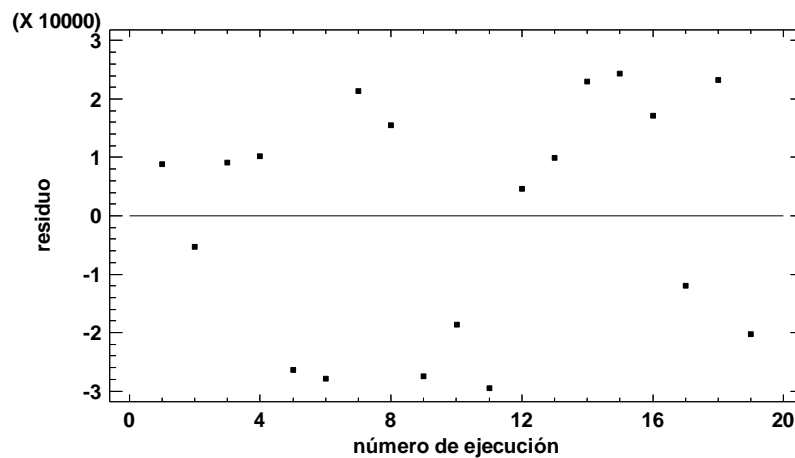


Figura XI.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

ANOVA y verificación de los supuestos para los factores con influencia significativa en el tren de tratamiento de P-C-F-S preoxidando con ClO₂.

Tabla XI.2. ANOVA de los datos de remoción de MA preoxidando con ClO_2

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Preoxidante	3.67364E8	1	3.67364E8	0.88	0.3677
B:Coagulante	8.40293E7	1	8.40293E7	0.20	0.6624
C:MC-LR	5.62463E7	1	5.62463E7	0.13	0.7205
D:M. aeruginosa	1.15562E10	1	1.15562E10	27.56	0.0002
E:HPO:HPI	2.25623E9	1	2.25623E9	5.38	0.0388
F:pH	1.53403E9	1	1.53403E9	3.66	0.0799
Error total	5.0312E9	12	4.19267E8		
Total (corr.)	2.08853E10	18			

Verificación de los supuestos para validar el ANOVA de la **Tabla XI.2.**

Normalidad (**Figura XI.4**). Puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

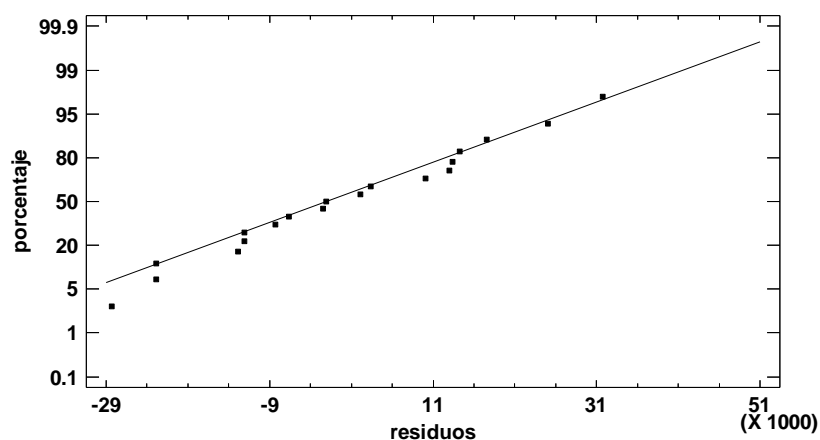


Figura XI.4. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

En la **Figura XI.5** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia.

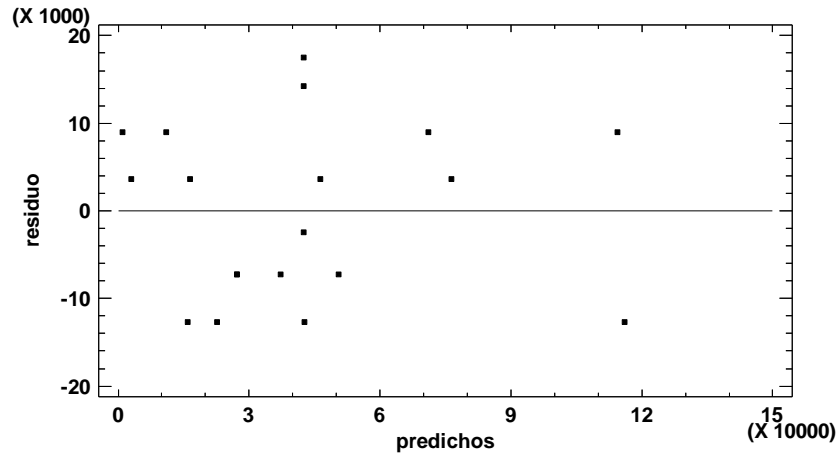


Figura XI.5. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

En la **Figura XI.6** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos se presentan aleatoriamente cumpliendo este supuesto y estableciendo que la aleatorización se aplicó de manera correcta.

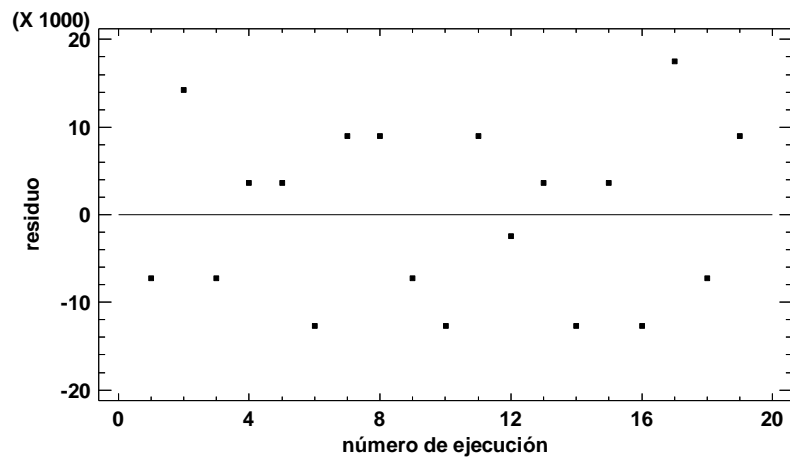


Figura XI.6. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

ANEXO XII. Tablas del ANOVA y su validación con la verificación de los supuestos del modelo para la determinación de los factores con influencia significativa en la remoción de MC-LR preoxidando con NaOCl y ClO₂

ANOVA y verificación de los supuestos para los factores con influencia significativa en el tren de tratamiento de P-C-F-S preoxidando con NaOCl.

Tabla XII.1. ANOVA de los datos de remoción de MC-LR preoxidando con NaOCl

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:[NaOCl]o	0.065025	1	0.065025	0.06	0.8092
B:[Coagulante]o	1.52523	1	1.52523	1.43	0.2549
C:[MC-LR]o	37.6382	1	37.6382	35.28	0.0001
D:[MA]o	2.94123	1	2.94123	2.76	0.1227
E:HPO:HPI	0.245025	1	0.245025	0.23	0.6404
F:pH	4.34723	1	4.34723	4.08	0.0664
Error total	12.8012	12	1.06676		
Total (corr.)	59.5631	18			

Verificación de los supuestos para validar el ANOVA de la **Tabla XII.1**

Normalidad (**Figura XII.1.**). Puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

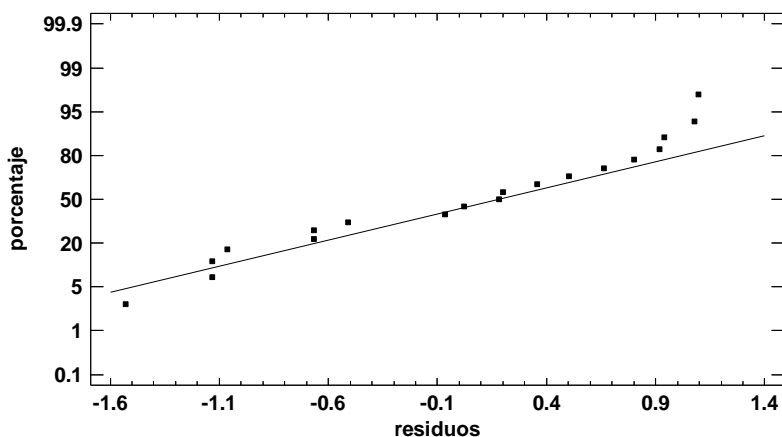


Figura XII.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

En la **Figura XII.2** se comprueba el principio de varianza constante al no presentarse una tendencia en los puntos, por tanto, se distribuyen aleatoriamente.

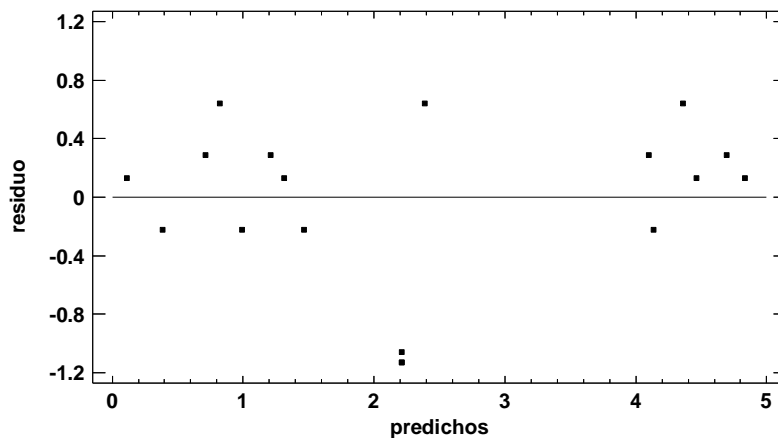


Figura XII.2. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

En la **Figura XII.3** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto estableciendo que la aleatorización se aplicó de manera correcta.

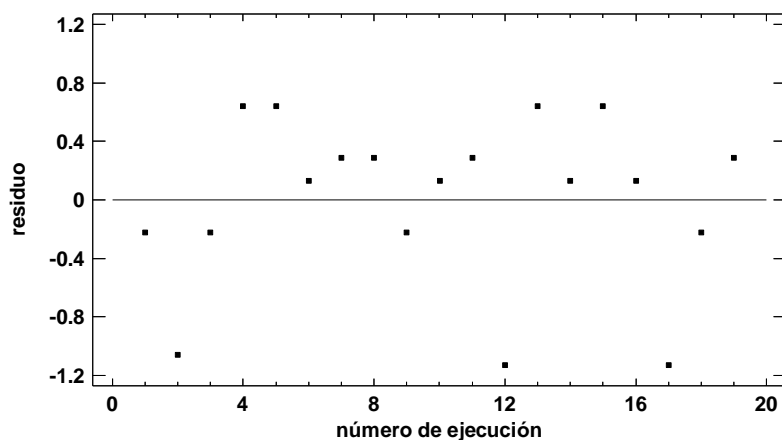


Figura XII.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con NaOCl

ANOVA y verificación de los supuestos para los factores con influencia significativa en el tren de tratamiento de P-C-F-S preoxidando con ClO₂.

Tabla XII.2. ANOVA de los datos de remoción de MC-LR preoxidando con ClO₂

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:[ClO ₂] _o	0.00140625	1	0.00140625	0.00	0.9751
B:[Coagulante] _o	0.975156	1	0.975156	0.71	0.4173
C:[MC-LR] _o	19.2063	1	19.2063	13.90	0.0029
D:[MA] _o	0.124256	1	0.124256	0.09	0.7694
E:HPO:HPI	0.907256	1	0.907256	0.66	0.4336
F:pH	10.6766	1	10.6766	7.73	0.0167
Error total	16.5843	12	1.38203		
Total (corr.)	48.4753	18			

Verificación de los supuestos para validar el ANOVA de la **Tabla XII.2.**

Normalidad (**Figura XII.4**). Puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

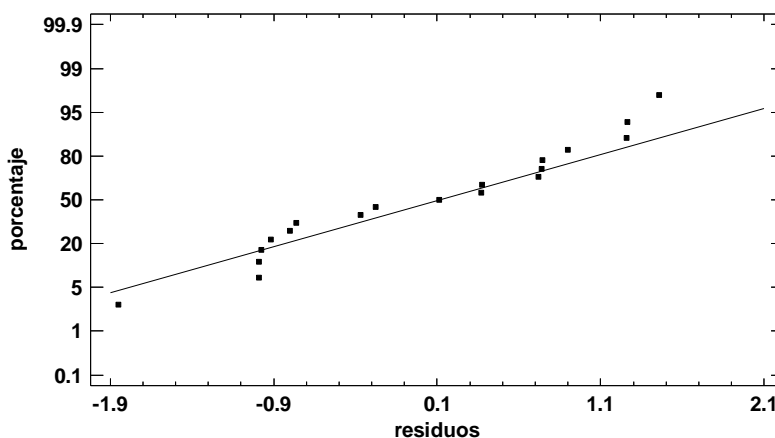


Figura XII.4. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO₂

En la **Figura XII.5**, se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia.

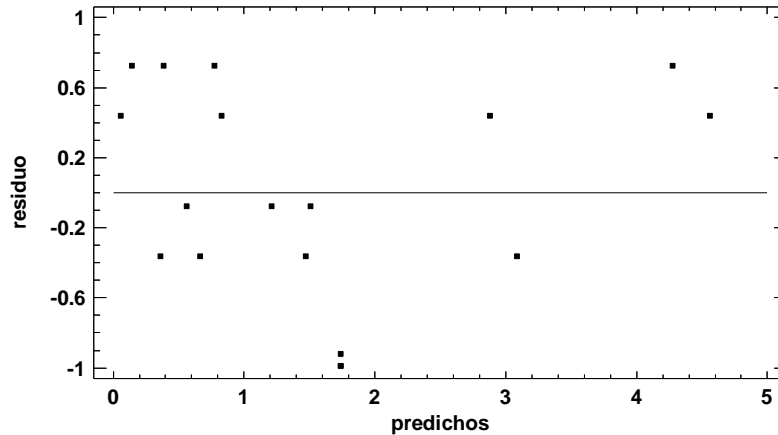


Figura XII.5. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

En la **Figura XII.6** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto estableciendo que la aleatorización se aplicó de manera correcta.

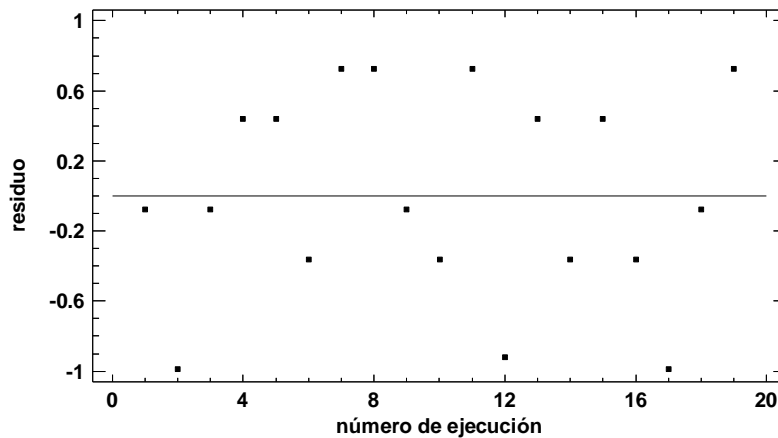


Figura XII.6. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para determinar los factores con influencia significativa preoxidando con ClO_2

ANEXO XIII. Verificación de los supuestos para validar la calidad del ajuste del modelo en la determinación de las condiciones óptimas para la remoción de MOD, MA y MC-LR preoxidando con NaOCl y ClO₂

Los supuestos que validan la calidad del ajuste del modelo para la remoción de MOD cuando se preoxidó con NaOCl se presentan en las Figuras XIII.1 a XIII.3

En la gráfica de normalidad (**Figura XIII.1**) puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

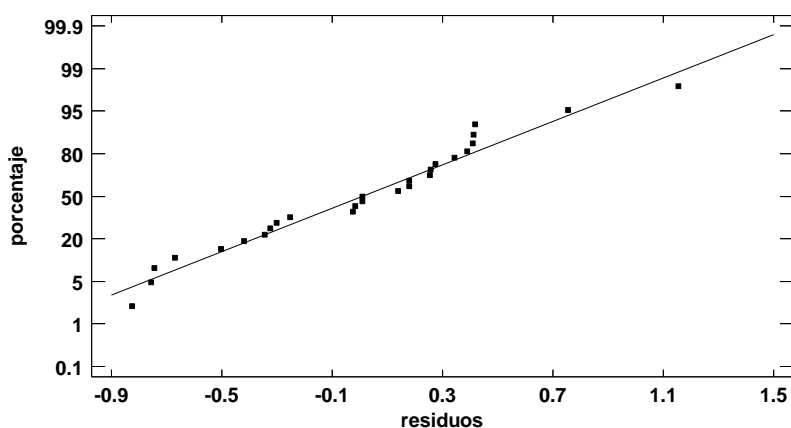


Figura XIII.1. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

En la **Figura XIII.2** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia clara.

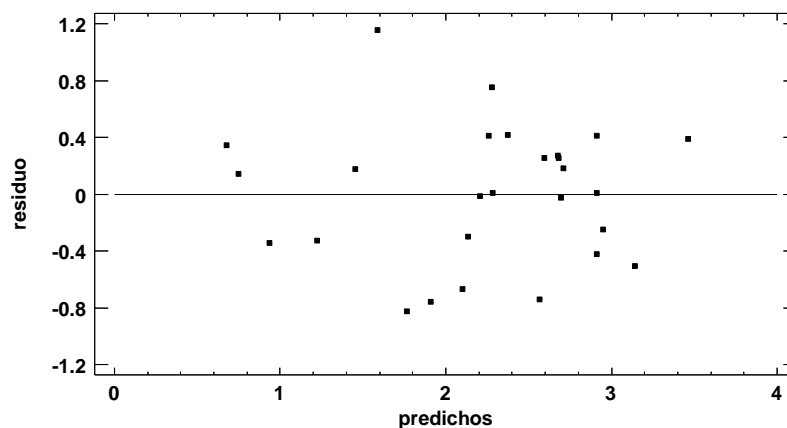


Figura XIII.2. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

En la **Figura XIII.3** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos se presentan aleatoriamente cumpliendo este supuesto.

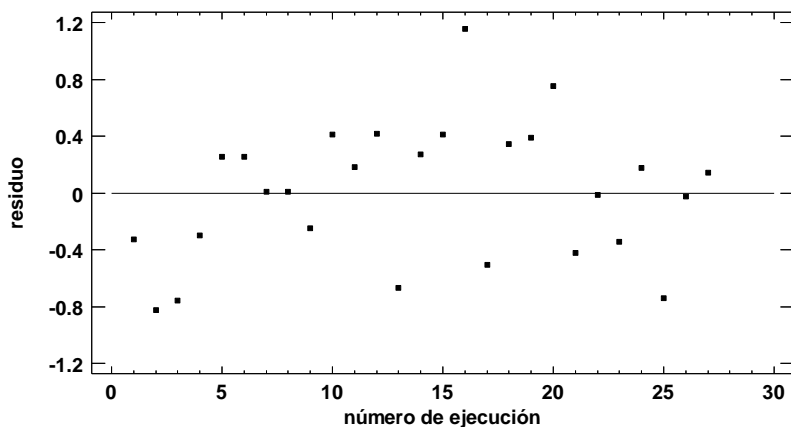


Figura XIII.3. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

Los supuestos que validan la calidad del ajuste del modelo para la remoción de MA cuando se preoxidó con NaOCl se presentan en las Figuras XIII.4 a XIII.6

En la gráfica de normalidad (**Figura XIII.4**) puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

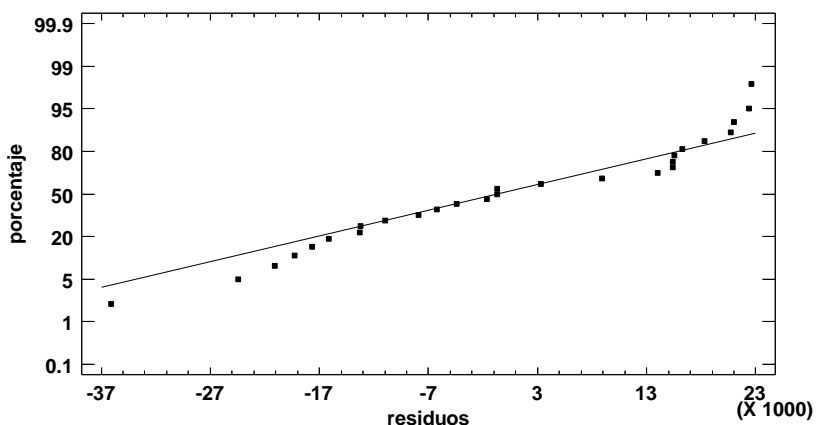


Figura XIII.4. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

En la **Figura XIII.5** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia clara.

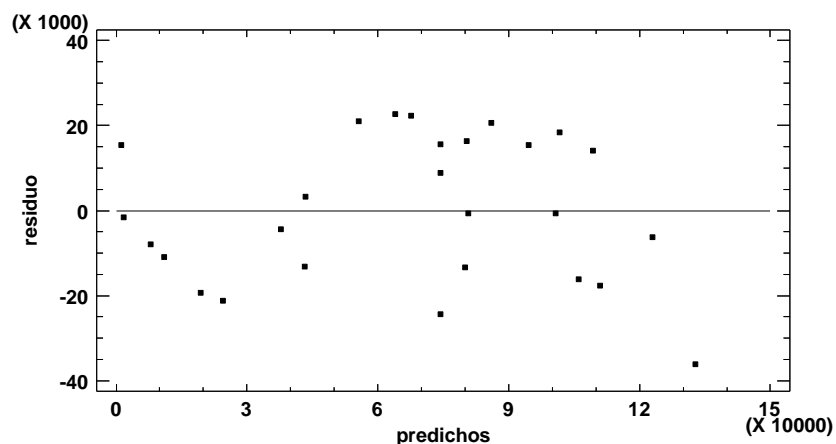


Figura XIII.5. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

En la **Figura XIII.6** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto.

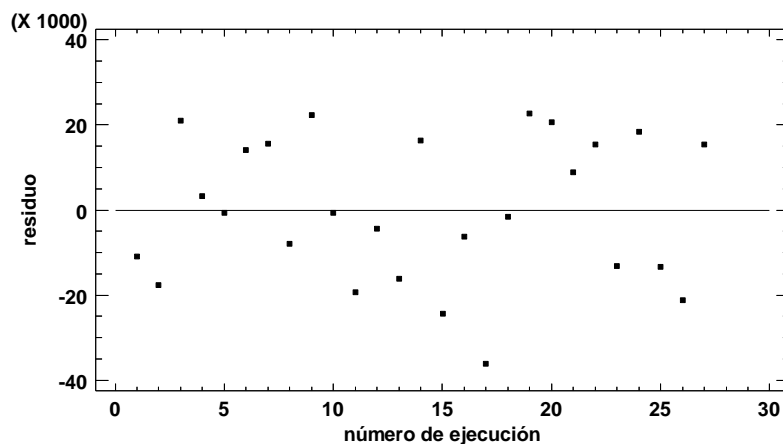


Figura XIII.6. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

Los supuestos que validan la calidad del ajuste del modelo para la remoción de MC-LR cuando se preoxidó con NaOCl se presentan en las Figuras XIII.7 a XIII.9

En la gráfica de normalidad (**Figura XIII.7**) puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

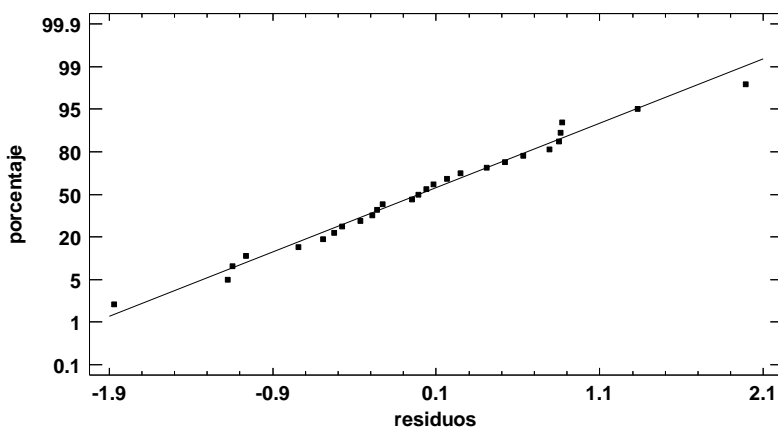


Figura XIII.7. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

En la **Figura XIII.8** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia clara.

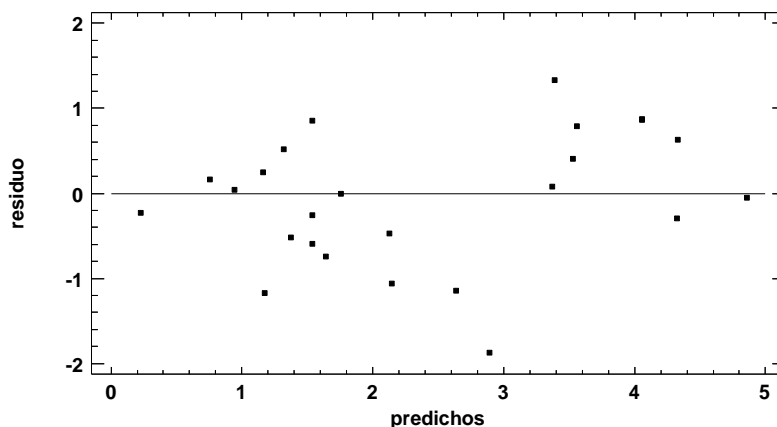


Figura XIII.8. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

En la **Figura XIII.9** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto.

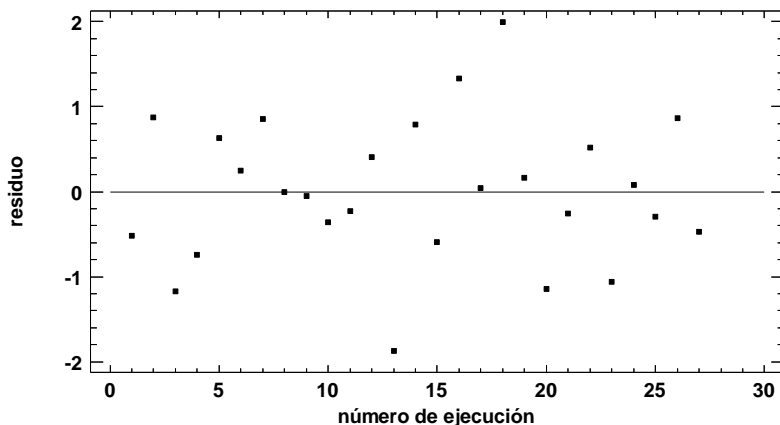


Figura XIII.9. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con NaOCl

Los supuestos que validan la calidad del ajuste del modelo para la remoción de MOD cuando se preoxidó con ClO_2 se presentan en las Figuras XIII.10 a XIII.12

En la gráfica de normalidad (**Figura XIII.10**) puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

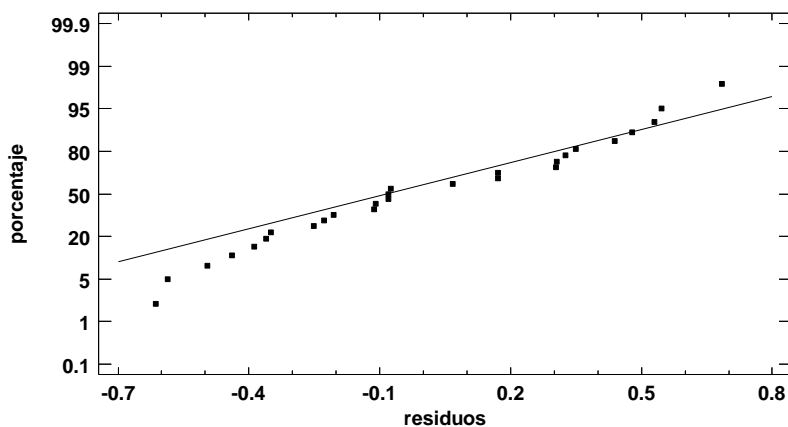


Figura XIII.10. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

En la **Figura XIII.11** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia clara.

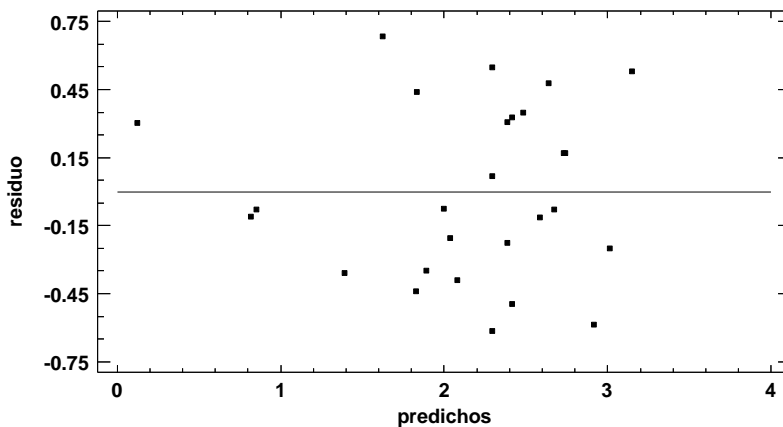


Figura XIII.11. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

En la **Figura XIII.12** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto.

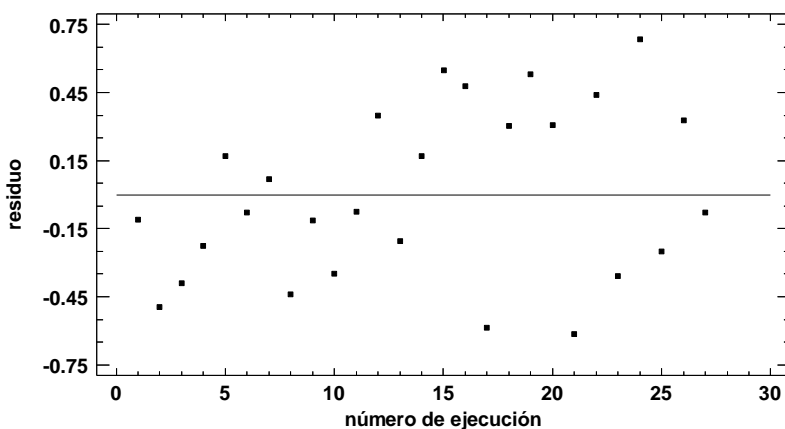


Figura XIII.12. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MOD para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

Los supuestos que validan la calidad del ajuste del modelo para la remoción de MA cuando se preoxidó con ClO_2 se presentan en las Figuras XIII.13 a XIII.15

En la gráfica de normalidad (**Figura XIII.13**) puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

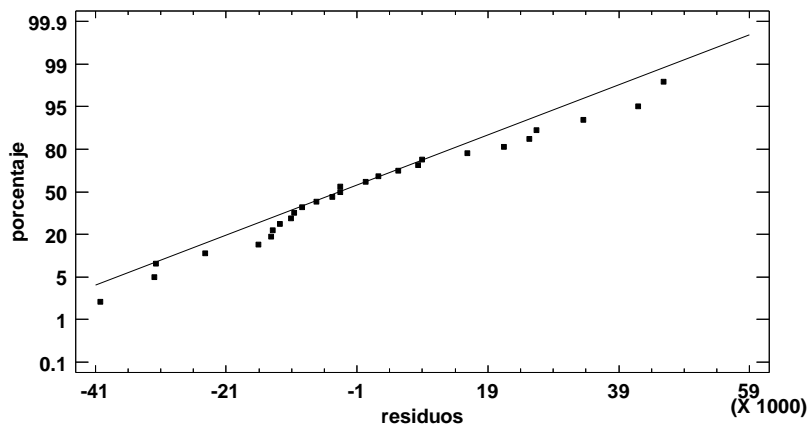


Figura XIII.13. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

En la **Figura XIII.14** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia clara.

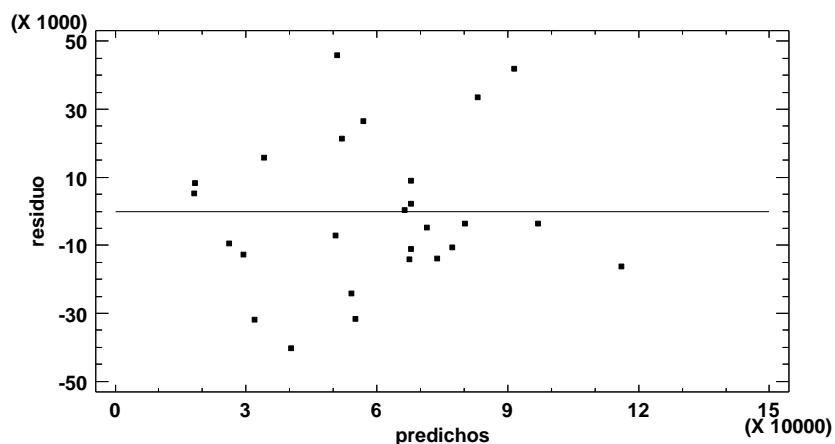


Figura XIII.14. Varianza contante de los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

En la **Figura XIII.15** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos caen aleatoriamente cumpliendo este supuesto.

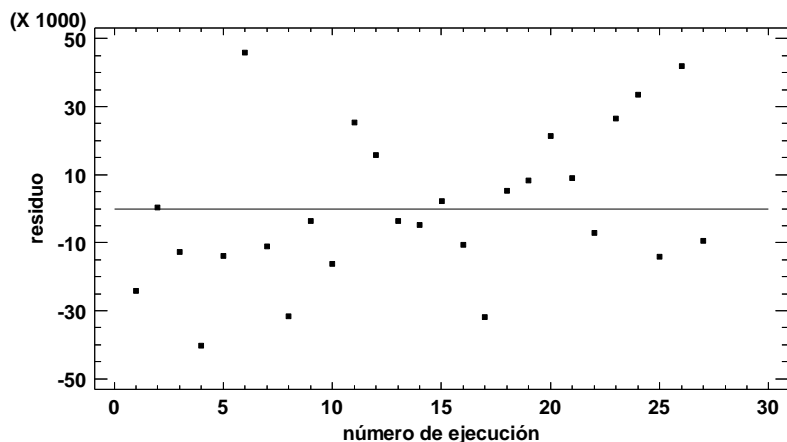


Figura XIII.15. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MA para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

Los supuestos que validan la calidad del ajuste del modelo para la remoción de MC-LR cuando se preoxidó con ClO_2 se presentan en las Figuras XIII.16 a XIII.18

En la gráfica de normalidad (**Figura XIII.16**) puede observarse que la mayoría de los residuos se ajustan a la línea recta indicando el cumplimiento de este supuesto.

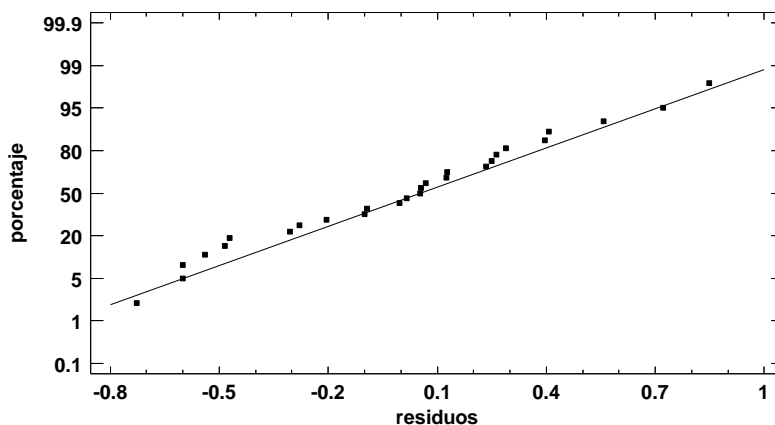


Figura XIII.16. Gráfica de probabilidad normal de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

En la **Figura XIII.17** se puede comprobar la varianza constante al observar que los puntos caen aleatoriamente sin presentar una tendencia clara.

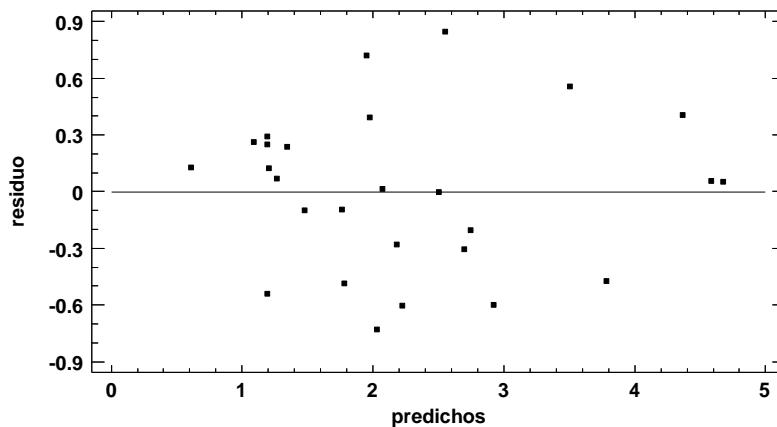


Figura XIII.17. Varianza constante de los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

En la **Figura XIII.18** se analiza el supuesto de independencia y como puede observarse no existe un patrón y los puntos se presentan aleatoriamente cumpliendo este supuesto.

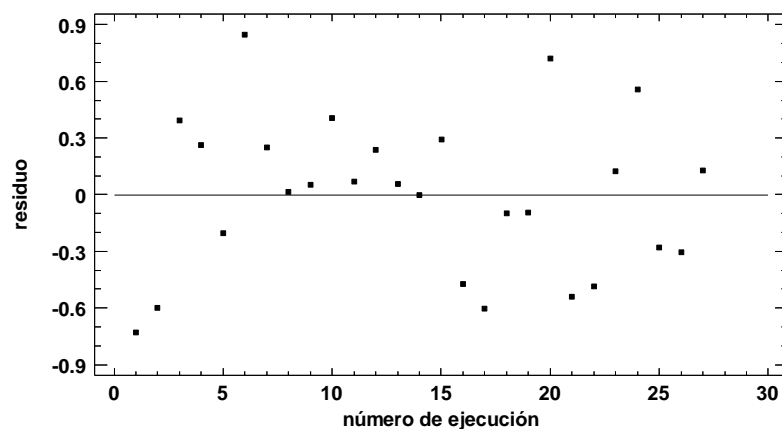


Figura XIII.18. Independencia en los residuos de los datos de remoción de MC-LR para obtener las condiciones óptimas preoxidando con ClO_2

ANEXO XIV. Resultados de remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR en las condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento calculadas por la función deseabilidad

Tabla XIV. 1. Resultados de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR en condiciones óptimas de operación con NaOCl

Parámetro	Unidades	Preoxidación 0.436 mg/L de NaOCl				Sin preoxidación				
		J	J'	Promedio	Desviación	J	J'	Promedio	Desviación	
MOD	Concentración inicial	mg COD/L	5.37	5.09	5.23	0.19	5.66	5.09	5.38	0.40
	Concentración final	mg COD/L	2.90	2.40	2.65	0.35	3.00	2.80	2.90	0.14
	Remoción	mg COD/L	2.47	2.70	2.58	0.16	2.67	2.30	2.48	0.26
	Remoción	%	45.98	52.92	49.45	4.90	47	45	46	1.40
	Remoción normalizada	mg COD/mg Al	0.20	0.22	0.21	0.01	0.22	0.19	0.20	0.02
MA	Concentración inicial	céls/mL	103333	100000	101,667	2,357	106667	113333	110,000	4,714
	Concentración final	céls/mL	16667	6667	11,667	7,071	26667	13333	20,000	9,428
	Remoción	céls/mL	86667	93333	90,000	4,714	80000	100000	90,000	14,142
	Remoción	%	84	93	89	7	75	88	82	9
	Remoción normalizada	céls/mg Al	7086	7632	7,359	385	6541	8177	7,359	1,156
MC-LR	Concentración inicial	µg/L	5.00	5.00	5.00	N/D	5.00	5.00	5.00	N/D
	Concentración final	µg/L	1.31	1.34	1.32	0.02	1.10	1.95	1.52	0.60
	Remoción	µg/L	3.69	3.66	3.68	0.02	3.90	3.05	3.48	0.60
	Remoción	%	73.86	73.27	73.57	0.42	78.0	61.1	69.52	11.94
	Remoción normalizada	µg/mg Al	0.30	0.30	0.30	0.01	0.32	0.25	0.28	0.05

J y J' = prueba de jarras en condiciones óptimas y su duplicado; N/D = no determinada

Tabla XIV. 2. Resultados de la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR en condiciones óptimas de operación con ClO₂

Parámetro	Unidades	Preoxidación 1 mg/L de ClO ₂				Sin preoxidación				
		J	J'	Promedio	Desviación	J	J'	Promedio	Desviación	
MOD	Concentración inicial	mg COD/L	5.42	5.36	5.39	0.04	6.86	5.87	6.37	0.70
	Concentración final	mg COD/L	2.69	2.75	2.72	0.04	2.58	2.68	2.63	0.07
	Remoción	mg COD/L	2.72	2.62	2.67	0.08	4.28	3.19	3.74	0.77
	Remoción	%	50	49	50	1.05	62	54	58	6
	Remoción normalizada	mg COD/mg Al	0.27	0.26	0.26	0.01	0.42	0.32	0.37	0.08
MA	Concentración inicial	céls/mL	100000	116667	108,333	11,785	116667	106667	111,667	7,071
	Concentración final	céls/mL	20000	30000	25,000	7,071	26667	20000	23,333	4,714
	Remoción	céls/mL	80000	86667	83,333	4,714	90000	86667	88,333	2,357
	Remoción	%	80	74	77	4	77	81	79	2.90
	Remoción normalizada	céls/mg Al	7921	8581	8,251	467	8911	8581	8,746	233
MC-LR	Concentración inicial	µg/L	5.00	5.00	5.00	N/D	5.00	5.00	5.00	N/D
	Concentración final	µg/L	1.06	0.77	0.91	0.20	1.31	1.94	1.62	0.44
	Remoción	µg/L	3.94	4.23	4.09	0.20	3.69	3.06	3.38	0.44
	Remoción	%	79	85	81.72	4	73.85	61.27	67.56	8.89
	Remoción normalizada	µg/mg Al	0.39	0.42	0.40	0.02	0.37	0.30	0.33	0.04

J y J' = prueba de jarras en condiciones óptimas y su duplicado; N/D = no determinada

ANEXO XV. Concentraciones residuales en el agua clarificada después del tratamiento para la remoción simultánea de MOD, MA y MC-LR por P-C-F-S aplicado las condiciones óptimas

Tabla XV.1. Concentraciones iniciales y finales en el agua clarificada

Parámetro		Unidades	Preoxidación 0.436 mg/L de NaOCl				Sin preoxidación			
			J	J'	Promedio	Desviación	J	J'	Promedio	Desviación
Turbiedad	Concentración inicial	UTN	5.85	5.55	5.70	0.21	5.87	6.03	5.95	0.11
	Concentración final	UTN	3.9	3.58	3.74	0.23	4.74	4.53	4.64	0.15
Color verdadero	Concentración inicial	Pt-Co	122	123	122.50	0.71	124	125	124.5	0.71
	Concentración final	Pt-Co	0	0	0	0	25	23	24.0	1.41
Cloro residual	Concentración final	mg/L	0.01	0.01	0.01	0.01	-	-	-	-
Índice de Willcomb		-	8D	8D	-	-	6D	6D	-	-
			Preoxidación 1 mg/L de ClO ₂				Sin preoxidación			
Turbiedad	Concentración inicial	UTN	5.74	5.69	5.72	0.04	6.00	6.05	6.03	0.04
	Concentración final	UTN	7.76	6.87	7.32	0.63	9.21	8.72	8.97	0.35
Color verdadero	Concentración inicial	Pt-Co	117	120	118.50	2.12	125	126	125.50	0.71
	Concentración final	Pt-Co	6	5	5.50	0.71	3	3	3.00	0.00
Cloro residual	Concentración final	mg/L	0.06	0.08	0.07	0.01	-	-	-	-
Índice de Willcomb		-	6C	6C	-	-	6A	6A	-	-

J y J' = prueba de jarras en condiciones óptimas y su duplicado

ANEXO XVI. Determinación de la influencia de MA y MC-LR sobre la remoción de la MOD en condiciones óptimas de operación del tren de tratamiento con NaOCl y ClO₂

Tabla XVI. 1. Remoción de MOD para determinación de la influencia de MA y MC-LR en condiciones óptimas de operación con NaOCl y ClO₂

Preoxidante		Unidades	Prueba en condiciones óptimas							
			MOD				MOD + MC-LR			
			J	J'	Promedio	Desviación	J	J'	Promedio	Desviación
NaOCl	Concentración inicial	mg COD/L	6.65	6.53	6.59	0.08	6.78	6.20	6.49	0.41
	Concentración final	mg COD/L	2.87	2.80	2.84	0.05	2.97	2.84	2.91	0.09
	Remoción	mg COD/L	3.78	3.74	3.76	0.03	3.80	3.35	3.58	0.32
	Remoción	%	56.79	57.18	56.98	0.27	56.14	54.12	55.13	1.43
	Remoción normalizada	mg COD/mg Al	0.31	0.31	0.31	0.002	0.31	0.27	0.29	0.03
ClO ₂	Concentración inicial	mg COD/L	5.96	5.96	5.96	0.00	6.04	6.09	6.0615	0.04
	Concentración final	mg COD/L	2.78	2.77	2.78	0.01	2.93	3.14	3.03	0.15
	Remoción	mg COD/L	3.18	3.19	3.18	0.01	3.11	2.953	3.03	0.11
	Remoción	%	53.36	53.49	53.42	0.09	51.53	48.51	50.02	2.14
	Remoción normalizada	mg COD/mg Al	0.31	0.32	0.32	0.001	0.31	0.29	0.30	0.01

J y J' = prueba de jarras en condiciones óptimas y su duplicado

ANEXO XVII. Pruebas de medición del potencial Z para la determinar el efecto de los preoxidantes (ClO_2 , NaOCl) sobre la estabilidad electrostática de MA

El potencial Z fue el parámetro empleado para determinar el efecto de cada uno de los preoxidantes sobre la carga superficial de MA. El potencial fue medido con base en la técnica ASTM D 4187-82 en un Zeta-Meter 4.0. El principio del método es medir el desplazamiento de un coloide cuando se coloca una suspensión coloidal entre dos electrodos que aplican tensión de corriente continua entre ellos y la velocidad de desplazamiento del coloide será proporcional al potencial Z. Entre menor sea el valor del potencial Z mayor estabilidad presenta la suspensión coloidal (Henderson *et al.*, 2008b; Sillanpaa, 2015).

Para las pruebas de potencial Z el rango de operación de pH fue de entre 3 y 9, que es un rango dentro del cual se encuentra el pH usado en las pruebas experimentales de preoxidación-coagulación-floculación-sedimentación (pH 5 a 8).

La preparación de la muestra se llevó a cabo según lo establecido por Hadjoudja *et al.* (2010) que consiste en realizar un lavado con EDTA y fijar la fuerza iónica con nitrato de sodio (NaNO_3). Se tomaron cuatro muestras de 40 mL, de un cultivo de MA, a las cuales se les aplicaron dos ciclos de centrifugado a 500 g por 20 minutos (Centrífuga SOLBAT C-600), se decantó el sobrenadante y las muestras se resuspendieron nuevamente en 40 mL de EDTA 0.001M. A continuación, se sometieron nuevamente a dos periodos de centrifugado a 500g por 20 min para finalmente resuspenderse en 50 mL de NaNO_3 0.01M. Una vez finalizado el centrifugado, las cuatro muestras se mezclaron en un sólo recipiente para obtener una mezcla homogénea de MA.

Posteriormente, para cada experimento de potencial Z se tomaron 3 mL de la mezcla homogénea de MA y se diluyeron a 40 mL con NaNO_3 0.01M, el ajuste de pH se hizo con ácido nítrico (HNO_3) 0.01M o hidróxido de sodio (NaOH) 0.01M. Una vez ajustado el pH se adicionó el preoxidante con un tiempo de reacción de 10 s y la reacción se detuvo con

ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) (**Tabla XVII.1**). Finalmente, las muestras se colocaron en la celda de electroforesis para medir el potencial Z a 100 mV.

Tabla XVII.1. Relación de ácido ascórbico/preoxidante para detener la reacción de oxidación

Preoxidante	Relación (moles de $C_6H_8O_6$ /moles de preoxidante)	Fuente
NaOCl	1.25	Kull <i>et al.</i> (2004)
ClO ₂	7.35	AWWA (2009)

En la **Tabla XVII.2** se presentan las condiciones de dosis de preoxidante y puntos de pH evaluados en los experimentos. Para ambos preoxidantes fueron evaluadas la dosis baja y la dosis alta, de acuerdo al diseño de experimentos.

Tabla XVII.2. Dosis de preoxidante y puntos de pH evaluados en las pruebas de potencial Z

NaOCl									
Blanco	Preoxidante (mg/L)	0				-			
	pH	3.18	6.08	7.30	9.07	-			
Preoxidación	Preoxidante (mg/L)	0.25				2			
	pH	3.13	6.03	7.29	8.99	3.20	6.07	7.09	9.02
ClO ₂									
Blanco	Preoxidante (mg/L)	0				-			
	pH	3.22	6.14	7.40	9.28	-			
Preoxidación	Preoxidante (mg/L)	0.1				1			
	pH	3.30	6.27	7.42	9.29	3.25	6.01	7.49	8.96

ANEXO XVIII. Resultados de las pruebas de potencial Z para determinar el efecto de los preoxidantes sobre la estabilidad electrostática de MA

Tabla. XVIII.1. Determinación del potencial Z preoxidando con NaOCl

Preoxidante (mg/L)	Muestra	PH	Conductancia (microS/cm)	Media	Desviación	Lecturas
S/P*	1	3.18	1144	-29.13	1.88	30
	2	6.08	1086	-31.67	2.96	38
	3	7.3	1110	-39.99	2.81	30
	4	9.07	1067	-47.79	2.81	30
2	1	3.2	1233	-31.4	1.80	31
	2	6.07	1031	-43.34	2.77	30
	3	7.09	1028	-54.01	2.96	30
	4	9.02	1028	-54.61	2.35	30
0.25	1	3.13	1085	-25.48	1.72	30
	2	6.03	1042	-42.09	1.59	30
	3	7.29	1038	-45.91	2.02	30
	4	8.99	1033	-49.26	2.03	30

Tabla. XVIII.2. Determinación del potencial Z preoxidando con ClO₂

Preoxidante (mg/L)	Muestra	PH	Conductancia (microS/cm)	Media	Desviación	Lecturas
S/P*	1	3.22	1034.5	-20.18	3.00	30
	2	6.14	1017	-46.38	2.56	30
	3	7.4	1009.5	-45.18	3.31	30
	4	9.28	1012	-47.925	2.65	32
0.1	1	3.3	1057	-34.28	1.71	30
	2	6.27	1036	-44.77	2.25	32
	3	7.42	1021	-50.61	2.47	33
	4	9.29	1025	-48.48	2.96	33
1	1	3.25	1081	-30.77	2.17	30
	2	6.01	1025	-47.81	3.20	30
	3	7.49	1003.5	-51.23	4.11	29
	4	8.96	997.25	-48.78	2.44	30

*S/P = sin preoxidante