

TECNOLÓGICO DE ESTUDIOS SUPERIORES DE TIANGUISTENCO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**OPCIÓN
IX TESIS**

**OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA
PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.**

**Que para obtener el Título de
INGENIERO AMBIENTAL**

PRESENTA

Diana Valeria Lara Samano

DIRECTORA:

Dra. Alma Neli Hernández Arias

Marzo 2022

Índice general

	Página
Índice general	ii
Índice de figuras	v
Índice de tablas	vii
Resumen	x
Abstract	xi
Introducción	xii
Planteamiento del problema	xv
Justificación	xvi
Objetivos	
Objetivo general	xvii
Objetivos específicos	
	Capítulo 1
	Generalidades
1.1 Procesos de Oxidación Avanzada (POA)	1
1.1.1 Ozono (O ₃)	2
1.1.1.1 Ozonización del agua	4
1.1.2 Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)	4
1.1.3 Generación de radicales •OH	5
1.1.4 Ozono y H ₂ O ₂	6
1.1.5 Poliacrilato de sodio	6
1.2 Reactor tipo Batch	8
1.2.1 Ecuación general para el diseño de un reactor tipo Batch	8
1.2.2 Operación de mezclado	10
1.2.2.1 Tipos de flujos	10
1.2.2.2 Agitadores para líquidos con viscosidades moderadas	11
1.2.3 Variables para la construcción del reactor tipo Batch	11
1.2.4 Selección del volumen del reactor	12
1.3 El agua	13
1.3.1 Composición y estructura del agua	14

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

1.3.2	Análisis de parámetros físico-químicos del agua	15
1.3.3	Calidad del agua	17
1.4	Las bacterias	18
1.4.1	Gram positiva y Gram negativa	19
1.4.2	<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	20
1.4.3	<i>Bacillus subtilis</i> (<i>B. subtilis</i>)	21
1.5	Tipos de superficies comunes con biocarga	22
1.5.1	Superficies de teléfonos y tabletas	22
1.5.2	Billetes y monedas	24
1.5.3	Cepillos de dientes	25
Capítulo 2		
Desarrollo experimental		
2.1	Diseño del reactor tipo Batch	26
2.1.1	Planos del diseño del reactor tipo Batch en software AutoCAD 2019	27
2.1.2	Construcción del reactor tipo Batch	28
2.2	Aplicación	28
2.2.1	Pruebas preliminares	28
2.2.1.1	Preparación de medios sólido y líquido de cultivo	28
2.2.1.2	Preparación de solución sanitizante	34
2.2.1.3	Aplicación de solución sanitizante a medios de cultivo	36
2.2.1.4	Modificación de las condiciones de solución sanitizante	37
2.2.2	Condiciones finales de solución de poliacrilato de sodio	37
Capítulo 3		
Resultados		
3.1	Resultados del diseño y construcción del reactor tipo Batch	40
3.1.1	Resultados del diseño del reactor tipo Batch en software AutoCAD 2019	40
3.1.2	Resultados de la construcción del reactor tipo Batch	42
3.2	Resultados de la aplicación	43
3.2.1	Resultados de pruebas preliminares	43
3.2.1.1	Primera solución aplicación	43

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

3.2.1.2 Segunda solución aplicación	46
3.2.1.3 Tercera solución aplicación	48
3.3 Resultados de la solución sanitizante con poliacrilato de sodio (cuarta solución)	49
3.3.1 Primera aplicación dos atomizaciones y en forma de aro de inhibición	49
3.3.2 Segunda aplicación tres atomizaciones y en forma de aro de inhibición	58
3.3.3 Tercera aplicación cuatro atomizaciones y en forma de aro de inhibición	66
3.3.4 Cuarta aplicación cinco atomizaciones y en forma de aro de inhibición	74
3.3.5 Quinta aplicación seis atomizaciones y en forma de aro de inhibición	82
3.4 Aplicación en diferentes superficies (monedas, billetes, cepillo dental y pantalla de teléfonos)	90
Conclusiones	92
Bibliografía	94

Índice de figuras

	Página
Figura 1.1: Molécula de ozono.	2
Figura 1.2: Peróxido de hidrógeno.	5
Figura 1.3: Estructura química del poliacrilato de sodio.	7
Figura 1.4: Poliacrilato de sodio a) seco y b) húmedo.	8
Figura 1.5: Ciclo del agua.	13
Figura 1.6: Molécula del agua.	15
Figura 1.7: Diferencias de la pared Gram positiva y Gram negativa.	20
Figura 2.1: Preparación del medio sólido.	29
Figura 2.2: Preparación del medio líquido (Luria Bertani).	30
Figura 2.3: Incubación de bacterias <i>E. coli</i> y <i>B. subtilis</i> .	31
Figura 2.4: Preparación de muestras patrón <i>E. coli</i> y <i>B. subtilis</i> .	31
Figura 2.5: Preparación de diluciones sucesivas.	32
Figura 2.6: Toma y siembra de diluciones sucesivas <i>E. coli</i> y <i>B. subtilis</i> .	33
Figura 2.7: Toma de muestras de dilución de bacterias.	33
Figura 2.8: Adición de dilución a medio de cultivo.	33
Figura 2.9: Esterilización del triángulo para sembrar.	34
Figura 2.10: Siembra en medio de sólido.	34
Figura 2.11: Preparación de solución satinizante.	35
Figura 2.12: Reactor de tratamiento tipo Batch.	35
Figura 2.13: Adición de H ₂ O ₂ .	36
Figura 2.14: Solución sanitizante.	36
Figura 2.15: Aplicación de solución satinizante en forma de aerosol.	36
Figura 2.16: Preparación de soluciones sanitizantes con reactor tipo Batch.	37
Figura 2.17: Preparación de soluciones satinizante añadiendo poliacrilato de sodio.	38
Figura 2.18: Medición de pH de la solución.	38
Figura 2.19: Aplicación de solución sanitizante a medios de cultivo.	39
Figura 3.1 Diseño y dimensiones del reactor tipo Batch.	40
Figura 3.2: Vista superior del reactor tipo Batch.	41

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Figura 3.3: Diseño y dimensiones de la tapa del reactor tipo Batch.	41
Figura 3.4: Vista lateral de la tapa del reactor tipo Batch.	42
Figura 3.5: Reactor de tratamiento tipo Batch.	42
Figura 3.6 Cortina de burbujas en el interior del reactor.	42
Figura 3.7 Tipos de superficies con bacterias.	90
Figura 3.8: Aplicación de solución sanitizante a) cepillo dental, b) teléfono, c)monedas, d) billetes.	91

Índice de tablas

	Página
Tabla 1.1: Propiedades físico-químicas del ozono.	3
Tabla 1.2: Parámetros que influyen en la calidad del agua.	18
Tabla 1.3: Contaminación bacteriana en teléfonos.	23
Tabla 3.1: Resultados primera prueba aplicación de solución sanitizante uno en aerosol a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	43
Tabla 3.2: Resultados primera prueba aplicación de solución sanitizante uno en aerosol a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación	45
Tabla 3.3: Resultados segunda prueba aplicación de solución sanitizante dos en aerosol a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	46
Tabla 3.4: Resultados segunda prueba aplicación de solución sanitizante dos en aerosol a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	47
Tabla 3.5: Resultados tercera prueba aplicación de solución sanitizante tres en aerosol a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	48
Tabla 3.6: Resultados tercera prueba aplicación de solución sanitizante tres en aerosol a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	49
Tabla 3.7: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (dos atomizaciones) a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	50
Tabla 3.8: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (dos atomizaciones) a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	52
Tabla 3.9: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	54
Tabla 3.10: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	56
Tabla 3.11: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (tres atomizaciones) a bacteria <i>E. coli</i> después	58

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

de 24 horas en incubación.	
Tabla 3.12: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (tres atomizaciones) a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	60
Tabla 3.13: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	62
Tabla 3.14: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	64
Tabla 3.15: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cuatro atomizaciones) a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	66
Tabla 3.16: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cuatro atomizaciones) a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	68
Tabla 3.17: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	70
Tabla 3.18: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación	72
Tabla 3.19: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cinco atomizaciones) a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	74
Tabla 3.20: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cinco atomizaciones) a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	76
Tabla 3.21: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	78

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 3.22: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación..	80
Tabla 3.23: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (seis atomizaciones) a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	82
Tabla 3.24: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (seis atomizaciones) a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	84
Tabla 3.25: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>E. coli</i> después de 24 horas en incubación.	86
Tabla 3.26: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria <i>B. subtilis</i> después de 24 horas en incubación.	88

Resumen

En los últimos años se han desarrollado diversas tecnologías basadas en la producción y uso de especies químicas altamente oxidantes, capaces de interaccionar, degradar o incluso eliminar gran variedad de compuestos contaminantes, así como microorganismos patógenos y que por su naturaleza tienden a ser resistentes o inmunes a otro tipo de tratamientos o procesos. En esta investigación se aborda el tema de desinfección de superficies empleando solución sanitizante, elaborada a partir de procesos de oxidación avanzada, esto debido a la actual situación de pandemia que se suscita a nivel mundial y que es provocado por el virus denominado SARS-CoV-2 (dónde SARS son las siglas en inglés de síndrome de dificultad respiratoria aguda) corona virus descubierto en 2019 que causa la epidemia COVID-19, como se sabe en ocasiones por virus, sin embargo es muy común el contacto con superficies contaminadas con bacterias patógenas.

Este proyecto se elabora con la finalidad de aportar una solución de saneamiento para la inactivación de microorganismos patógenos en superficies, debido que al estar en contacto directo con diversos patógenos y no contar con un medio de inactivación de microorganismos adecuado, puede ser el origen de diversas enfermedades en los seres humanos que interactúan cotidianamente con dichas superficies como por ejemplo salmonelosis, gastroenteritis. Se debe de tomar en cuenta que para lograr la inactivación de microorganismos se requiere una combinación de tratamientos como oxidación química, tales como Procesos de Oxidación Avanzada (POA), los cuales son aplicados en pequeña o mediana escala y especialmente en casos para los cuales los métodos convencionales no son efectivos.

Por ello se realizará la aplicación de procesos de oxidación avanzada establecidos por la combinación de ozono y peróxido de hidrógeno, se promoverá una mayor producción de elementos grupo hidroxilo $\bullet\text{OH}$, para incrementar la eliminación de bacterias en superficies *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* y de esta manera determinar la inactivación de bacterias por medio de la solución sanitizante.

Palabras clave: *Bacillus subtilis*, bacterias, COVID-19, *Escherichia coli*, grupo hidroxilo, ozono, POA, peróxido de hidrógeno, sanitizante, SARS-CoV-2

Abstract

In recent years, various technologies have been developed based on the production and use of highly oxidizing chemical species, capable of interacting, degrading or even eliminating a great variety of polluting compounds, as well as pathogenic microorganisms, which by their nature tend to be resistant or immune to other types of treatments or processes. This research addresses the issue of surface disinfection using a sanitizing solution, made from advanced oxidation processes, this due to the current pandemic situation that arises worldwide and that is caused by the virus called SARS-CoV-2 (where SARS is the acronym in English for watery respiratory distress syndrome) corona virus discovered in 2019 that causes the COVID-19 epidemic, as is sometimes known by viruses, however, contact with surfaces contaminated with pathogenic bacteria is very common .

This project is developed with the purpose of providing a sanitation solution for the inactivation of pathogenic microorganisms on surfaces, because being in direct contact with various pathogens and not having a suitable means of inactivating microorganisms, it can be the origin of various diseases in humans that interact daily with these surfaces such as salmonellosis, gastroenteritis. It should be taken into account that to achieve the inactivation of microorganisms a combination of treatments such as chemical oxidation is required, such as Advanced Oxidation Processes (POA), which are applied on a small or medium scale and especially in cases for which conventional methods are not effective.

For this reason, the application of advanced oxidation processes established by the combination of ozone and hydrogen peroxide will be carried out, a greater production of hydroxyl group elements $\bullet\text{OH}$ will be promoted, to increase the elimination of bacteria on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* surfaces and from this way to determine the inactivation of bacteria by means of the sanitizing solution.

Key words

Bacillus subtilis, bacteria, COVID-19, *Escherichia coli*, hydroxyl group, ozone, POA, hydrogen peroxide, sanitizer, SARS-CoV-2.

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha elaborado orientaciones e instrumentos en materia de saneamiento e higiene a partir de un marco armonizado basado en la detección y la gestión de riesgos sanitarios. El saneamiento y la higiene deficientes pueden ocasionar riesgos importantes para la salud al exponer a las personas a diversos microorganismos, los cuales se encuentran sobre cualquier superficie con la cual podamos tener contacto.

La OMS tiene estimaciones de que ocurren 842000 muertes anuales, debidas a la ausencia de saneamiento e higiene eficientes, de los cuales 361000 fallecimientos de niños menores de 5 años, la mayor parte de ellos en países de bajos ingresos (OMS, 2014). A estas estimaciones se le suma la pandemia por COVID-19, la cual fue identificada en Diciembre del 2019 en la ciudad de Wuhan, China, después de valorar a diversos pacientes que presentaron problemas respiratorios incluyendo neumonía atípica.

Actualmente contamos con una gran variedad de objetos que usamos cotidianamente como teléfonos o tabletas que se han vuelto en una herramienta fundamental para el desarrollo de nuestras tareas diarias tanto para nuestra vida social, así como también en nuestra vida profesional. La superficie de la mayoría de los teléfonos está fabricada de plástico, por su costo, versatilidad y durabilidad. Las bacterias tienen capacidad de adherirse a este material inerte por medio de moléculas en sus membranas; luego de su adhesión, son capaces de formar un biofilm o biopelícula (comunidad estructurada y compleja de bacterias y otros microorganismos que se adhiere a una superficie) e, incluso, metabolizar componentes del plástico y utilizarlos como nutrientes. Ejemplos de este mecanismo se han reportado en bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, que permanecen viables por largos periodos de tiempo y son una fuente importante de infección.

Procesos de Oxidación Avanzada (POA), son aplicados en pequeña o mediana escala en los cuales los métodos convencionales no son tan efectivos o son tóxicos, como lo es el caso del cloro, que en estos dos últimos años ha tenido un uso desmedido con el propósito de eliminar el SARS-CoV-2, sin embargo, lo que la gran mayoría de personas desconoce acerca del cloro

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

es que al reaccionar con materia orgánica genera otros compuestos aún más tóxicos como lo son los Ácidos Haloacéticos (AHA) y Trihalometanos (THM). De manera que para promover la desactivación de bacterias mediante una tecnología que preserve el medio ambiente se realizará la aplicación de procesos de oxidación avanzada generados mediante la combinación de ozono y peróxido de hidrógeno, promoviendo la producción del grupo hidroxilo $\bullet\text{OH}$, en cantidad suficiente para facilitar la eliminación de bacterias en superficies inocuas (*Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*) y de esta forma determinar el porcentaje de eficiencia de la desactivación de bacterias mediante la solución sanitizante propuesta.

En el capítulo uno se tratan los temas relacionados con el tema principal del documento incluyendo el concepto de los POA, sus diferentes clasificaciones o tipos y como se pueden combinar, así como el tipo de radicales que produce y como actúa en los tipos de bacterias para desactivarlas o eliminarlas; también se presenta de manera sucinta información sobre las bacterias que se utilizaron.

También se aborda el tema del tipo de reactor que se utilizó para la preparación de la solución sanitizante, desde las características que debería tener para facilitar su manipulación, así como su adecuación a los tipos de POA que se aplicaron.

En el capítulo dos se explica la metodología que se aplicó en el desarrollo experimental, desde los equipos y material de laboratorio que fue requerido para la experimentación, así como también la forma de preparación de los medios sólidos y líquidos que fueron utilizados para la inoculación de las bacterias.

Se explican los esquemas donde se representan los diseños del reactor que se construyó para la realización de la solución sanitizante; así mismo se explican la forma para realizar la incubación de las bacterias y la siembra en los medios sólidos.

También se describe los esquemas de cómo hacer las diluciones sucesivas de ambas bacterias y la forma de aplicar la solución sanitizante a los medios sólidos donde previamente fueron sembradas las bacterias.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

En el capítulo tres se detalla los resultados obtenidos en todas pruebas preliminares que se realizaron cambiando las condiciones de la solución sanitizante, así como también se exponen los resultados obtenidos de la construcción del reactor y las adaptaciones que se le tuvieron que hacer para que se acoplara a las condiciones de los reactivos utilizados durante la preparación de la solución sanitizante propuesta.

Planteamiento del problema

Existe una gran variedad de agentes contaminantes entre ellos ruido, iluminación, radiaciones, residuos urbanos, agentes químicos, agentes biológicos de los que destacan hongos, bacterias, virus y parásitos. Los seres humanos nos vemos afectados de diversas maneras por la contaminación de superficies con agentes contaminantes y/o patógenos como lo son las bacterias, al estar expuestos por tiempos prolongados se incrementa el riesgo de alterar la salud de las personas expuestas, lo cual está relacionado con las zonas donde se realizan diversas actividades y que no cuentan con las medidas de higiene necesarias.

Las bacterias tienen un mayor impacto negativo en la salud de las personas por la cantidad de enfermedades relacionadas con ellas, esto es debido a que se encuentran presentes en la mayoría de los lugares donde realizamos nuestras actividades diarias, llegando a afectar principalmente y con mayor frecuencia a adultos de la tercera edad, niños, personas con enfermedades crónicas. Cuando las personas se infectan manifiestan una serie de síntomas característicos de enfermedades relacionadas con la existencia en su organismo de alguna de estas bacterias, la mayoría de las personas se recuperan dentro de unos pocos días cuando la prescripción médica es adecuada y en casos tratados inadecuadamente o extremos requieren de atención médica hospitalaria debido al tiempo de retención de las bacterias en el organismo y a la gravedad de los síntomas.

Existen diferentes procesos de oxidación avanzada específicamente para la desactivación de diversos agentes microorgánicos patógenos en superficies, mediante la utilización de ozono y peróxido de hidrogeno es posible reducir de manera considerable la cantidad de microorganismos, obteniendo como resultado una disminución en la concentración en tiempos reducidos de tratamiento.

El Tecnológico de Estudios Superiores de Tianguistenco tiene instalaciones para realizar las pruebas pertinentes, en el laboratorio de microbiología se cuenta con equipo e instrumentos necesarios (autoclave, generador de ozono, reactivos, vasos de precipitado, agitadores, placas de calentamiento, entre otros).

Justificación

La presente investigación se enfocará en estudiar la inactivación de bacterias *E. coli* y *B. subtilis* en superficies (cajas Petri), derivado de la situación por la que atraviesa el mundo a causa de la pandemia. Este proyecto de investigación ofrece una alternativa de solución para los nuevos procesos o protocolos empleados de limpieza, en donde se garantice la completa desinfección de superficies por medio de los procesos de oxidación avanzada en la inactivación de bacterias. Esta solución sanitizante se utilizará para mejorar la calidad de vida de los seres humanos, para mitigar el contacto con superficies contaminadas.

En el proyecto de investigación se desarrolló una solución sanitizante, **que ayudo a** la inactivación de bacterias que se encuentran presentes áreas u objetos que cotidianamente usamos y que se han vuelto parte de nuestras actividades ya sean sociales o laborales.

Lo novedoso en la solución sanitizante es el uso de POA que pueden ser aplicados a pequeña y mediana escala de laboratorio y por sus características no son precursores de otros compuestos tóxicos, que puedan a afectar a quien lo aplique o a los objetos a los que se aplique.

Objetivos

Objetivo general

Promover la inactivación de bacterias *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) en superficies (cajas Petri) mediante la aplicación en forma de aerosol y aro de inhibición de la solución sanitizante, elaborada mediante la aplicación de procesos de oxidación avanzada usando ozono y peróxido de hidrogeno como agentes oxidantes.

Objetivos específicos

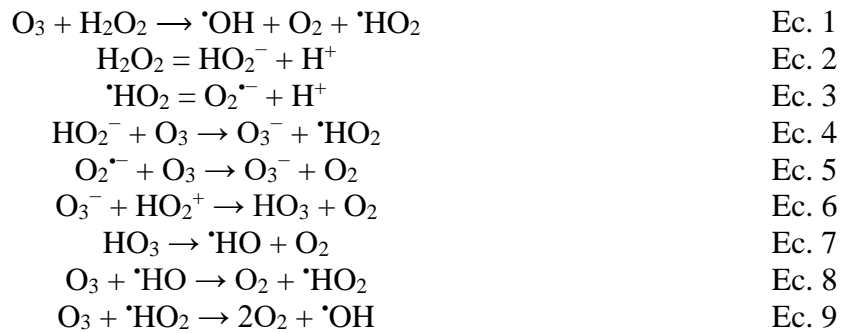
- i. Realizar un estudio bibliográfico sobre ozonización, peróxido de hidrógeno y poliacrilato de sodio en su interacción con el agua.
- ii. Diseñar y construir un reactor de tratamiento tipo Batch para la realización de una solución acuosa acondicionada con ozono y peróxido de hidrógeno además de la incorporación de poliacrilato de sodio.
- iii. Establecer la dosis adecuada de ozono, peróxido de hidrógeno y poliacrilato de sodio de la solución acuosa para su correcta aplicación a partir del análisis de resultados obtenidos para diferentes concentraciones de bacterias, en las pruebas preliminares y en el desarrollo experimental.

1.1 Procesos de Oxidación Avanzada (POA)

Los procedimientos convencionales de tratamiento de contaminantes resultan inadecuados para alcanzar el grado de pureza requerido por ley o por el uso de un efluente tratado. En estos casos y cada vez de manera más frecuente, se está recurriendo en los países industrializados al uso de las llamadas Tecnologías o Procesos Avanzados de Oxidación (TAO, POA), muy poco aplicados y, peor aún, menos difundidos en los países de economías emergentes como los de América Latina. La mayoría de los POA puede aplicarse a la remediación y destoxificación de aguas residuales, generalmente en pequeña o mediana escala (Sanz, 2012). Los métodos pueden usarse de manera combinados entre ellos o con métodos convencionales, pudiendo ser aplicados también para tratar contaminantes de aire y suelos. Permiten incluso la desinfección por inactivación de bacterias (*E. coli* y *B. subtilis*) y es factible la desactivación de virus (Sanz, 2012).

Los PAO se basan en procesos fisicoquímicos capaces de producir cambios profundos en la estructura química de los contaminantes, que involucran la generación y uso de especies altamente reactivas, principalmente el radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$). La generación de radicales hidroxilos se puede incrementar por la combinación de algunos agentes oxidantes como ozono, peróxido de hidrogeno y radiación UV entre otros (Sanz, 2012).

Por otra parte, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) puede iniciar la descomposición de ozono (O_3) por transferencia de electrones. La reacción genera $\bullet\text{OH}$ consumiendo H_2O_2 y O_3 , a través de un mecanismo en cadena mostrado en las ecuaciones siguientes (Jardim, 2015):



1.1.1 Ozono (O₃)

El ozono es una forma alotrópica del oxígeno. En 1785 Martinus Van Marum detecto la presencia de cierto olor en su generador electrostatico tras realizar descargas eléctricas en aire u oxígeno y lo atribuyó al “olor de la electricidad” (Gomella 1967). Fue en 1840 cuando Christian Friedrich Schönbein asoció dicho olor a una nueva substancia a la que llamó ozono y remarcó que el olor era muy similar al fósforo en su exposición al aire. Schönbein hasta su muerte en 1868 fue quien dominó el estudio de la química del ozono. En 1865 Soret determinó la composición molecular del ozono como oxígeno triatómico que fue confirmada por él mismo en 1867 (Rubin 2001; Streng 1961). Fue hasta 1907 bajo los trabajos de Briner que la comunidad científica se puso de acuerdo para atribuir la fórmula clásica del ozono O₃ (Gomella 1967).

Se trata de una molécula polar (como se muestra en la Figura 1.1) que presenta un ángulo obtuso de 116° y dos enlaces de oxígeno-oxígeno (Gill y Laidler 1959). A temperaturas ordinarias, el ozono es un gas de color azulado cuya característica principal es su olor irritante. El olor permite identificarlo en concentraciones por encima de 0.1 ppm. Las principales propiedades físico-químicas (se muestran en la Tabla 1.1) (Streng 1961).

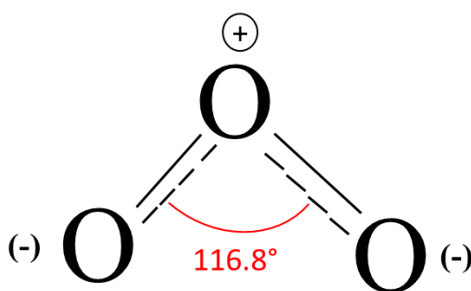


Figura 1.1: Molécula de ozono.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 1.1: Propiedades físico-químicas del ozono.

Propiedad físico-química	Valor
Masa molecular	47.998 g mol ⁻¹
Temperatura de fusión	80.7 ± 0.4 K
Temperatura de ebullición	161.3 ± 0.3 K
Temperatura crítica	261.1 K
Presión crítica	5.46 x 10 ⁻⁵ P

El ozono se produce cuando las moléculas de oxígeno (O₂) son disociadas por medio de una fuente de energía produciendo átomos de oxígeno que chocan con una molécula de oxígeno para formar un gas inestable. Debido a su elevado potencial redox el ozono es un oxidante químico y potente, propiedad que puede ser utilizada para la degradación de compuestos contaminantes o para la desinfección en agua. Cuando el O₃ se descompone en agua, los radicales libres del H₂O₂ y del hidróxido (*OH) que se forman tienen gran capacidad de oxidación y desempeñan un papel activo en el proceso de desinfección. En general las bacterias son destruidas debido a la oxidación protoplasmática, dando como resultado la desintegración de la pared de la célula (Rodríguez, P 2003). El ozono se puede utilizar para la mineralización (eliminación de COT (Carbono Orgánico Total)) de moléculas orgánicas, aunque en muchos casos implica el uso de altas dosis de ozono y el aumento del proceso: la eficacia depende del tiempo de contacto y de la concentración de ozono.

La acción del ozono es conveniente para el tratamiento de especies químicas que contienen sitios nucleofílicos caracterizados por la presencia del oxígeno, nitrógeno o fósforo. Debido a la acción del ozono, sustancias como aminas, pesticidas y especies aromáticas pueden ser transformadas y llevadas a un estado en el cual su biodegradabilidad puede realizarse fácilmente (Bablon, G, 2005).

Presenta la desventaja de ser relativamente inestable en dilución acuosa: los valores para la vida media del ozono en agua destilada (pH=7 y 20 °C) varía entre 20-30 minutos y 160 minutos, aumentando su inestabilidad en medio básico.

Los mecanismos de desinfección asociados con el uso del ozono incluyen:

- i. La oxidación o destrucción directa de la pared de la célula.
- ii. Las reacciones con los subproductos radicales de la descomposición del ozono.
- iii. El daño a los componentes de los ácidos nucleicos.
- iv. La ruptura de las uniones de carbono-nitrógeno que conduce a la despolimerización (Rodríguez, P 2003).

1.1.1.1 Ozonización del agua

El ozono se produce mediante un generador cuyo gas de alimentación puede ser aire u oxígeno puro. Aproximadamente del 1 al 10 por ciento del oxígeno que fluye entre los electrodos se transforma en ozono (Santiago, E.B. 2005).

Es necesario que el ozono entre en contacto con el agua a tratar y que se disperse de la manera más fina posible, normalmente, esto se realiza a través de difusores de burbujas finas en cámaras de contacto. La ozonización es una técnica de oxidación química con una gran variedad de aplicaciones, que incluye: desinfección, oxidación de microcontaminantes orgánicos recalcitrantes (fármacos, pesticidas, contaminantes fenólicos, entre otros), oxidación de contaminantes inorgánicos (hierro, manganeso y sulfitos), eliminación de color y sabor, potabilización de aguas y depuración de aguas residuales (Bablon, G, 2005).

La ozonización se realiza en medio alcalino para aumentar la velocidad de descomposición del ozono, incrementando así la velocidad de generación de radicales $\bullet\text{OH}$ (Adaptada de Hai *et al.*, 2007).

1.1.2 Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)

Los peróxidos son compuestos binarios que contiene mayores proporciones de oxígeno que los óxidos simples. El óxido simple del hidrógeno es el agua. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es un líquido claro que contiene dos átomos de oxígeno por molécula (como se muestra en la Figura 1.2). Es algo inestable se descompone en oxígeno y agua con liberación de calor, para valores elevados de pH el peróxido de hidrógeno puede tener un potencial de

oxidación mayor que el ozono. El peróxido se concentra por evaporación ya que su presión en estado gaseoso es más baja que la del agua, en laboratorios normalmente se usa con una concentración del 50% (Weber, W.J. 2003).

El H_2O_2 es un ácido débil, un poderoso oxidante y un compuesto inestable. El uso de dos o más oxidantes combinados permite aprovechar los posibles efectos sinérgicos entre ellos, lo que produce una destrucción adicional de la carga orgánica.

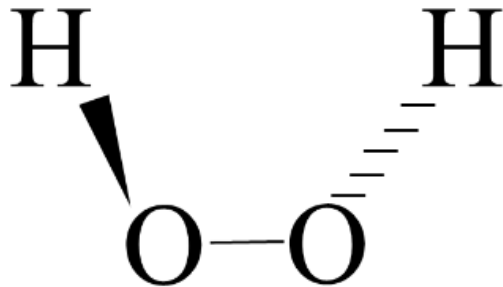


Figura 1.2: Peróxido de hidrógeno.

Su acción bacteriana se debe a dos motivos:

- i. Producción de iones hidroxilo y radicales libres que actúan oxidando componentes esenciales del microorganismo (lípidos, proteínas y ácido desoxirribonucleico).
- ii. Liberación de O_2 por las catalasas tisulares que actúan impidiendo la germinación de esporas anaerobias como *Clostridium tetani*.

1.1.3 Generación de radicales $\bullet OH$

El radical hidroxilo tiene una vida corta, es un agente oxidante sumamente potente capaz de oxidar compuestos orgánicos principalmente por la abstracción de hidrógeno. Esta reacción genera radicales orgánicos que mediante la adicción molecular de oxígeno produce radicales. Estos intermedios inician una cadena de reacciones térmicas de la degradación oxidativa, lo que conduce finalmente a dióxido de carbono, agua y sales inorgánicas (Legrini, O., Oliveros, E., Braum, A.M. 1993).

Además de abstracción de hidrogeno, la transferencia de electrones a radicales hidroxilo constituye otro mecanismo de la degradación oxidativa.

La tasa y la eficiencia de los procesos de degradación oxidativa, que se basan principalmente en la producción y la reactividad de radicales intermedios, esto depende de:

- i. La energía necesaria para romper hemolíticamente un enlace químico dado
- ii. En gran medida de la concentración de oxígeno molecular disuelto (Legrini, O., Oliveros, E., Braum, A.M. 1993).

1.1.4 Ozono y H₂O₂

La combinación peróxido de hidrógeno y ozono es una de las más utilizadas en la industria textil para la degradación de colorantes. El proceso pretende combinar la oxidación directa (y selectiva) del ozono con la reacción rápida y poco selectiva de los radicales •OH con los compuestos orgánicos (Adaptada de Hai *et al.*, 2007).

1.1.5 Poliacrilato de sodio

Es un polímero con cadenas largas en las que se repite una estructura formada por monómeros tienen capacidad de absorber grandes cantidades de agua se debe a que en su estructura molecular existen grupos de carboxilatos de sodio que cuelgan de la cadena. Los poliacrilatos son polímeros superabsorbentes esto es debido a su estructura, en el caso del poliacrilato de sodio la cadena principal tiene grupos de carboxilato de sodio (-COONa), (como se muestra en la Figura 1.3), al contacto con el agua se desprenden iones sodio (Na⁺) dejando libres grupos negativos (-COO⁻), al estar cargados negativamente, se repelen entre sí por lo cual el polímero se desenrolla y absorbe agua (Álvarez, L., Estrán, L., Gatto, A., Moyano, F. 2019).

El poliacrilato de sodio ((C₃H₃NaO₂)_n) es un polímero de masa molar elevada, por lo cual no se disuelve, sino que se gelifica. Puede absorber agua destilada hasta unas 800 veces el equivalente a su propia masa (Álvarez, L., Estrán, L., Gatto, A., Moyano, F. 2019).

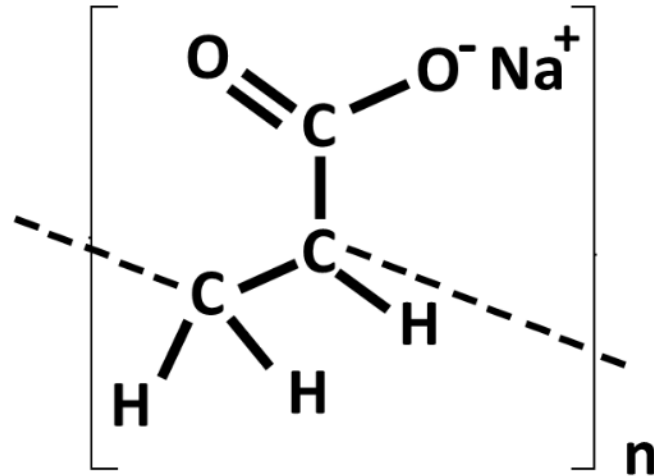


Figura 1.3: Estructura química del poliacrilato de sodio.

El poliacrilato de sodio (como se muestra en la Figura 1.4), tiene diversos usos en la industria:

- i. Captan cationes presentes en el agua como calcio y magnesio, haciendo que los detergentes tengan mayor eficiencia.
- ii. Se utiliza para protección de humedad de cables y componentes electrónicos.
- iii. Por su capacidad de retención se utiliza en la agricultura, se añade a plantas en macetas y suelos.
- iv. Agente espesante del agua.
- v. Debido a sus características de absorción de agua y no tóxicas se utiliza en los pañales de bebés y compresas de adultos.
- vi. Se utiliza para hacer nieve artificial (Álvarez, L., Estrán, L., Gatto, A., Moyano, F. 2019).

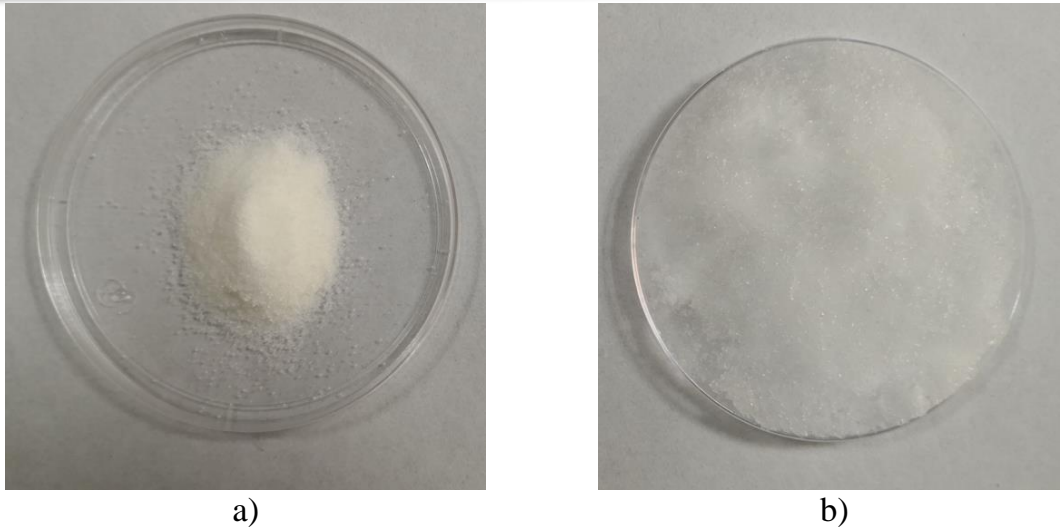


Figura 1.4: Poliacrilato de sodio a) seco y b) húmedo.

1.2 Reactor tipo Batch

Es un sistema cerrado, la masa se mantiene constante, opera en estado no estacionario (las condiciones que lo definen cambian desde un estado inicial hasta un estado final), la energía cambia, se puede modificar para cambiar la temperatura. Se emplean para operaciones las cuales son a pequeña escala para experimentar con procesos nuevos a escala de laboratorio, para fabricar productos costosos o de difícil elaboración (Cuevas, 2009). Los reactivos se cargan, y se espera hasta que la reacción termine durante cierto periodo de tiempo. (Levenspiel, 2004).

1.2.1 Ecuación general para el diseño de un reactor tipo Batch

Para diseñar el reactor se necesita realizar el balance de materiales,

La ecuación de balance de materiales:

$$\text{Entrada} = \text{Salida} + \text{Generación (consumo)} + \text{Acumulación}$$

De esta forma el balance de materiales para este tipo de reactor será:

$$\text{Generación (consumo)} = - \text{Acumulación}$$

Esto quiere decir (Levenspiel, 2004):

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Velocidad de consumo o pérdida de} \\ \text{un reactivo al reaccionar dentro del} \\ \text{volumen del reactor} \end{array} \right\} = - \left\{ \begin{array}{l} \text{Velocidad de acumulación del reactivo} \\ \text{del volumen del reactor} \end{array} \right\}$$

El primer término, podemos expresarlo por unidad de tiempo en un determinado volumen:

$$(-r_A)V \quad \text{Ec. 10}$$

Representando:

$-r_A$ = Velocidad de reacción de la especie A depende del tiempo.

V: Volumen en el cual se da la reacción.

El segundo término, se puede expresar como la acumulación de moles de la especie A por unidad de tiempo:

$$\frac{dN_A}{dt} = \frac{d[N_{A0}(1 - X_A)]}{dt} = N_{A0} \frac{dX_A}{dt} \quad \text{Ec. 11}$$

Representando:

N_{A0} : Moles de la especie A iniciales. (mol/g)

X_A : Conversión de A depende del tiempo.

t: Tiempo de residencia.

La ecuación final queda:

$$(-r_A)V = N_{A0} \frac{dX_A}{dt} \quad \text{Ec. 12}$$

Se reordenar e integrar para obtener (Levenspiel, 2004):

$$t = N_{A0} \int_0^{X_A} \frac{dX_A}{(-r_A)V} = \frac{N_{A0}}{(-r_A)V} \int_0^{X_A} dx_A \quad \text{Ec. 13}$$

1.2.2 Operación de mezclado

El mezclado es una operación importante que se lleva a cabo dentro de un reactor, en la cual se hace interaccionar mediante el contacto de los reactivos y catalizadores de una determinada reacción, ya sean estos en la misma fase (líquido-líquido), o en diferentes fases (líquido-gas); (líquido-sólido) etc.

En la mezcla de gases se requiere de un equipo especializado, debido a que estos poseen bajas viscosidades, normalmente es suficiente con el mezclado que se da por medio del flujo turbulento a lo largo de las tuberías (Towler & Sinnott, 2009).

Para el mezclado de líquidos, se deben tomar en cuenta los siguientes factores:

- i. Si es una operación por lotes o continua.
- ii. La naturaleza del proceso: líquidos miscibles (homogéneo) o líquidos inmiscibles.
- iii. El grado requerido de mezclado.
- iv. Las propiedades físicas de los líquidos especialmente la viscosidad.
- v. Si la agitación está relacionada con otras operaciones: reacciones, transferencia de calor (Towler & Sinnott, 2009).

1.2.2.1 Tipos de flujos

El tipo de flujo que se produce en un estanque en agitación, va a depender del tipo de impulsor, de las características del fluido, del tamaño, proporciones del estanque, del tipo de agitador y si lleva o no placas deflectoras (Viejo, M. 1977).

La velocidad del fluido en cualquier punto del estanque tiene tres componentes, y el tipo de flujo predominante va a depender de las variaciones del movimiento y de la velocidad de estas.

- i. La velocidad es radial y actúa en dirección perpendicular al eje del impulsor.
- ii. La velocidad longitudinal o axial y actúa en dirección paralela al eje.
- iii. La velocidad es tangencial o rotacional, y actúa en dirección tangencial a la trayectoria circular descrita por el impulsor (Viejo, M. 1977).

El flujo será definido por el tipo de impulsor a utilizar, para flujos radiales se utilizan impulsores de turbinas planas, para flujos axiales se utilizan hélices marinas con ángulos en sus palas no mayores a 90° y para flujos tangenciales (velocidades bajas) se utilizan impulsores de palas (Viejo, M. 1977).

1.2.2.2 Agitadores para líquidos con viscosidades moderadas

Existen diferentes tipos de agitadores dependiendo de la viscosidad y del propósito de la agitación entre los más comunes para una agitación de líquidos con viscosidades moderadas se tiene los siguientes: (McCabe, Smith, & Harriott, 2007).

- i. Agitador marino de tres palas: El flujo de la hélice es axial, trabaja a altas velocidades y se utiliza para líquidos de baja viscosidad. Las corrientes de flujo que salen del impulsor continúan a través del líquido en una dirección determinada hasta que chocan con el fondo o las paredes del estanque (McCabe, Smith, & Harriott, 2007).
- ii. Turbina simple de pala recta: Empuja el líquido en forma radial y tangencial, casi sin movimiento vertical al agitador, las corrientes que genera se desplazan hacia fuera hasta la pared del tanque y entonces fluyen hacia arriba o hacia abajo. Esta turbina es especialmente útil para la dispersión de un gas en un líquido (McCabe, Smith, & Harriott, 2007).

1.2.3 Variables para la construcción del reactor tipo Batch

- i. Volumen del reactor: Es el volumen necesario para que una reacción se lleve a cabo, este varía dependiendo del tipo de reactor el cual se esté diseñando y de la reacción que se esté llevando a cabo (Fogler, 2008). No debemos confundir el volumen de reacción con el volumen del reactor; el volumen de reacción es el volumen necesario para que una reacción se efectúe, mientras que el volumen del reactor es el volumen que posee el reactor tomando en cuenta un factor de seguridad y otras adiciones que se puedan dar durante la construcción del equipo (Fogler, 2008).
- ii. Velocidad de reacción: Es la velocidad con la se consume cierta cantidad de moles de un compuesto o elemento químico, por unidad de tiempo o por unidad de volumen. (Fogler, 2008). Para realizar el cálculo de velocidad de reacción se debe de tomar

en cuenta la constante de equilibrio $k(T)$ y que esta constante varía dependiendo de la temperatura en la cual se produce la reacción (Foggler, 2008).

- iii. Tiempo de residencia: Es el tiempo necesario para que se establezca una reacción con cierto grado de conversión. (Foggler, 2008).
- iv. Orden de la reacción: Se refiere a expresiones de velocidad determinadas experimentalmente. Puede tener un valor fraccionario y no tiene por qué ser un número entero. (Levenspiel, 2004).
- v. Cinética Química: Estudio de las velocidades de reacciones químicas y los mecanismos de reacción. En los reactores. Que son la base de la producción de la mayoría de los productos químicos industriales. (Foggler, 2008).

1.2.4 Selección del volumen del reactor

En experimentos de laboratorio a pequeña escala se trabaja normalmente con volúmenes entre 0.01 y 0.3 litros (Büchi, 2013), utilizando equipos muy pequeños los cuales pueden presentar calentamiento.

Para equipos de laboratorio a mediana escala se usan volúmenes de 0.25 a 5 litros, dichos equipos pueden estar provistos de un sistema integrado de calefacción y agitación, lo cual brinda una mayor amplitud de usos, la velocidad de agitación puede ir de 0 a 2000 revoluciones por minuto (rpm). Cuando el volumen es mayor se usan reactores de 5 a 20 litros y de 30 a 250 litros son reactores para plantas piloto, la agitación en estos equipos puede ir de 0 a 2400 revoluciones por minuto (rpm) (Büchi, 2013).

Los materiales de construcción de los reactores a pequeña y mediana escala, pueden ser de vidrio o metal; mientras que para mayores volúmenes se emplean solamente recipientes de metal (Büchi, 2013).

Se debe incrementar un volumen extra que funciona como un factor de seguridad por nivel de llenado, lo que significa que el reactor debe trabajar conteniendo un volumen inferior al de su capacidad máxima por ejemplo al 80% de su volumen máximo (API, 2005).

1.3 El agua

El agua constituye un elemento fundamental en la naturaleza que por sus propiedades físicas y químicas particulares integra los ecosistemas naturales, esto es importante en la reproducción y sostenimiento de la vida de la Tierra ya que es un elemento indispensable para los procesos biológicos de los seres que la habitan (Chereque, 1989). Uno de los recursos más importantes de la vida en el planeta. Compuesto químico que es identificado como H_2O y es uno de los principales componentes de la naturaleza, podemos encontrarlo en océanos, lagos y ríos; representando el 60-70% del cuerpo humano (Chereque, 1989). En la naturaleza el agua recorre el ciclo denominado ciclo del agua o ciclo hidrológico (Figura 1.6), que hace referencia a las etapas que atraviesa el agua. Se entiende como el conjunto de cambios que experimenta el agua en la naturaleza, tanto en su estado (sólido, líquido y gaseoso) como en su forma superficial, sub-superficial, subterránea, etc. (Chereque, 1989).



Figura 1.5: Ciclo del agua.

1.3.1 Composición y estructura del agua

El agua es una molécula sencilla (como se muestra en la Figura 1.7) formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno, unidos por fuertes enlaces covalentes que hace que la molécula sea muy estable. Tiene una irregularidad en la densidad electrónica, debido a las altas electronegatividades del oxígeno. La molécula tiene una geometría angular, los átomos de hidrogeno forman ángulos de 104.5° (Azcona et al., 2012). En una molécula de agua la atracción electrostática entre la carga positiva cerca de los átomos de hidrogeno de una molécula de agua y la carga negativa cercana al oxigeno permite la unión de moléculas de agua vecinas mediante un enlace químico muy importante para la vida “el puente de hidrogeno”. El enlace requiere que el átomo electronegativo (oxígeno) atraiga al hidrogeno que posee un par de electrones no emplazantes y su geometría permite que el hidrogeno haga el puente entre los átomos electronegativos, cada molécula de agua puede formar cuatro puentes de hidrogeno con otras moléculas de agua (Hernández, E., 2010).

Otra de las propiedades de mayor importancia es su acción disolvente, el agua es considerada como el solvente o disolvente universal. En el caso de las soluciones iónicas, los iones de las sales son atraídos por los dipolos del agua, quedando atrapados y recubiertos de moléculas de agua en forma de iones hidratados. La capacidad de disolver solutos del agua tiene relación con la polaridad del soluto. La capacidad disolvente es responsable de que sea el medio donde ocurren las reacciones físico-químicas del metabolismo. También actúa regulando el pH mediante equilibrio acido-base de sus solutos. El agua tiene un calor específico muy alto, lo que significa que se necesita mucha energía para aumentar su temperatura. Esta propiedad hace que el agua sea un excelente moderador térmico (Hernández, E., 2010).

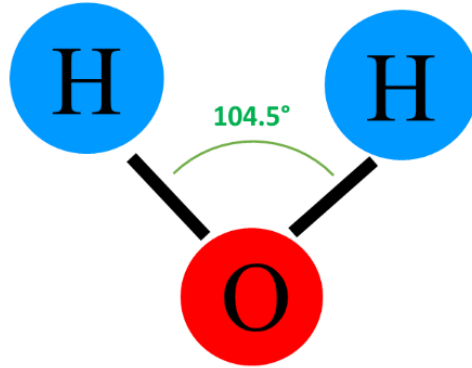


Figura1.6: Molécula del agua.

1.3.2 Análisis de parámetros físico-químicos del agua

Los parámetros físico-químicos brindan información sobre la naturaleza de las especies químicas del agua y sus propiedades físicas, los métodos biológicos aportan información, pero no señalan nada acerca del contaminante o los contaminantes responsables, por lo que muchos investigadores recomiendan la utilización de ambos análisis en la evaluación del recurso hídrico (Orozco *et al.*, 2005).

Una de las ventajas de los métodos físico-químicos se basa en que sus análisis suelen ser más rápidos y pueden ser monitoreados con mayor frecuencia:

- i. Sólidos: El agua puede contener tanto partículas en suspensión como compuestos solubilizados, definiéndose la suma de ambos como Sólidos Totales (ST).
- ii. Temperatura: La temperatura del agua tiene una gran importancia en el desarrollo de los diversos procesos que en ella se realizan, un aumento de la temperatura modifica la solubilidad de las sustancias, aumentando la de los sólidos disueltos y disminuyendo la de los gases. La temperatura se determina mediante termometría realizada “*in situ*”.
- iii. Color: La determinación del color se efectúa visualmente empleando luz diurna difusa sobre fondo blanco, o mediante el uso de un espectrofotómetro visible. El color que presenta el agua puede ser aparente (agua bruta) o verdadero (agua sin sólidos en suspensión).

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

- iv. Olor: Puede ser debidos a materia orgánica en descomposición o productos químicos producidos o empleados en la industria y tratamiento de aguas residuales. El olor se determina por sucesivas diluciones de la muestra original hasta que es indetectable (umbral de percepción).
- v. Sabor: Está asociado al olor, algunas sustancias, como es el caso de sales de cobre, zinc o hierro, pueden modificar el sabor, sin alterar el color del efluente. Su determinación se efectúa, al igual que el olor, por dilución hasta determinar el umbral de percepción y sólo se realizará con muestras que sean sanitariamente aptas para consumo humano.
- vi. Oxígeno Disuelto (OD): Parámetro indicativo de la calidad de un agua, se determina “*in situ*” mediante electrodo de membrana o por yodometría fijando el oxígeno con sulfato de magnesio expresándolo en mg/L de oxígeno disuelto en la muestra de agua. Parámetro relacionado con la temperatura del agua y que disminuye de manera proporcional a la temperatura del líquido.
- vii. Carbono Total Orgánico (COT): Método permite medir el contenido total de carbono presente en el agua, ya sea como compuestos orgánicos fijos o volátiles, naturales o sintéticos, especialmente indicado para bajas concentraciones de materia orgánica. Cantidad total de carbono orgánico presente en una muestra, expresada en mg/L.
- viii. Demanda Química de Oxígeno (DQO): Método que determina el carbono oxidable de una muestra, que está relacionada con la demanda química de oxígeno o cantidad de oxígeno consumida (mg/L) por los compuestos orgánicos presentes en el efluente. Cantidad equivalente de oxígeno consumido por las materias (orgánica e inorgánicas) presentes en el agua, incluyendo compuestos biodegradables y no biodegradables.
- ix. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO): Cantidad de oxígeno necesaria para que los microorganismos aerobios puedan oxidar metabólicamente la materia orgánica presente en la muestra de agua. Parámetro fuertemente influido por el tiempo se suele determinarse a dos tiempos diferentes. Demanda Bioquímica de Oxígeno cinco (DBO₅): variación del OD determinado al cabo de cinco días en condiciones estándar, y que nos proporciona una idea del carbono orgánico biodegradable existente en la muestra. Demanda Bioquímica de Oxígeno ultima (DBO_{ult}): variación del OD determinada al cabo de más de 20 días en las condiciones estándar del ensayo.

- x. pH: Medida que indica la acidez del agua, varía de 0 a 14, siendo 7 el valor de la mediana. Un pH de menor valor indica acidez, mientras que un pH mayor a 7, indica que el agua es básica. Es una medición de la cantidad relativa de iones de hidrógeno con respecto a los de hidróxido presentes en el agua, si el agua contiene más iones de hidrógeno tiene una mayor acidez, mientras que si el agua que contiene más iones de hidróxido indica un rango básico.
- xi. Conductividad: En soluciones acuosas la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos. El agua pura se comporta como aislante eléctrico, siendo las sustancias en ella disueltas las que proporcionan al agua la capacidad de conducir la corriente eléctrica, se determina con un electrodo conductimétrico.
- xii. Dureza: Concentración de compuestos minerales que hay en una determinada cantidad de agua, particularmente sales de magnesio y calcio, la presencia de estas sales en el agua se suele dar de manera natural (Orozco *et al.*, 2005).

1.3.3 Calidad del agua

Son los atributos del agua que reúna en ciertos criterios de aceptabilidad para diferentes usos a partir de variables físicas, químicas y biológicas. Los requisitos de calidad o pureza son establecidos por distintos organismos o instituciones como son International Organization for Standardization “ISO” o American Society for Testing and Materials “ASTM”. La calidad y pureza del agua debe establecerse a través de mediciones de diferentes parámetros (como se muestra en la Tabla 1.2), que se deben tener en cuenta cuando se lleve a cabo el análisis, así como el tipo de agua que se analizará (Azcona *et al.*, 2012).

Tabla 1.2: Parámetros que influyen en la calidad del agua

Parámetros Físicos	Turbidez Color Visibilidad Olor Sabor Temperatura Solidos	
Parámetros Químicos	Indicadores	Conductividad pH Dureza
Parámetros Microbiológicos	Sustancias químicas	
	<i>Enterobacter, Klebsiella</i>	

1.4 Las bacterias

En 1962 Roger Y. Stanier y Cornelis B. Van Niel propusieron el concepto de “bacteria” (célula sin núcleo), que permitió a los microbiólogos clasificar a los organismos vivos en dos grupos: procariotas y eucariotas. Las bacterias son microorganismos uniteléfonos procariotas, como característica principal no poseen compartimientos intrateléfonos delimitados por membranas, ya que carecen de membrana nuclear, a diferencia de los eucariotas.

Las bacterias poseen una pared celular compuesta por peptidoglicano (a excepción de los Mycoplasmas), se reproducen por división simple (forma asexual) por fisión binaria (la célula crece, se forma un tabique y finalmente se desprenden dos células nuevas, se produce también la replicación del ADN, de forma que las células hijas contienen cada una un duplicado idéntico del genoma de la progenitora). Otras diferencias que podemos encontrar en las bacterias procariotas es que no poseen citoesqueleto, presencia de fimbrias o pilis, pueden poseer flagelos, su tamaño es más pequeño que la célula eucariota (el tamaño promedio de las bacterias oscila entre 0.4 y 3 μm , pudiendo llegar en algunos tipos hasta 10 μm . Las bacterias de interés médico tienen un tamaño entre 0.4 y 2 μm) (Guerrero y Berlanga 2006). Estos son visibles mediante microscopio óptico o microscopio electrónico. Para observarlas con el microscopio óptico se usa el objetivo de inmersión (100X), sumergiendo esta lente en una gota de aceite (aceite de inmersión) en el preparado a observar. Las bacterias

pueden observarse sin tinción (examen en fresco) si se las coloca en glicerol o soluciones no acuosas que aumenten el índice de refracción o con tinción usando distintas coloraciones que mejoran su visualización ya que son células incoloras (Ramírez, R., Luna, B., Velázquez 2008).

Dichas tinciones se basan en la afinidad que presentan los colorantes por las estructuras bacterianas. Los colorantes catiónicos son atraídos por los componentes de carga negativa como los ácidos nucleicos y los polisacáridos. Como son: azul de metileno, cristal violeta y safranina (Ramírez, R., Luna, B., Velázquez 2008).

1.4.1 Gram positiva y Gram negativa

La tinción de Gram, desarrollada por el bacteriólogo danés Hans Christian Gram en 1884, en la actualidad es una herramienta fundamental para la identificación y clasificación de especies bacterianas. En dos grandes grupos, basándose en las propiedades que estos organismos tenían con respecto a la tinción (Rodríguez, P., Arenas, R. 2018).

En el campo de la microbiología, se denominan bacterias Gram negativas a los microorganismos que tienen una reacción con la tinción Gram en su pared celular diferente a las Gram positivas, pues no se tiñen de color azul oscuro o violeta, sino de color rosa.

Las bacterias Gram negativas no retienen el colorante de cristal violeta durante el proceso de coloración porque presentan una capa muy delgada de peptidoglicano en su pared celular y su capa más externa está cubierta por una membrana de lipoproteínas (Rodríguez, P., Arenas, R. 2018).

Las bacterias Gram positivas cuentan con una sola membrana rodeada por una capa gruesa de peptidoglicano (es el responsable de la rigidez estructural y de la resistencia a la presión osmótica interna bacteriana), poseen ácido teicóico y lipoteicóico, polímeros de alcoholes como el glicerol o el ribitol, retienen la tinción azul-violeta. Las bacterias Gram negativas tienen una capa delgada de peptidoglucanos más una bicapa de lipoproteínas que se puede deshacer con la decoloración (Figura 1.8), (Rodríguez, P., Arenas, R. 2018).

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

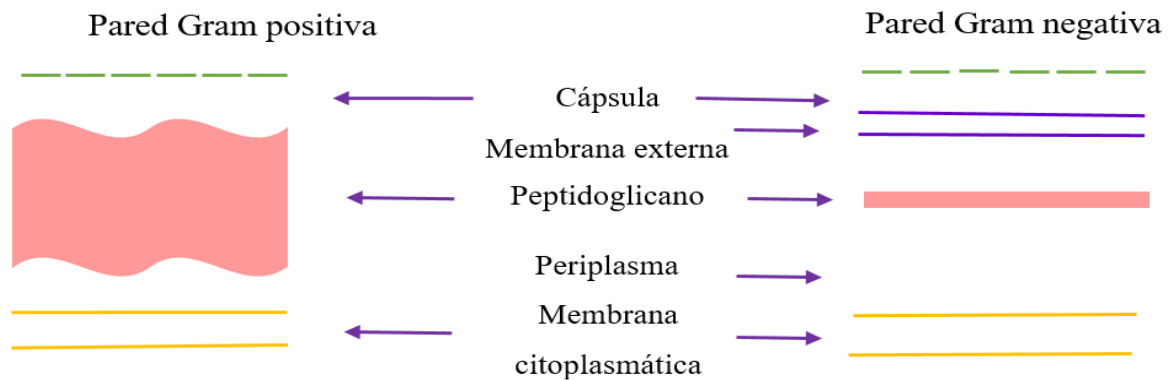


Figura 1.7: Diferencias de la pared Gram positiva y Gram negativa.

1.4.2 *Escherichia coli* (*E. coli*)

El género *Escherichia* consta de 7 especies, siendo *Escherichia coli* la especie aislada con más frecuencia en muestras clínicas, es una bacteria Gram negativa. Generalmente se considera que el hábitat normal de *E. coli* es el cólon de organismos de sangre caliente (aves y mamíferos), aunque se le puede encontrar en otras partes fuera del tracto digestivo (Souza y cols., 1999; Schaechter, 2001). *E. coli* es una de las primeras especies que coloniza al mamífero recién nacido, adquiriendo las primeras cepas del canal de parto y de las heces de su madre (Bettelheim, 1994). Se ha demostrado que existen serotipos que pueden causar una variedad de enfermedades en el humano incluyendo septicemia, neumonía, meningitis, infecciones en vías urinarias y diarrea y gastroenteritis (Kaper JB. y Cols., 2004).

Desde el punto de vista estructural, se trata de un microorganismo procariótico. La información genética se encuentra en una sola cadena espiral de ADN, no tiene membrana nuclear, la información genética adicional se localiza en partes extra cromosómicas con capacidad de auto replicación llamadas plásmidos, que son los responsables de la reproducción de bacteriocina y elaboración de ciertos polisacáridos capsulares (Koneman, E., Allen, S. 2008).

1.4.3 *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*)

Bacillus subtilis pertenece a la familia *Bacillaceae*, género *Bacillus* y sus características son: bacilo Gram-positivo, aerobio estricto (aunque puede crecer vía anaerobia), productor de endosporas, de antibióticos. El cultivo en placa muestra que las colonias son de color blanco, opaco, de consistencia viscosa, margen ondulado, elevación plana y forma irregular. El uso potencial de *B. subtilis* se basa en su capacidad para producir una amplia gama de moléculas bioactivas, que muestran fuertes propiedades antifúngicas, junto con una baja toxicidad, alta biodegradabilidad y características amigables con el medio ambiente en comparación con pesticidas químicos (Chen et al. 2008). Su capacidad para formar endosporas, que proporciona un alto nivel de resistencia a condiciones ambientales extremas, hace que estas bacterias sean buenas candidatas para el desarrollo de bioproductos (Errington 2003; Ongena et al. 2009). Tienen forma bacilar, movilidad mediante flagelos insertados en forma peritrica, pueden llegar a medir de 0.5-2.5 a 1.2-10 μm , además son aerobias estrictas o facultativas, saprófitas, Gram positivas, catalasa positiva, quimiorganótrofas de metabolismo fermentativo o realizan una respiración aerobia (Holt et. al., 2000). Algunas especies del género *Bacillus* pueden producir antibióticos, como la especie *Bacillus subtilis* que secreta el antibiótico llamado Bacitracina-A que ayuda a la quimioterapia contra la meningitis bacteriana (Iañez, 2003). El género *Bacillus* tiene la particularidad de presentar endosporas, estas son formadas cuando la especie no se encuentra cómoda en ambientes determinados, lo cual les permite estar presentes en los distintos hábitats, hasta darse las condiciones óptimas para su desarrollo. Este género se encuentra comúnmente en suelos y plantas donde tienen un papel importante en ciclos del carbono y del nitrógeno. Son habitantes comunes de aguas frescas y estancadas, son particularmente activos en sedimentos. (Koneman, 2001).

1.5 Tipos de superficies comunes con biocarga

Biocarga (o carga microbiana): Es el número y tipo de microorganismos viables presentes en un elemento determinado.

1.5.1 Superficies de teléfonos y tabletas

Actualmente todos contamos con aparatos electrónicos que se ha vuelto parte indispensable de nuestras actividades cotidianas, los teléfonos se han convertido no solo en un accesorio sino en una herramienta fundamental para el desarrollo de nuestras tareas diarias, así como también en nuestra vida profesional (Goldblatt, J., *et al.*, 2007). Teniendo en cuenta que todos estos equipos se pueden colocar en casi cualquier lugar e incluso son intercambiados entre diversas personas, dando la oportunidad que estos aparatos sean lugar donde se puedan albergar una gran diversidad de microorganismos (Goldblatt, J., *et al.*, 2007). La superficie de la mayoría de los teléfonos está fabricada de plástico, por su costo, versatilidad y durabilidad. Las bacterias tienen capacidad de adherirse a este material inerte por medio de moléculas en sus membranas; luego de su adhesión, son capaces de formar un biofilm o biopelícula e, incluso, metabolizar componentes del plástico y utilizarlos como nutrientes. Ejemplos de este mecanismo se han reportado en bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, que permanecen viables por largos periodos y son una fuente importante de infección (Goldblatt, J., *et al.*, 2007).

En la tabla 1.3 se muestra en tipo de bacterias que se encontraron en los teléfonos estudiados en diferentes países, las muestras se obtuvieron con la ayuda de un hisopo para hacer en forma de frotis.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 1.3: Contaminación bacteriana en teléfonos.

Estudio	Teléfonos estudiados	Resultados
Elkholy M et al 2010 (Egipto)	136 teléfonos de personal de salud	96.5% de contaminación <i>Staphylococcus spp.</i> 33% <i>Enterobacterias no fermentadoras</i> 20% <i>Escherichia coli</i> 24% <i>Enterococcus spp.</i> 11% Otras 12%
Al-Abdalall AH et al 2010 (Irán)	202 teléfonos de personal de salud	<i>Staphylococcus aureus</i> 56.6% <i>Staphylococcus epidermidis</i> 13.6% <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8% <i>Neisseria spp.</i> 5% <i>Micrococcos</i> 6.5% <i>Proteus mirabilis</i> 3.7% <i>Bacillus</i> 2.9% <i>Enterobacter aerogenes</i> 1.1%
Brady RR et al 2007 (Reino Unido)	46 teléfonos medicos	Nivel de contaminación: 95.7% <i>Staphylococcus coagulasa negativa</i> 82.6% <i>Bacillus</i> 16.1% <i>Pseudomonas spp.</i> 2.2% <i>Acinetobacter spp.</i> 2.2%

1.5.2 Billetes y monedas

Los objetos inanimados pueden actuar como fuentes de contaminación vía fómites (Botero y Restrepo, 2003; Uneke y Ogbu, 2007; Neel, 2012). El papel moneda es uno de los objetos que utilizan e intercambian los humanos más frecuentemente, especialmente durante la adquisición de bienes y servicios y son ampliamente manipulados (Betancurt et al., 2010; Enemuor et al., 2012; Neel, 2012).

Los billetes de algodón poseen una estructura porosa que les permite alojar colonias microbianas en dicho papel, los billetes de polímero resultan beneficiosos en lo que respecta a la higiene, tienen mayor resistencia tanto al desgaste como a la suciedad, pero no están del todo libres de microorganismos patógenos. Tanto los billetes de algodón como de polímero son manipulados cotidianamente y pueden ser un vehículo de transporte de microorganismos en su superficie (Betancurt *et al.*, 2010; Enemuor *et al.*, 2012; Neel, 2012).

Existen varias fuentes por las cuales el papel moneda se puede contaminar con agentes patógenos, y particularmente con entero-parásitos, incluyendo la atmósfera, las máquinas de contar y durante su almacenamiento, uso, manipulación y/o producción (Enemuor *et al.*, 2012; Neel, 2012).

Existen varias maneras por las cuales el papel moneda circulante puede potencialmente contaminarse con huevos de helmintos y/o quistes/ooquistes de protozoarios/cromistas intestinales de interés médico-zoonótico, y convertirse de este modo en fómite para la transmisión per os de estos microorganismos patógenos, especialmente cuando se manipula simultáneamente los billetes y los alimentos (Lamichhane *et al.*, 2009). El lavado inapropiado de las manos especialmente antes y después de la defecación, así como también el mojado o lubricación de los dedos con saliva o agua contaminada para el conteo y manipulación de los billetes son ejemplos de formas que puede darse la contaminación de billetes y monedas hacia las personas (Elom *et al.*, 2012; Yazah *et al.*, 2012).

1.5.3 Cepillos de dientes

El cepillo dental es una herramienta de higiene oral utilizado para limpiar dientes y encías, suelen ser de forma recta con cabeza del cepillo compuesta por cerdas perpendiculares que ayuda a limpiar las zonas difíciles de alcanzar. Se considera que para una buena limpieza bucal es necesario el cepillado de los dientes con pasta de dental más enjuague bucal e hilo dental (Trigoso, 2001).

Diversas investigaciones han demostrado que los cepillos dentales desde su primer día de uso, al estar expuestos al medio ambiente se convierte en una fuente de contaminación, actuando como reserva de un gran número de microorganismos propios de la cavidad oral y del ambiente en el que son almacenados (Trigoso, 2001).

Microorganismos considerados como patógenos, como por ejemplo las Enterobacterias, se han encontrado presentes en los cepillos dentales después de la primera semana de uso (Garivia y Contreras, 2001).

El uso prolongado de cepillos de dientes contribuye a la aparición de infecciones causadas por microorganismos como *Streptococos*, *Stafilococos*, *Lactobacilos*, *Pseudomonas*, *Klebsiellas*, *Esterichia coli*, *Enterobacterias*, *Candida*, entre otros (Rashimi, 2015).

2.1 Diseño del reactor tipo Batch

Se diseñó el reactor para trabajar con un volumen de 500 ml, pero la altura del reactor se tomó para trabajar 1 litro para uso en laboratorio a mediana escala.

Para calcular la altura se utilizó la siguiente formula:

$$Lc = \frac{4(Vc)}{\pi (D_i^2)} \quad \text{Ec. 14}$$

Representando:

Lc = Longitud del cilindro

Vc = Volumen del cilindro (1 litros)

Di = Diámetro del cilindro (12 cm)

$$Lc = \frac{4 \times 1000 \text{ cm}^3}{\pi \times (12\text{cm})^2}$$

$$Lc = 8.84\text{cm} \approx 9\text{cm}$$

Se tomó en cuenta el volumen de seguridad para no tener inconvenientes al momento de preparar la solución y se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Volumen de seguridad} = 1\text{litro} \times 0.2$$

$$V = 0.2 \text{ litros} = 200 \text{ cm}^3$$

Al obtener el volumen de seguridad se debe aumentar la altura a la ecuación 14:

$$L_c = \frac{4 (V_c)}{\pi (D_i^2)}$$

$$L_c = \frac{4 (200\text{cm}^3)}{\pi (12\text{cm})^2}$$

$$L_c = 1.76 \text{ cm} \approx 2 \text{ cm} \rightarrow \text{altura del recipiente}$$

2.1.1 Planos del diseño del reactor tipo Batch en software AutoCAD 2019

El diseño se realizará en el software AutoCAD 2019 para realizar los planos con las medidas para el reactor tipo Batch, en donde se especificará la base (12 cm de diámetro) y la altura (13 cm) contando los (2 cm) que lleva para la tapa del reactor de tratamiento, así como las entradas (agua, O₃ y H₂O₂) y salidas (agua y O₃) del reactor (ver Figura 3.1 hasta 3.3).

Para el uso de software AutoCAD 2019, se comenzara con Abrir el software AutoCAD 2019, seleccionar la opción de “Línea”, colocar el cursor en un punto de la pantalla, mover el cursor hacia abajo (eje Y) e indicar que trace una línea de 11 cm, mover el cursor en el eje X e indicar que trace una línea de 12 cm, volver a repetir lo mismo en ambos ejes, con esas medidas se formara un rectángulo, seleccionar la opción de “Borrar”, se quitará la línea horizontal de abajo, seleccionar la opción de “Arco”, posicionar el cursor en la parte inferior de una de las líneas verticales e moverlo en el eje X indicando un arco de 12 cm, que coincidirá con la otra línea del rectángulo formado. Para las medidas de la tapa del reactor en una hoja nueva, seleccionar la opción “Círculo”, colocar el cursor en el centro de la hoja e indicar un círculo de 12 cm de diámetro. Para realizar las entradas y salidas se realizarán dos perforaciones una de 2 cm que servirá como entrada de agua, O₃ y H₂O₂ y para las salidas será de 1.5 cm.

2.1.2 Construcción del reactor tipo Batch

La construcción se realizará utilizando las medidas dadas en el diseño del reactor que es para un volumen de 1 litro para uso en laboratorio, para la selección del material a utilizar en el reactor se utilizara un cilindro de plástico ya que es más fácil de manipular a la hora de realizar las perforaciones para las entradas y salidas. El reactor estará sobre una plancha de agitación que ayudará al agitador magnético a la homogenización de la solución, se utilizará un ozonificador el cual se conectará a una manguera de pecera y una llave “T” para hacer la conexión hacia las entradas de la cortina de burbujas que suministrará el O₃ hacia toda la solución, en el reactor.

2.2 Aplicación

2.2.1 Pruebas preliminares

Con ayuda de las pruebas preliminares se determinaron los parámetros más convenientes para la experimentación, en función de la cantidad de ozono (tiempo de inyección), peróxido de hidrógeno, poliacrilato de sodio, cantidad de agua, tiempo de reacción en las cajas Petri y concentración de bacterias.

2.2.1.1 Preparación de medios sólido y líquido de cultivo

Se realizó la preparación y esterilización del medio sólido, usando 5 g de NaCl, 2.5 g de levadura, 5 g de peptona, 6 g de agar bacteriológico y 500 ml de agua. Se realizará también la preparación del medio líquido, Luria Bertani usando 2.5 g de NaCl, 1.25 g de levadura, 2.5 g de peptona y 250 ml de agua.

Al disolverlo se metió al auto clave por 20 minutos para esterilizarlo al transcurrir ese tiempo se vació en cada caja Petri y se dejan solidificar, cuando estas solidifiquen completamente se meterán a la estufa de cultivo 10 minutos para secarlas (como se muestra en la Figura 2.1).

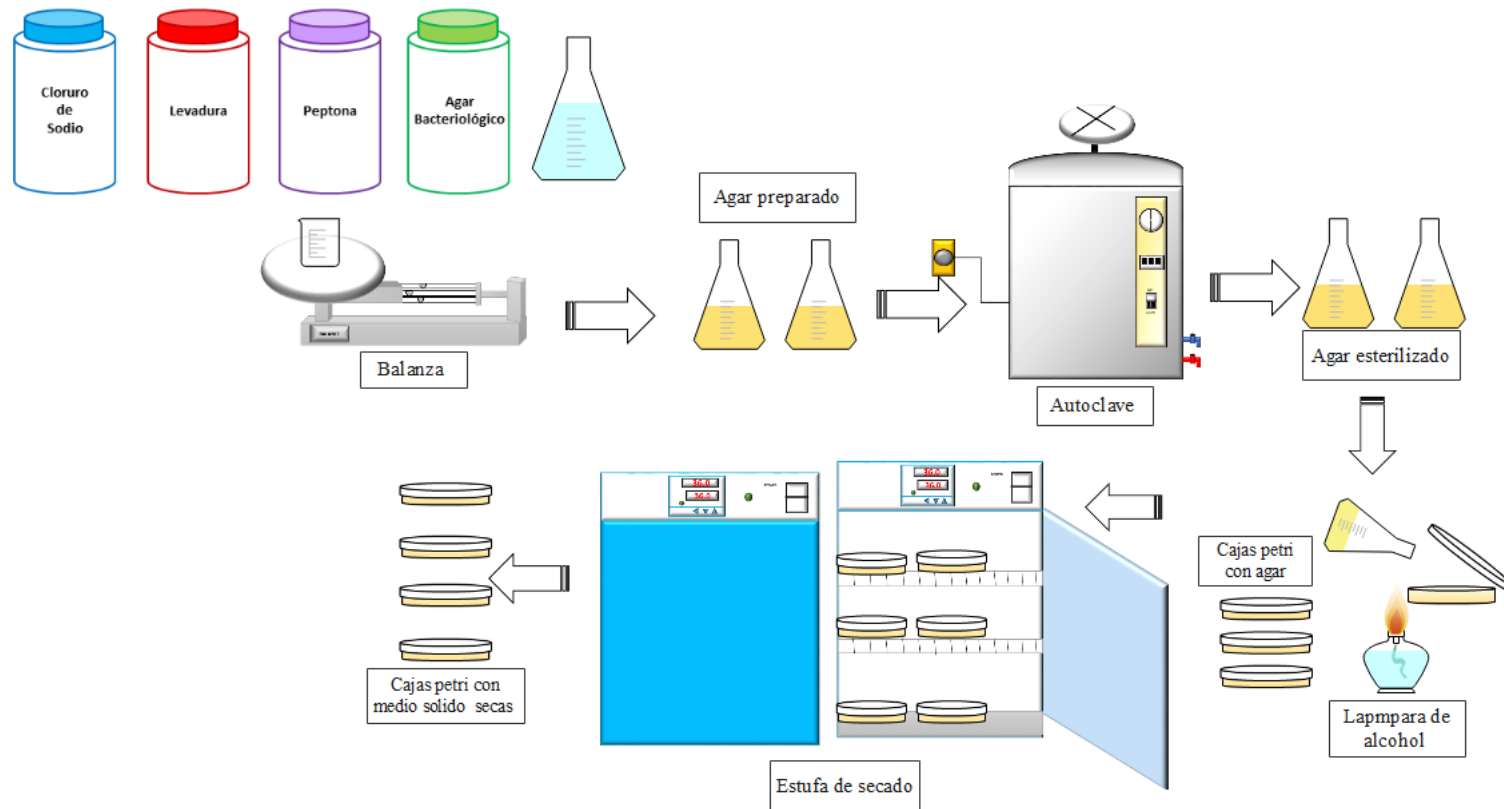


Figura 2.1: Preparación del medio sólido.

Para el medio líquido se dejó enfriar y se metió al refrigerador tapado para que no se contaminara ya que nos servirá después para seguir sembrando las bacterias (como muestra la Figura 2.2)

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

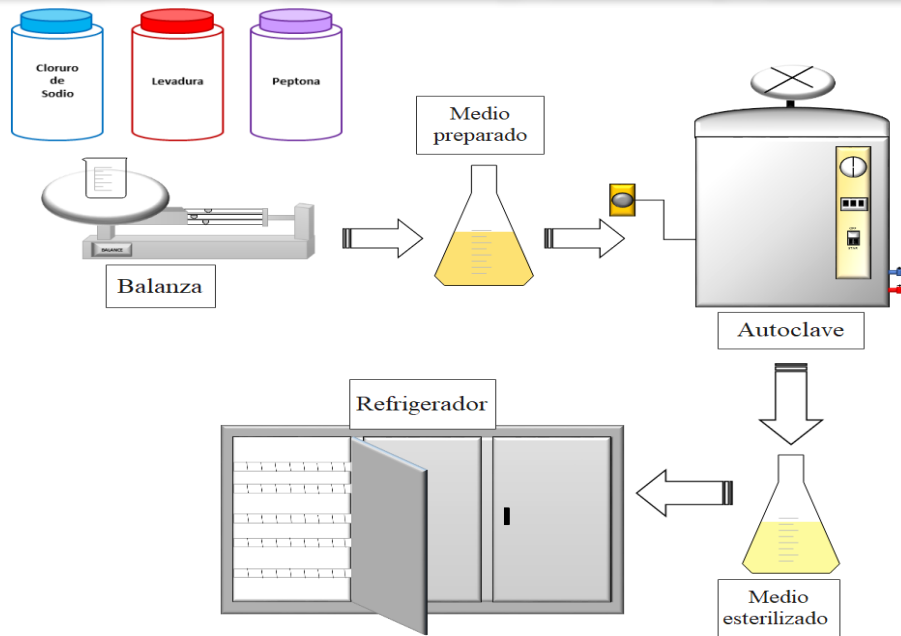


Figura 2.2: Preparación del medio líquido (Luria Bertani)

Para la preparación de las bacterias *E. coli* y *B. subtilis* se tomarán 5 ml del medio líquido para cada bacteria con ayuda de la micropipeta se depositarán en vasos de precipitado de 50 ml y con ayuda de un asa bacteriológica se tomarán las muestras de cada bacteria enjuagando en cada vaso de precipitado, se tapan los vasos y se agitarán con ayuda del vortex, dejando incubar cada bacteria por 24 horas (Figura 2.3).

Al transcurrir el tiempo requerido se observó el crecimiento de ambas bacterias en el medio líquido (se observó una nata en la superficie del cada vaso), con ayuda del vortex se agito los vasos que contienen el medio líquido con las bacterias y con ayuda de una micropipeta se tomaron 2 ml de cada bacteria colocándolos en tubos para centrifugar a 10 mil revoluciones (rpm) por 10 minutos para sedimentar la bacteria. Al transcurrir los primeros 10 minutos se retiró el medio líquido y se colocaron 2 ml de agua esterilizada para hacer el primer lavado, se agito nuevamente en el vortex y se repite el mismo procedimiento para el segundo lavado (Figura 2.4).

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

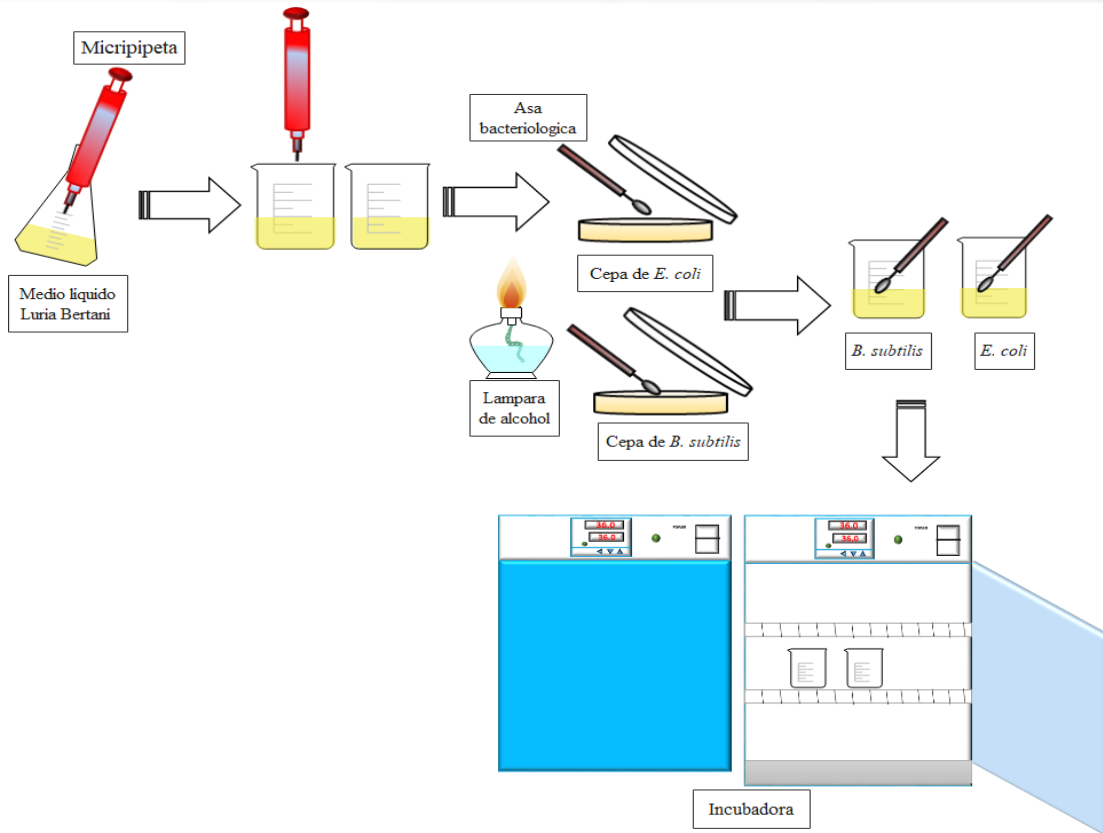


Figura 2.3: Incubación de bacterias *E. coli* y *B. subtilis*.

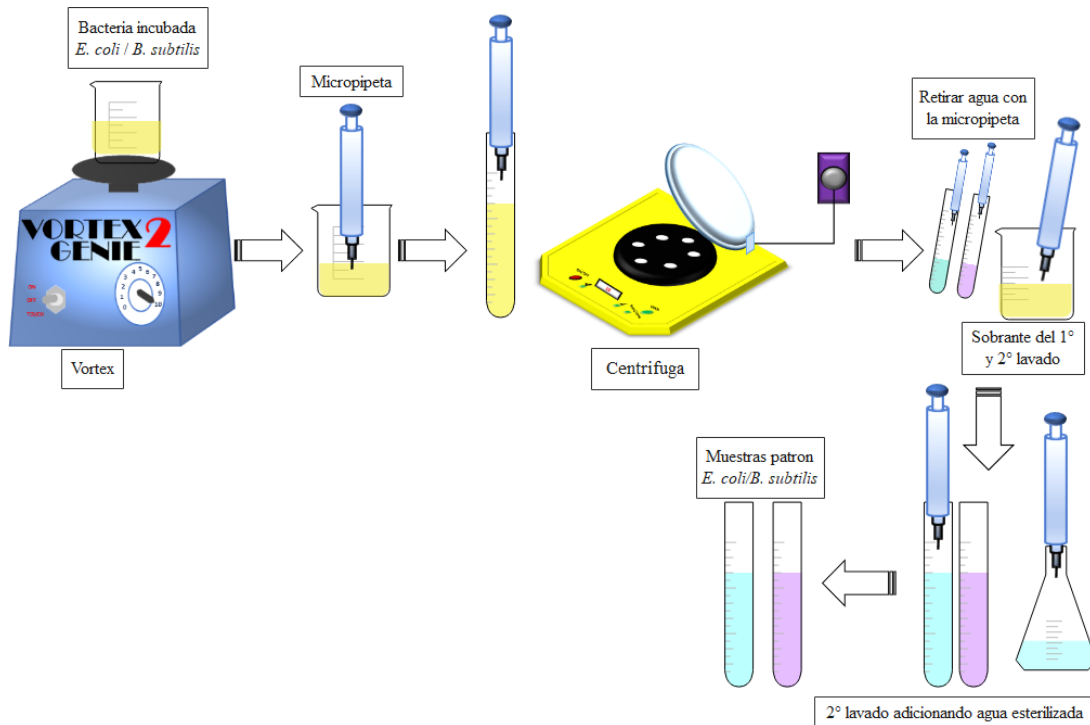


Figura 2.4: Preparación de muestras patrón *E. coli* y *B. subtilis*.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Se realizaron diluciones sucesivas para los dos tipos de bacterias en el caso de *E. coli* se realizaron diluciones sucesivas de 10^9 hasta 10^2 bacterias/ ml y para *B. subtilis* se realizaron las diluciones de 10^7 hasta 10^2 bacterias/ml.

Se etiquetaron los tubos de ensayo y las cajas Petri, para poder realizar las diluciones sucesivas de cada bacteria se tomaron 100 μ l de la bacteria patrón se colocaron en el siguiente tubo y se agregaron 900 μ l de agua esterilizada, hasta llegar a una dilución de cada bacteria de 10^2 bacterias/ml (Figura 2.5).

Se tomaron 100 μ l de cada dilución y se colocaron en cada caja Petri, para poder inocular, se utilizó un triángulo de vidrio para realizar la difusión por toda la caja, además, el triángulo deberá estar previamente colocado en alcohol y después pasarlo por la flama de la lámpara de alcohol para esterilizarlo constantemente repitiendo esta acción cada vez que se siembre una dilución diferente en cada caja Petri (Figuras 2.10-2.14). Para el caso de las muestras patrones al terminar de inocular en ellas se colocaron en la estufa de cultivo y para las cajas que se les aplicara la solución sanitizante tanto en forma de aerosol y en forma de aro de inhibición se colocaron en la estufa de cultivo por 24 horas.

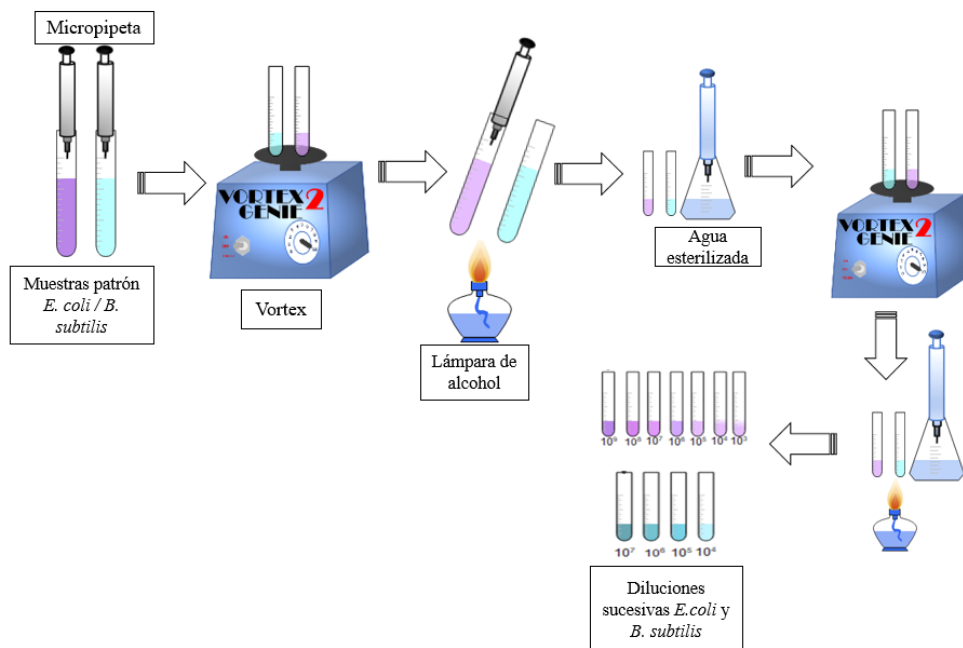


Figura 2.5: Preparación de diluciones sucesivas.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

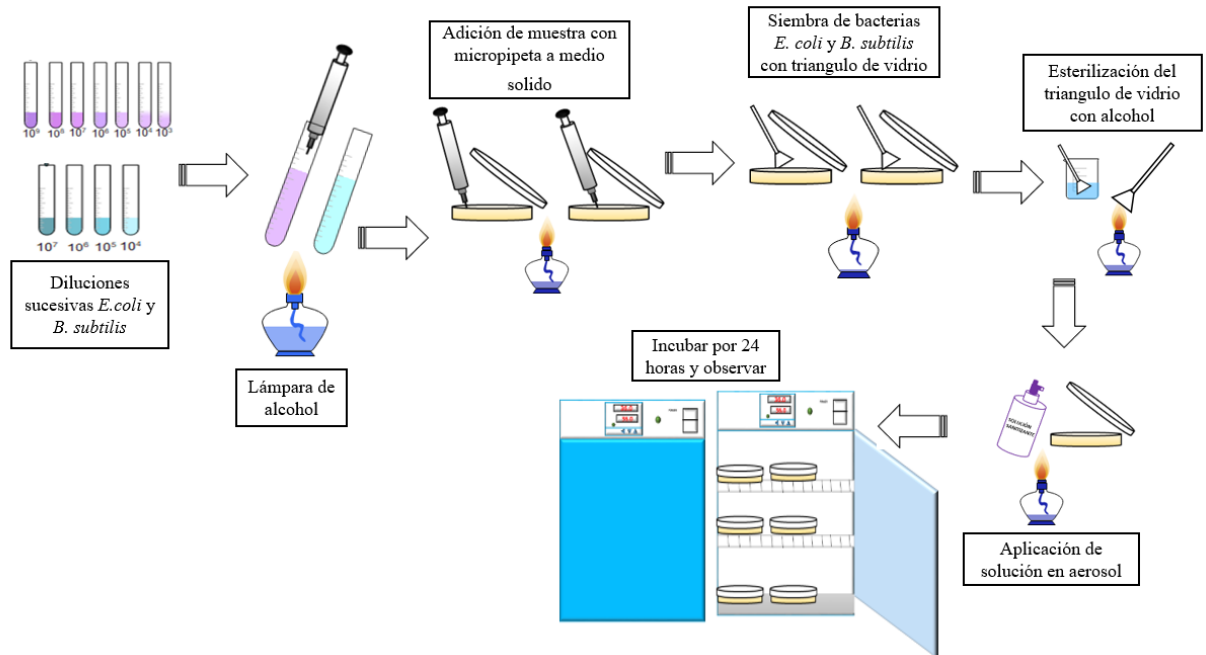


Figura 2.6: Toma y siembra de diluciones sucesivas *E. coli* y *B. subtilis*.

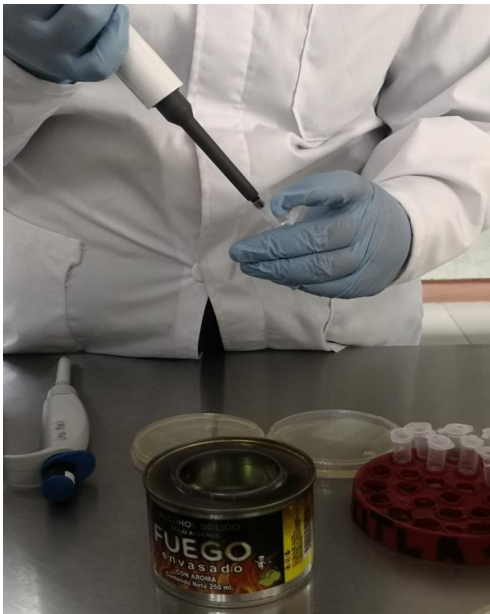


Figura 2.7: Toma de muestras de dilución de bacterias.



Figura 2.8: Adición de dilución a medio de cultivo.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.



Figura 2.9: Esterilización del triángulo para sembrar.



Figura 2.10: Siembra en medio de sólido.

2.2.1.2 Preparación de solución sanitizante

La solución sanitizante se preparó con ayuda del reactor de tratamiento, con el propósito de una mejor interacción entre las especies químicas generadas por la reacción de agua con ozono y peróxido de hidrogeno, las cuales son formadas en el medio y al mismo tiempo son retenidas en el adsorbente poliacrilato de sodio. Cuando se termina la preparación de la solución sanitizante esta se colocará en un rociador para la aplicación en cajas Petri contaminadas con bacterias.

Solución 1: Se vació en el reactor un volumen de 100 ml de agua, agregándole 50 μl de H_2O_2 y suministrando durante tres minutos de O_3 , al concluir se colocó en un atomizador que servirá para poder aplicarla sobre el medio.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

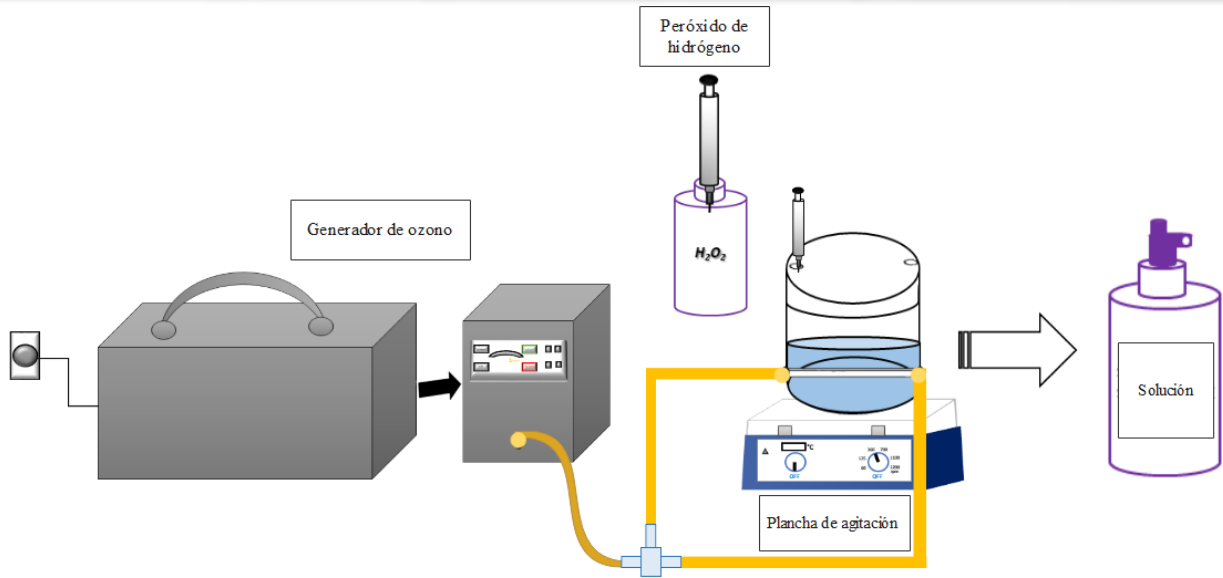


Figura 2.11: Preparación de solución satinizante.



Figura 2.12: Reactor de tratamiento tipo Batch.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

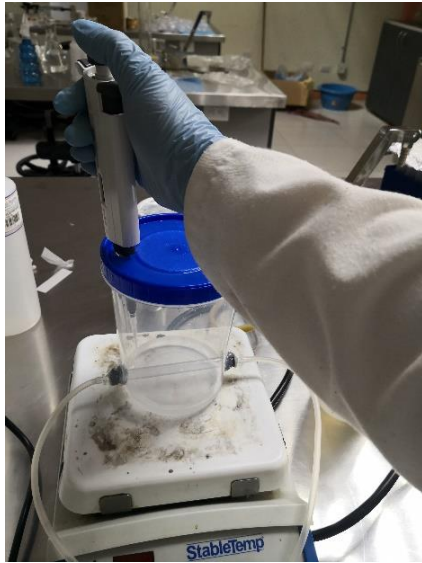


Figura 2.13: Adición de H_2O_2 .



Figura 2.14: Solución sanitizante.

2.2.1.3 Aplicación de solución sanitizante a medios de cultivo

Sobre el medio de cultivo de cada una de las cajas Petri debidamente etiquetadas, se les aplicó la solución sanitizante. La forma en que se aplicó la solución mediante atomización con ayuda de una regla se estableció la distancia a la que se aplicó la solución; que fue de 12 cm para todas las muestras y un ángulo de 45° a excepción de las cajas con las que se comparan (Figura 2.15).



Figura 2.15: Aplicación de solución sanitizante en forma de aerosol.

2.2.1.4 Modificación de las condiciones de solución sanitizante

Se realizaron dos soluciones sanitizantes para las siguientes pruebas experimentales (representadas en la Figura 2.14):

Solución 2: Tanto para *E. coli* como para *B. subtilis* la solución está compuesta por 100 ml de H₂O, 50 µl de H₂O₂, diez minutos de O₃.

Solución 3: La solución sanitizante se realizó con 100 ml de H₂O, 100 µl de H₂O₂, diez minutos de O₃.

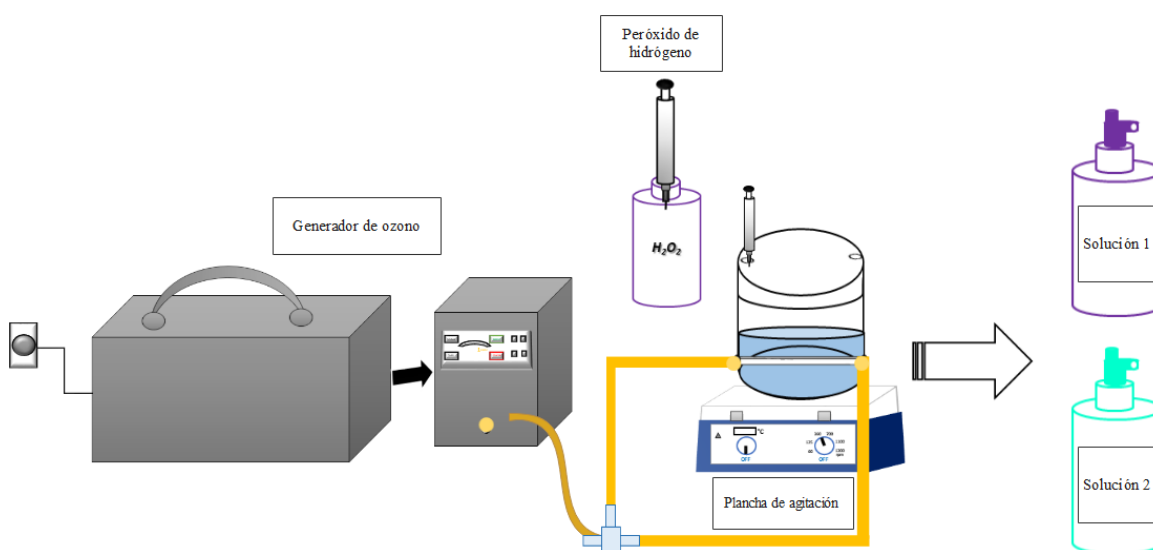


Figura 2.16: Preparación de soluciones sanitizantes con reactor tipo Batch.

Para estas pruebas las diluciones sucesivas de las bacterias para *E. coli* de 10⁹ hasta 10³ bacterias/ml y para *B. subtilis* de 10⁷ hasta 10³ bacterias/ml.

La solución fue proyectada a cada caja mediante dos activaciones del atomizador

2.2.2 Condiciones finales de solución de poliacrilato de sodio

Para la solución cuatro se utilizaron los siguientes materiales: 400µl de H₂O₂, 0.25g de poliacrilato de sodio y 100 ml de H₂O y 20 minutos de O₃.

El poliacrilato de sodio, se agregó al reactor que contenía el agua y el peróxido de hidrogeno, en esta preparación se utilizó un agitador magnético colocado en el interior del reactor con la finalidad de disolver la dilución del poliacrilato de sodio. Para tener una idea del pH de la

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

solución preparada se utilizaron tiras de pH (Figura 2.17) que fueron utilizadas al finalizar el proceso de realización de la solución dando un pH de 7 (neutro).

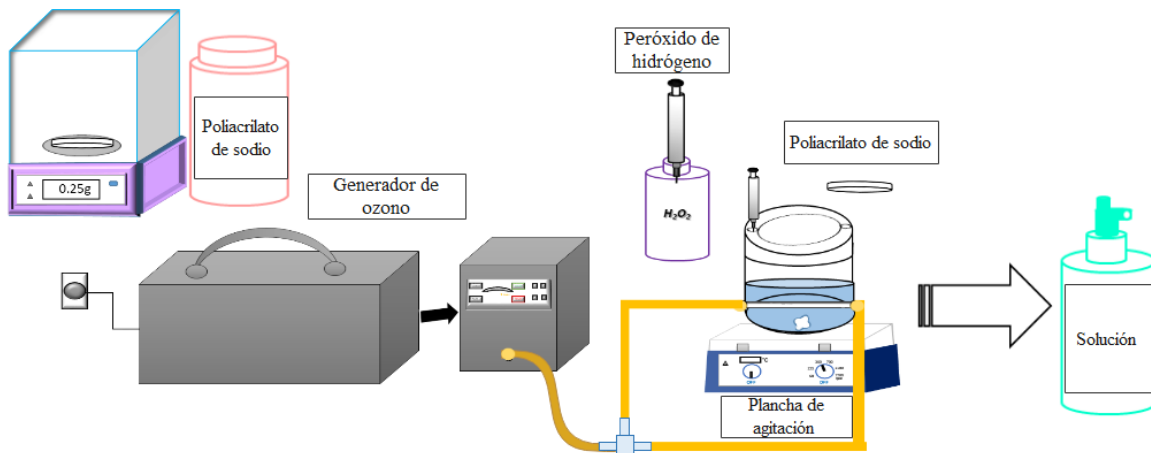


Figura 2.17: Preparación de soluciones satinizante añadiendo poliacrilato de sodio.

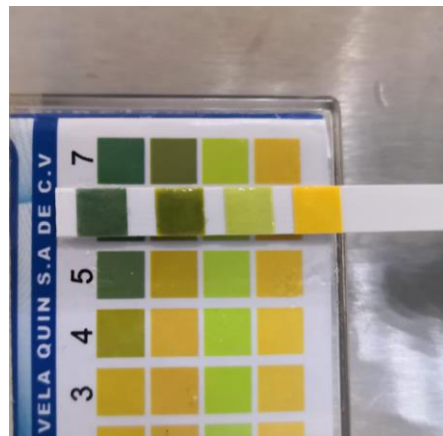


Figura 2.18: Medición de pH de la solución.

En las diluciones sucesivas se trabajó con *E. coli* de 10^9 hasta 10^2 bacterias/ml y para *B. subtilis* de 10^7 hasta 10^2 bacterias/ml.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Para el caso de esta solución se implementaron dos formas de aplicarlo (representadas en la Figura 2.19):

- i. Se comenzó la experimentación en las cajas Petri contaminadas aplicando dos atomizaciones en la primera prueba, pero se fue aumentando el número de atomizaciones hasta llegar a seis esto para poder cubrir más área de contacto entre la solución sanitizante y la superficie (caja Petri) en cada atomización la caja se fue girando 90°.
- ii. Con ayuda de un gotero tomando muestras de la solución se colocó una gota en el centro de la caja

Después de colocar la solución sobre cada medio se dejaron incubar durante 24 horas para observar la proliferación de bacterias.

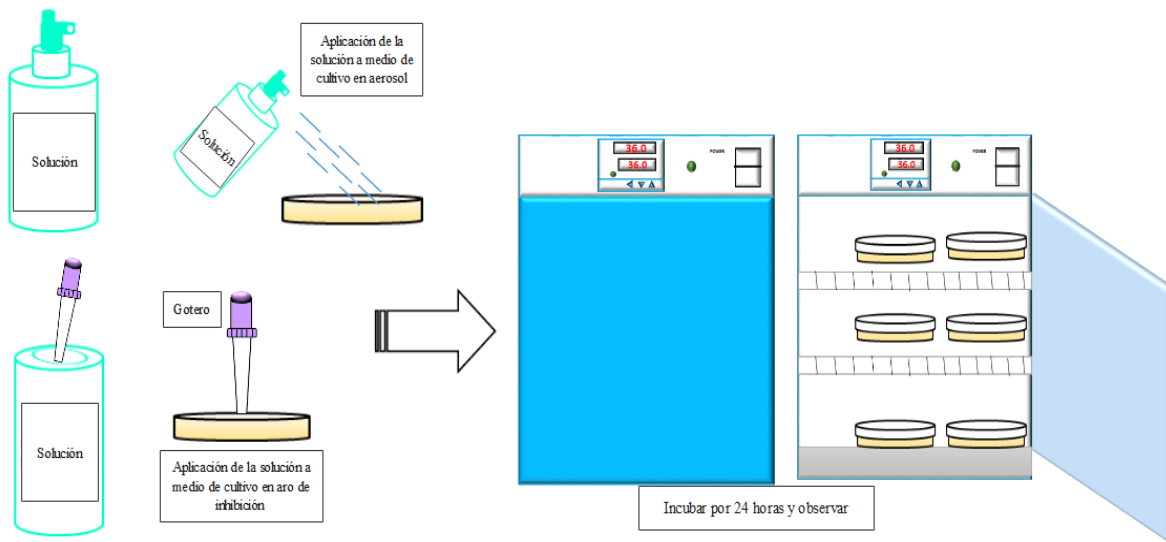


Figura 2.19: Aplicación de solución sanitizante a los medios de cultivo.

3.1 Resultados del diseño y construcción del reactor tipo Batch

3.1.1 Resultados del diseño del reactor tipo Batch en software AutoCAD 2019

Se presentan los resultados del diseño del reactor tipo Bach utilizando el software AutoCAD 2019 donde se muestran las medidas del reactor (perforaciones de entradas, salidas).

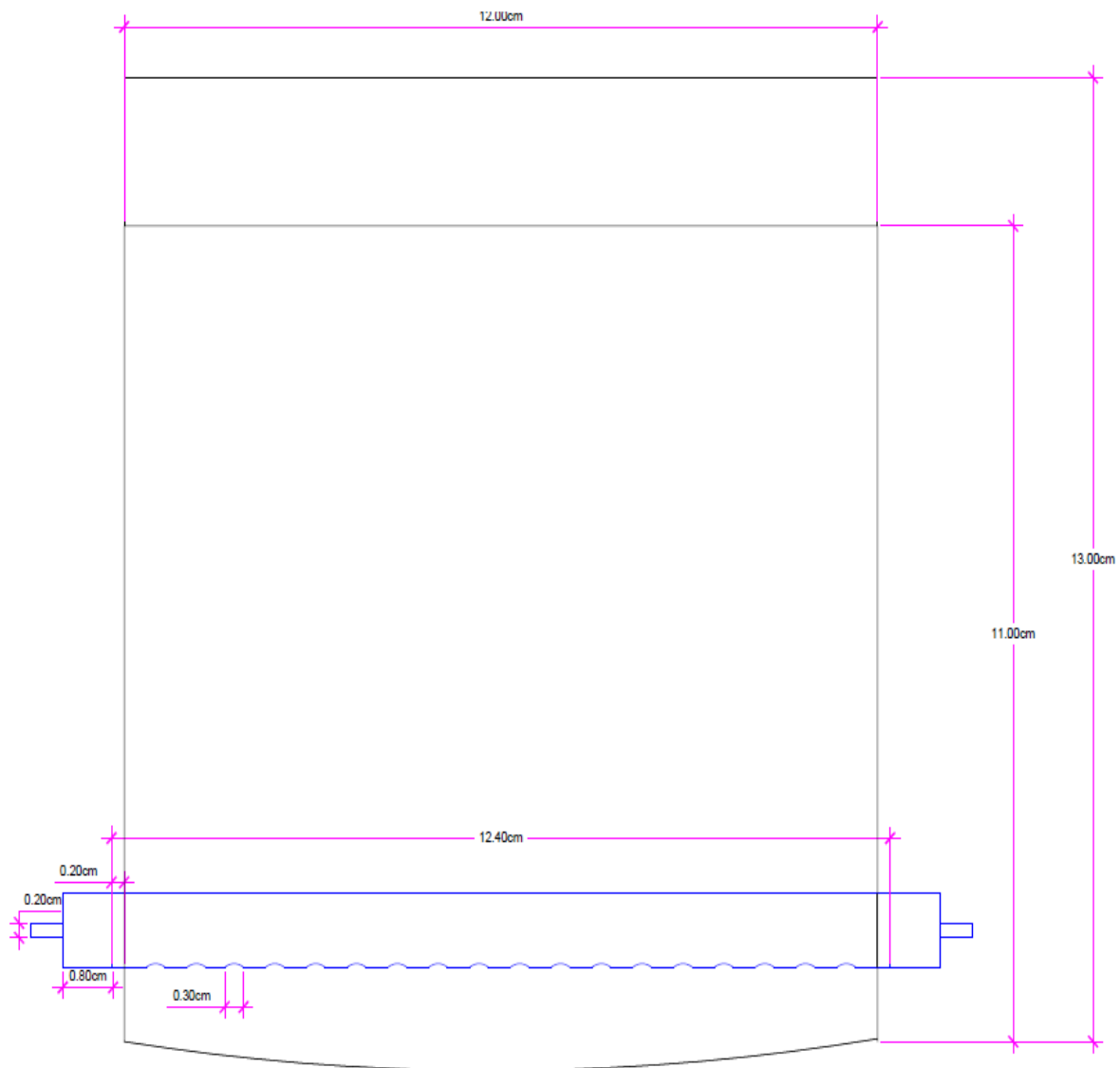


Figura 3.1: Diseño y dimensiones del reactor tipo Batch.

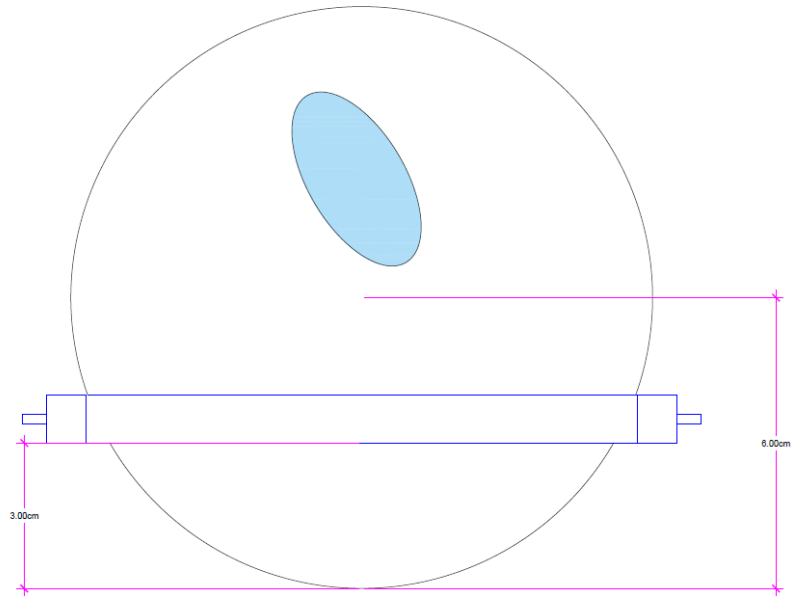


Figura 3.2: Vista superior del reactor tipo Batch.

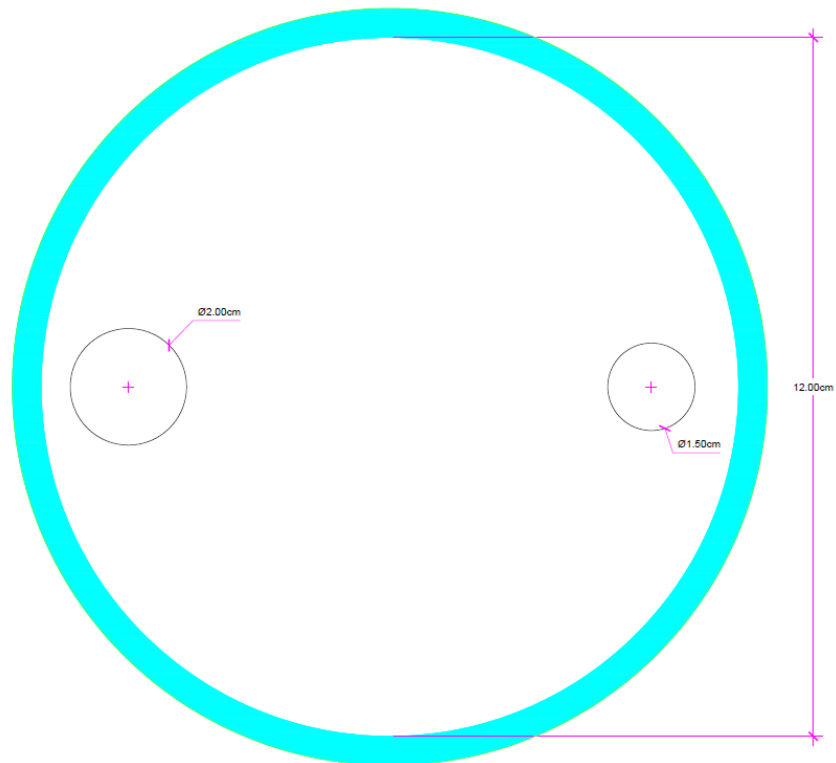


Figura 3.3: Diseño y dimensiones de la tapa del reactor tipo Batch.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

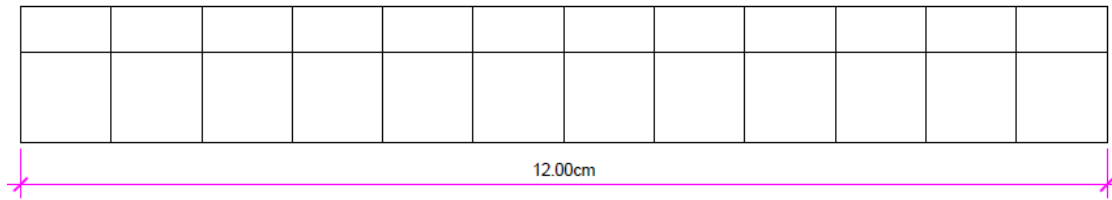


Figura 3.4: Vista lateral de la tapa del reactor tipo Batch.

3.1.2 Resultados de la construcción del reactor tipo Batch

Se presenta la construcción del reactor tipo Bach apreciando el tipo de material empleado (cilindro de plástico de más fácil manipulación, manguera de látex para la conexión hacia el ozono y una cortina de burbujas).



Figura 3.5: Reactor de tratamiento tipo
Batch



Figura 3.6 Cortina de burbujas en el interior
del reactor

3.2 Resultados de la aplicación



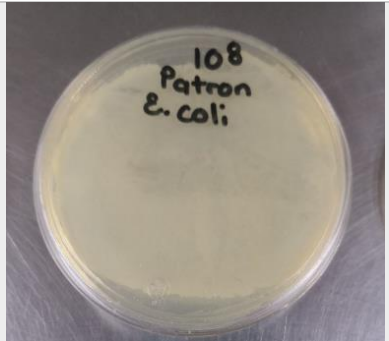
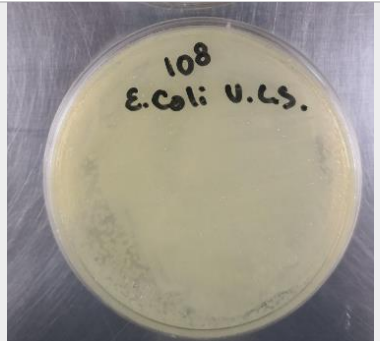
3.2.1 Resultados de pruebas preliminares

3.2.1.1 Primera solución aplicación




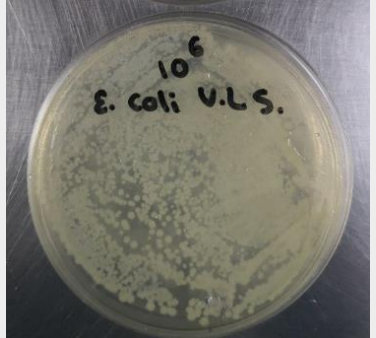




Las diluciones sucesivas con las que se trabajó para estas pruebas preliminares fueron para *E. coli* 10^9 hasta 10^4 bacterias/ ml y para *B. subtilis* de 10^7 hasta 10^4 bacterias/ ml.

De las tablas 3.1 y 3.2 se observó que la solución tuvo un efecto a partir de la muestra con la dilución 10^7 hasta 10^4 bacterias/ ml para *E. coli* y para las muestras de *B. subtilis* se observó el efecto de la solución a partir de la dilución 10^5 y 10^4 bacterias/ ml.

Tabla 3.1: Resultados primera prueba aplicación de solución sanitizante uno en aerosol a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

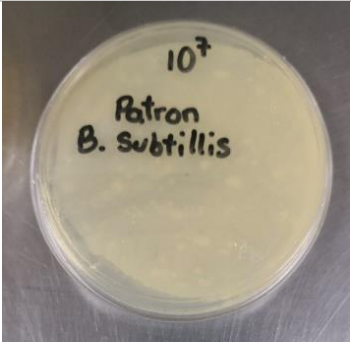
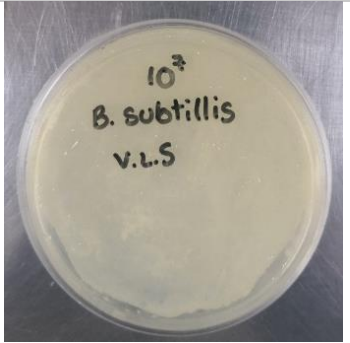


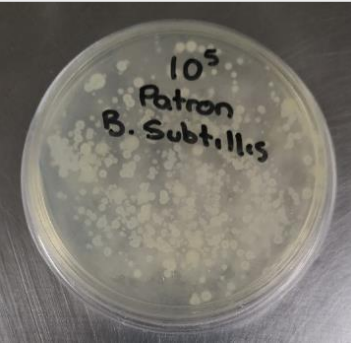


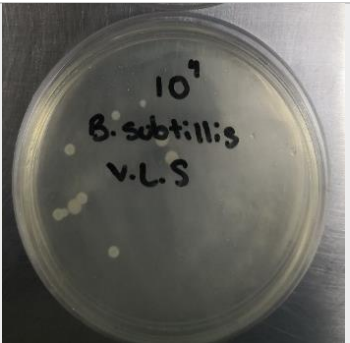
<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10^9 bacterias/ml	 A petri dish containing a bacterial culture. The lid is labeled "10 ⁹ Patron E.Coli". The agar surface shows a uniform, dense, yellowish growth.	 A petri dish containing a bacterial culture. The lid is labeled "10 ⁹ E. coli v.l.s.". The agar surface shows a uniform, dense, yellowish growth, similar to the control.
10^8 bacterias/ml	 A petri dish containing a bacterial culture. The lid is labeled "10 ⁸ Patron E. coli". The agar surface shows a uniform, dense, yellowish growth.	 A petri dish containing a bacterial culture. The lid is labeled "10 ⁸ E. coli v.l.s.". The agar surface shows a uniform, dense, yellowish growth, similar to the control.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

<p>10⁷ bacterias/ ml</p>	 <p>10⁷ Patron E. coli</p>	 <p>10⁷ E. coli v.l.s.</p>
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>	 <p>10⁶ Patron E. coli</p>	 <p>10⁶ E. coli v.l.s.</p>
<p>10⁵ bacterias/ ml</p>	 <p>10⁵ Patron E. coli</p>	 <p>10⁵ E. coli v.l.s.</p>
<p>10⁴ bacterias/ ml</p>	 <p>10⁴ Patron E. coli</p>	 <p>10⁴ E. coli v.l.s.</p>

**OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.**

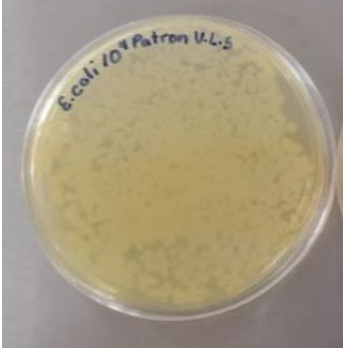
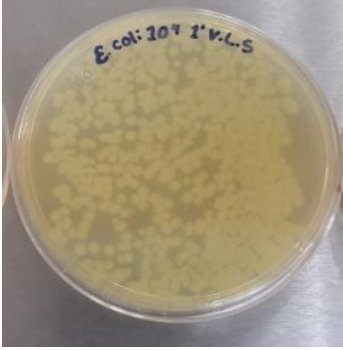
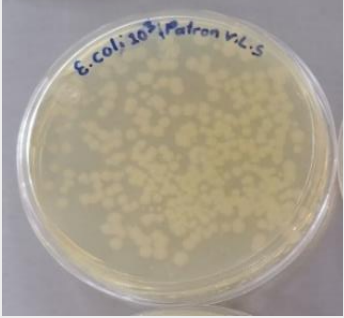

Tabla 3.2: Resultados primera prueba aplicación de solución sanitizante uno en aerosol a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10 ⁷ bacterias/ ml	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁷ Patron B. subtilis".	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁷ B. subtilis v.l.s".
10 ⁶ bacterias/ ml	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁶ B. subtilis Patron".	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁶ B. subtilis v.l.s".
10 ⁵ bacterias/ ml	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁵ Patron B. Subtilis".	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁵ B. subtilis v.l.s".
10 ⁴ bacterias/ ml	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁴ Patron B. subtilis".	 A petri dish containing a uniform, opaque yellowish-white bacterial suspension. The lid is labeled "10 ⁴ B. subtilis v.l.s".

3.2.1.2 Segunda solución aplicación

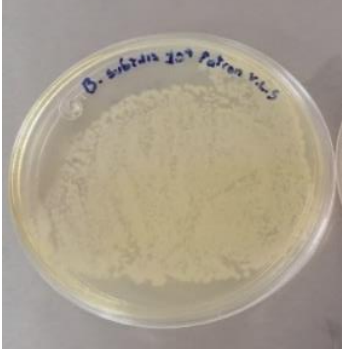
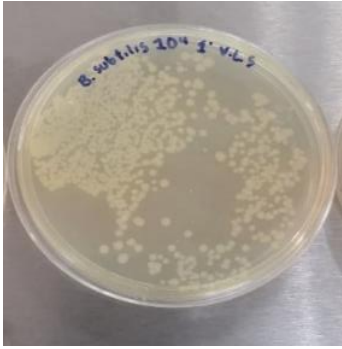
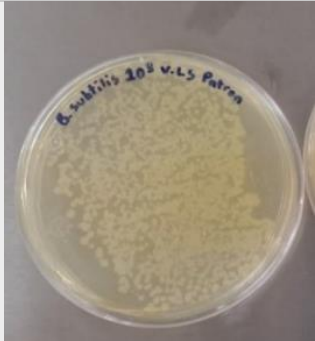

Las tablas 3.3. y 3.4 se observan los resultados visuales de la efectividad de la segunda solución que para estas pruebas las diluciones 10^3 y 10^4 bacterias/ ml fueron donde se representa una mayor visualización de la inactivación en ambas bacterias.

Tabla 3.3: Resultados segunda prueba aplicación de solución sanitizante dos en aerosol a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10^4 bacterias/ ml		
10^3 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

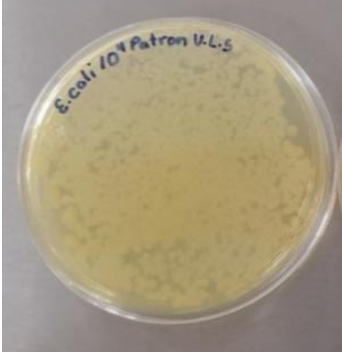
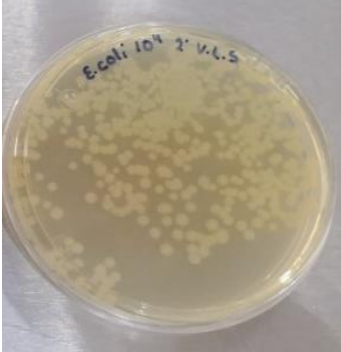
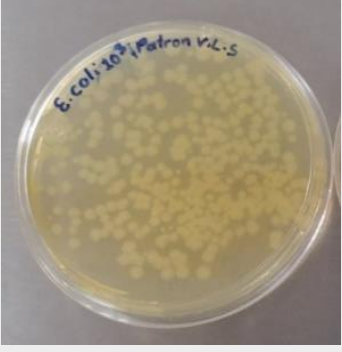

Tabla 3.4: Resultados segunda prueba aplicación de solución sanitizante dos en aerosol a
bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		

3.2.1.3 Tercera solución aplicación


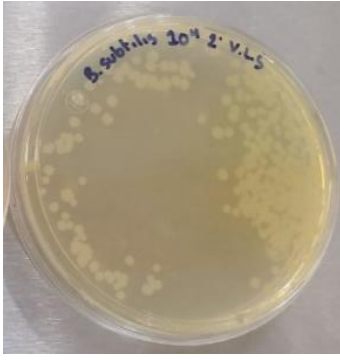
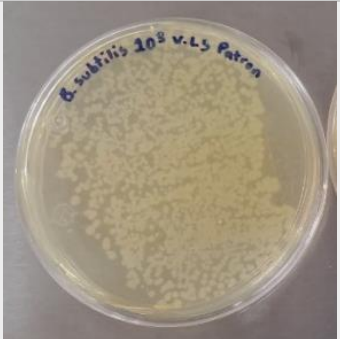

Las tablas 3.5. y 3.6 se observan las diluciones 10^3 y 10^4 bacterias/ ml donde se representa una mayor visualización de la inactivación en ambas bacterias.

Tabla 3.5: Resultados tercera prueba aplicación de solución sanitizante tres en aerosol a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10^4 bacterias/ ml		
10^3 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 3.6: Resultados tercera prueba aplicación de solución sanitizante tres en aerosol a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		

3.3 Resultados de la solución sanitizante con poliacrilato de sodio (cuarta solución)

3.3.1 Primera aplicación dos atomizaciones y en forma de aro de inhibición

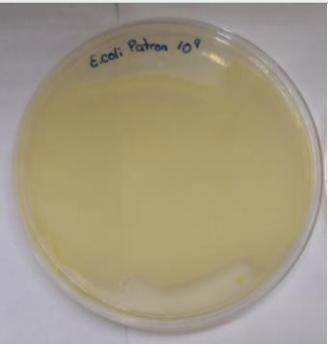
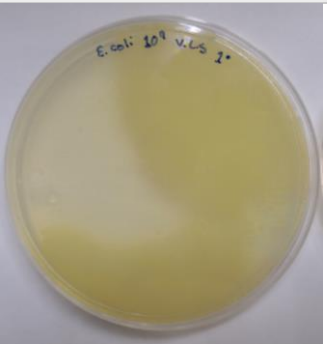


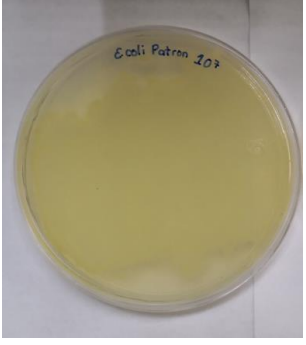
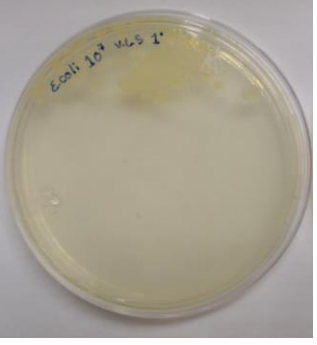
La solución se utilizó en 20 experimentos para observar la eficacia, tomando en cuenta el día que se realizó la solución sanitizante hasta el experimento 20 la solución tuvo una duración de 37 días comprobando que la solución puede seguir inactivando bacterias después de más de un mes de haber sido elaborada. Para *E. coli* se trabajó con las diluciones sucesivas de 10⁹ hasta 10² bacterias/ ml y *B. subtilis* de 10⁷ hasta 10² bacterias/ ml. Se realizaron dos atomizaciones en cada uno se giró la caja unos 90° para que la solución pudiera cubrir lo más que se pudiera del medio, se empezó con dos atomizaciones, pero se fue aumentando el

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

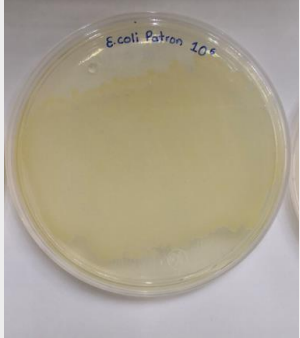
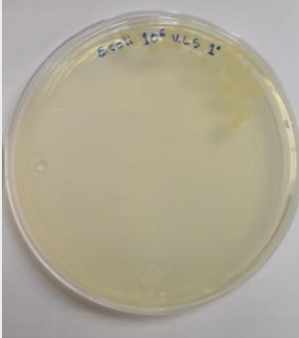
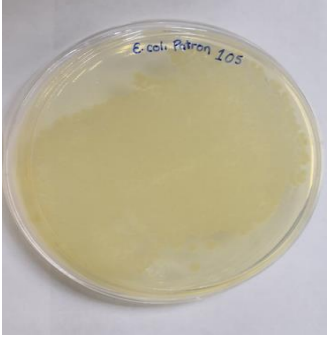
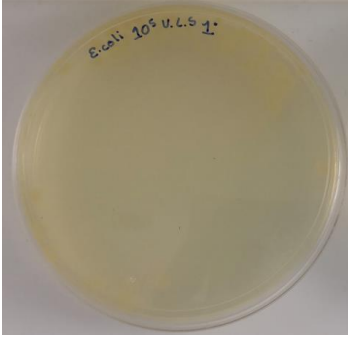

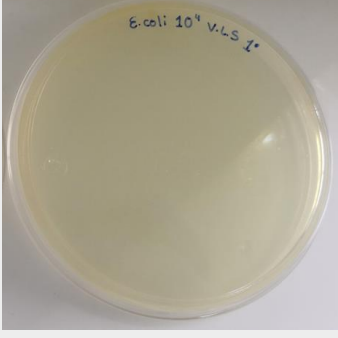

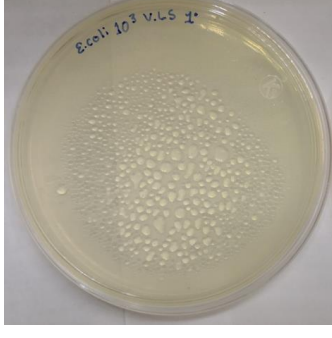
número de atomizaciones en cada prueba de dos hasta seis atomizaciones. Con ayuda de un gotero se aplicó la solución para formar un aro de inhibición.

De las tablas 3. 7- 3.26 se observan los resultados de la efectividad de la solución sanitizante con la adición de poliacrilato de sodio

Tabla 3.7: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (dos atomizaciones) a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10 ⁹ bacterias/ ml		
10 ⁸ bacterias/ ml		
10 ⁷ bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

<p>10^6 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^6</p>	 <p>E. coli 10^6 v.L.S 1</p>
<p>10^5 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^5</p>	 <p>E. coli 10^5 v.L.S 1</p>
<p>10^4 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^4</p>	 <p>E. coli 10^4 v.L.S 1</p>
<p>10^3 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^3</p>	 <p>E. coli 10^3 v.L.S 1</p>

**OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.**

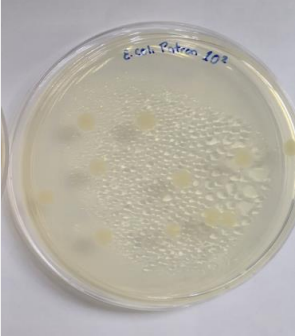


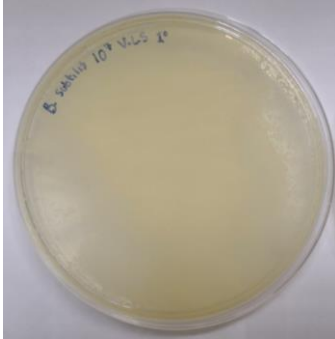
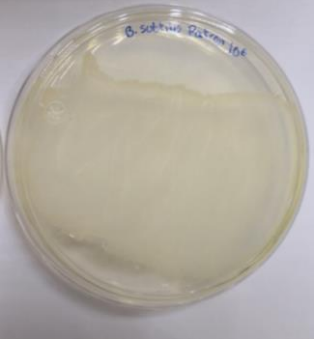
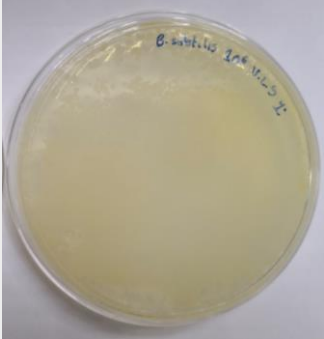


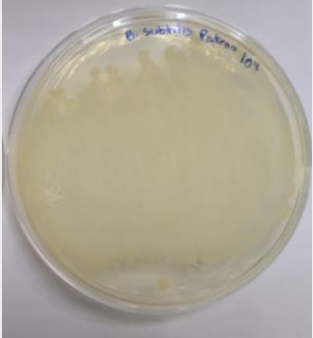
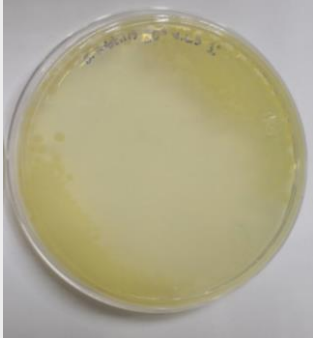
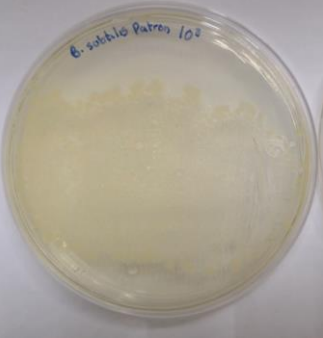
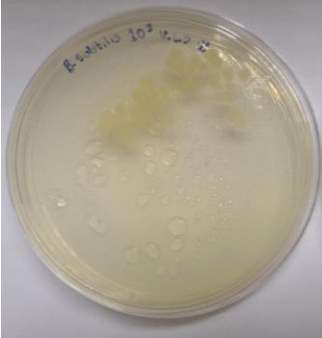
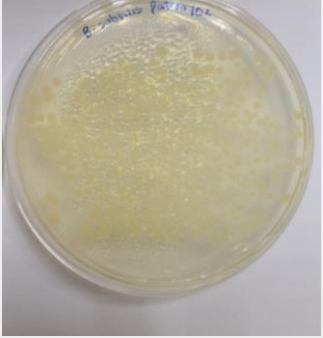
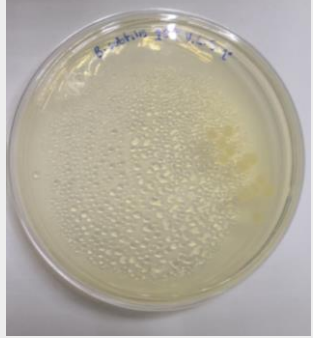
<p>10² bacterias/ ml</p>		
-------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 3.8: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (dos atomizaciones) a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.


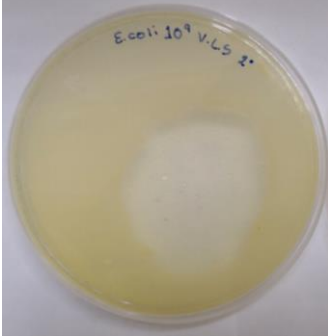

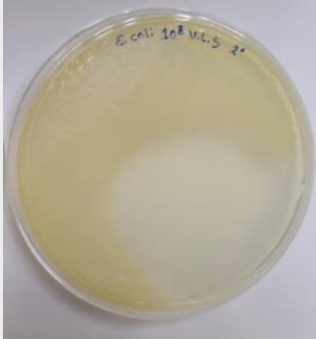
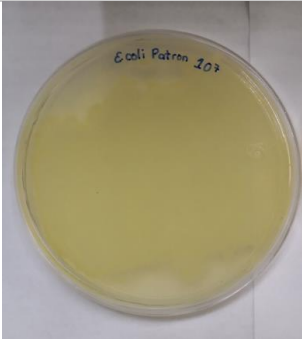
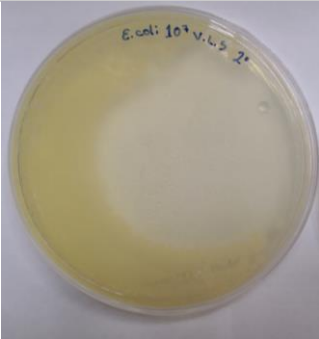
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

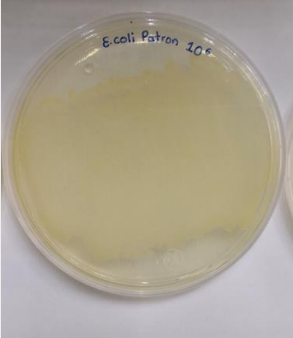
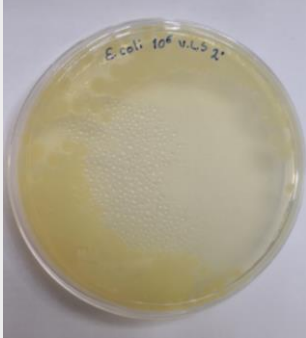
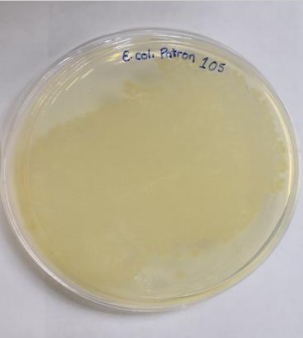


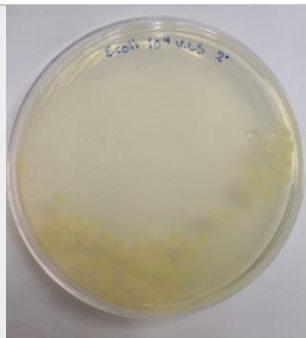


10 ⁵ bacterias/ ml		
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		
10 ² bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 3.9: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
10^9 bacterias/ ml		
10^8 bacterias/ ml		
10^7 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

<p>10^6 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^6</p>	 <p>E. coli 10^6 v.L.S 2</p>
<p>10^5 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^5</p>	 <p>E. coli 10^5 v.L.S 2</p>
<p>10^4 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^4</p>	 <p>E. coli 10^4 v.L.S 2</p>
<p>10^3 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli Patron 10^3</p>	 <p>E. coli 10^3 v.L.S 2</p>

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

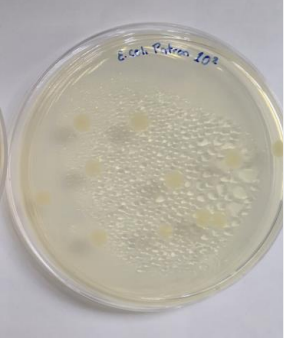
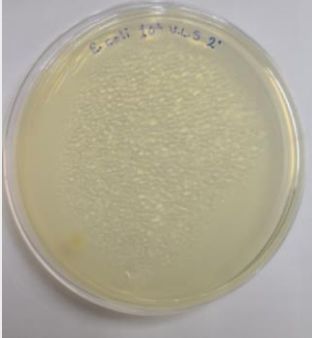
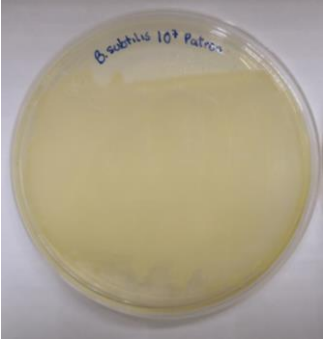
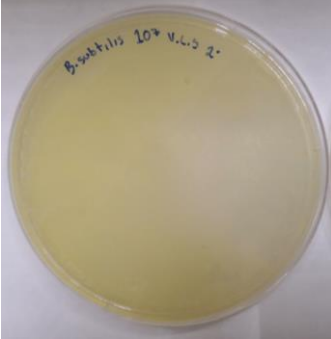
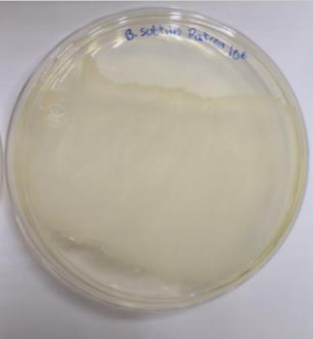
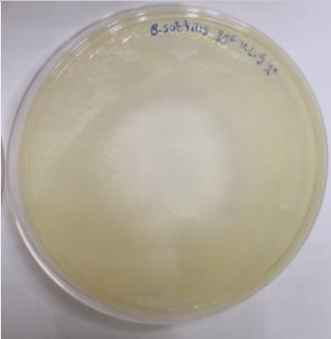
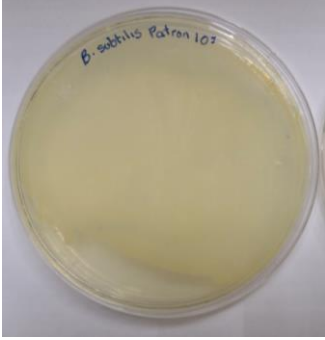

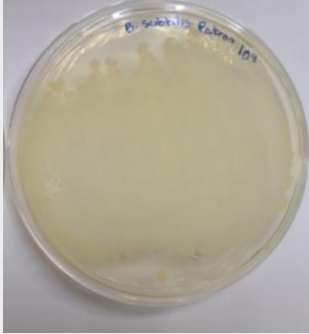
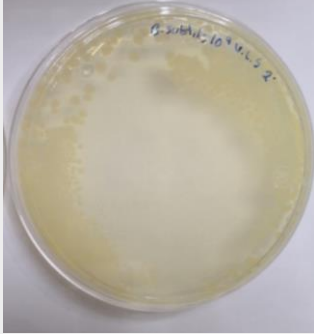

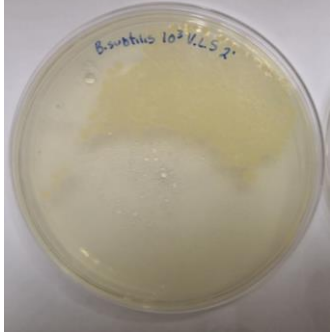
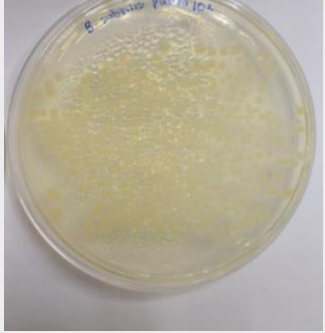
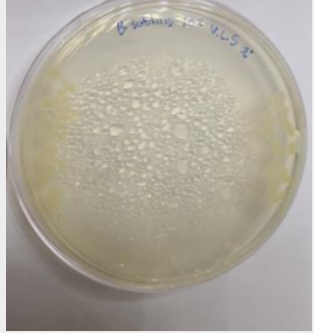
<p>10² bacterias/ ml</p>		
-------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 3.10: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

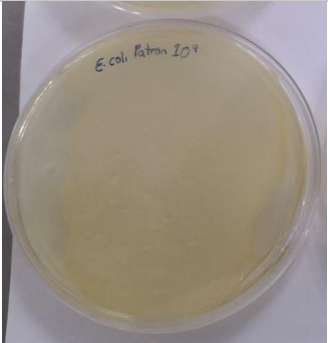
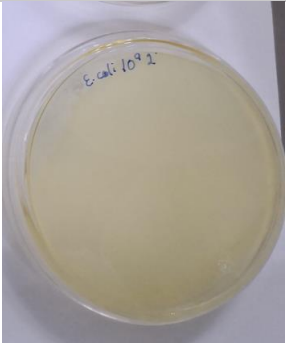

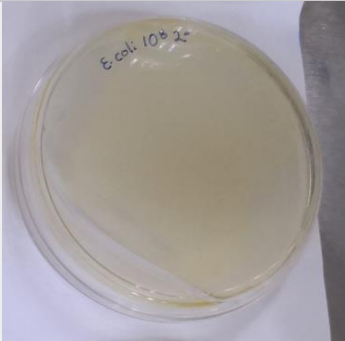
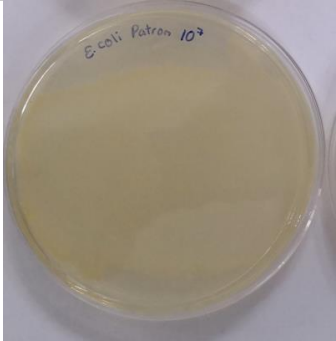

<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

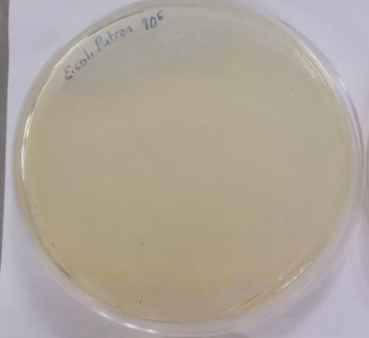
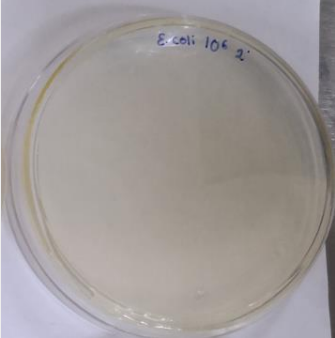
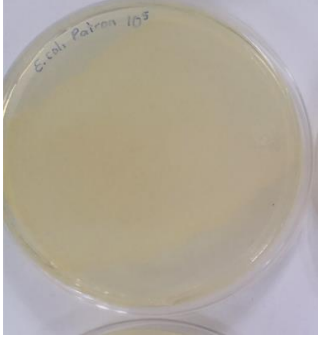
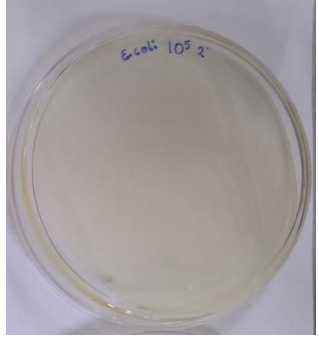
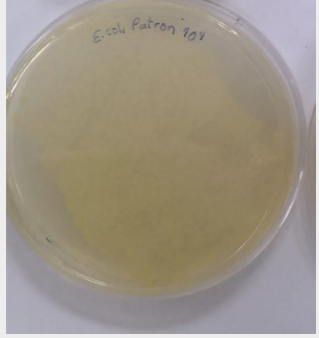
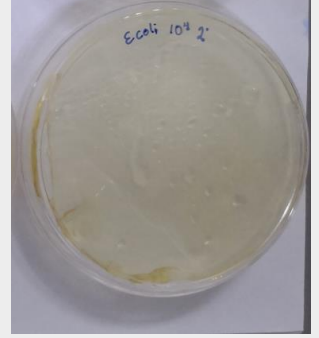
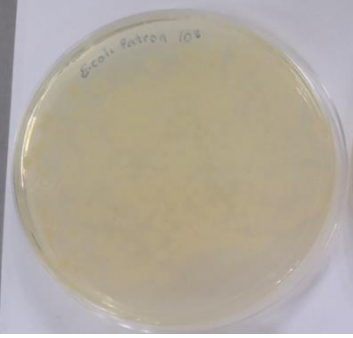
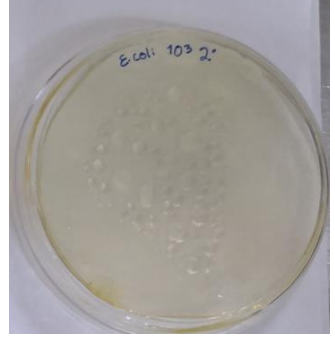
10 ⁵ bacterias/ ml		
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		
10 ² bacterias/ ml		

3.3.2 Segunda aplicación tres atomizaciones y en forma de aro de inhibición

Tabla 3.11: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (tres atomizaciones) a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10^9 bacterias/ ml		
10^8 bacterias/ ml		
10^7 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

<p>10^6 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10⁶ 1</p>	 <p>E. coli 10⁶ 2</p>
<p>10^5 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10⁵ 1</p>	 <p>E. coli 10⁵ 2</p>
<p>10^4 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10⁴ 1</p>	 <p>E. coli 10⁴ 2</p>
<p>10^3 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10³ 1</p>	 <p>E. coli 10³ 2</p>

**OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.**

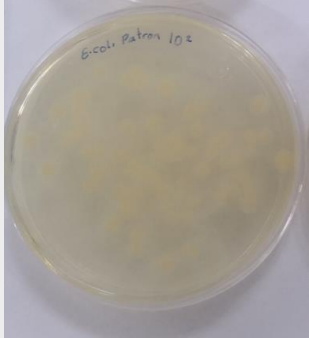
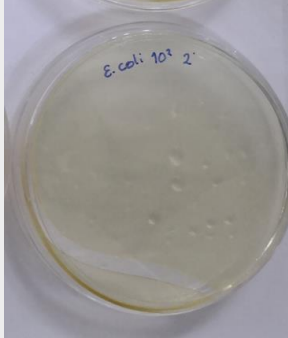

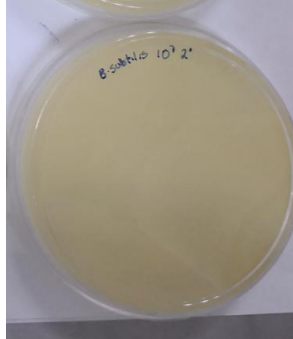
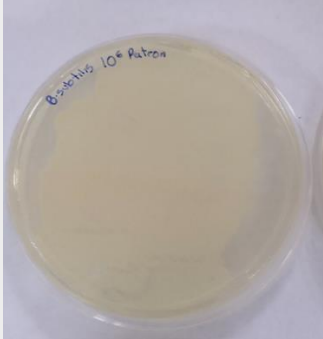

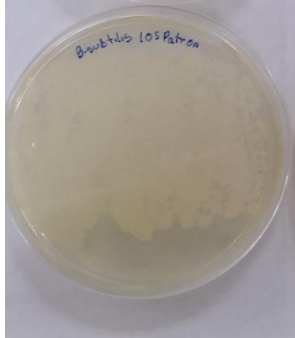
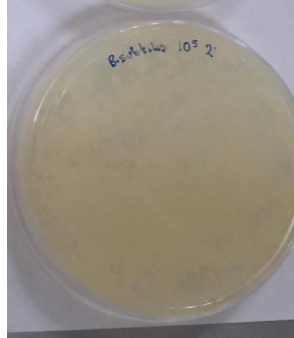

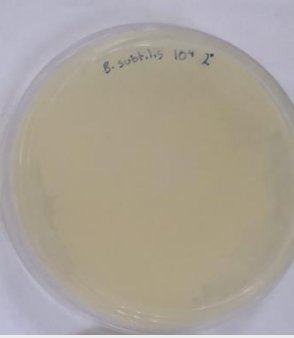




<p>10² bacterias/ ml</p>		
-------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 3.12: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (tres atomizaciones) a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

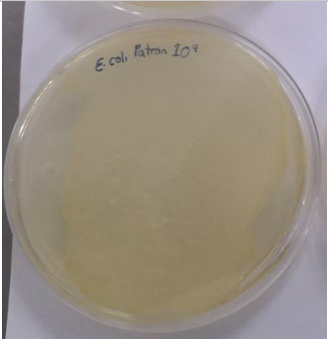
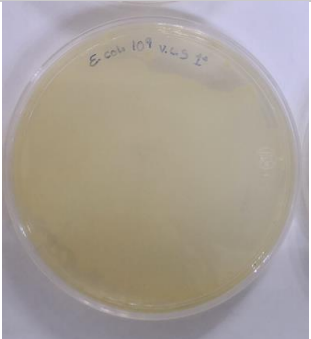

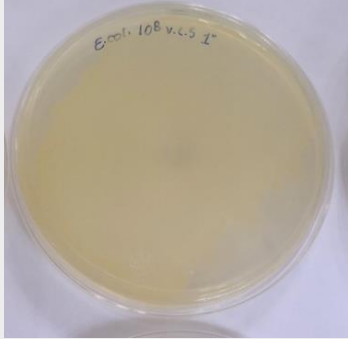
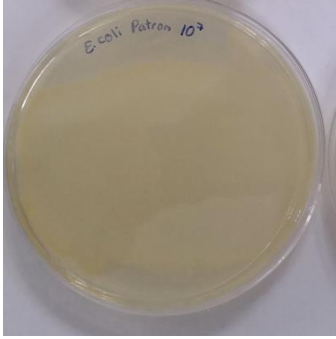
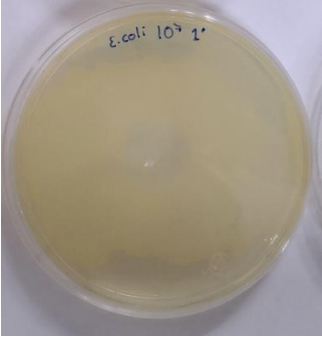
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

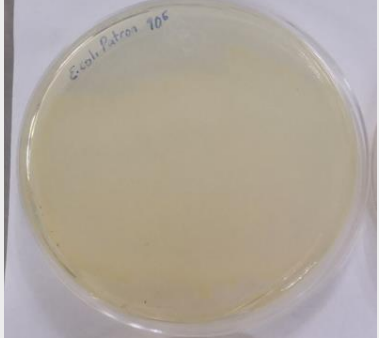
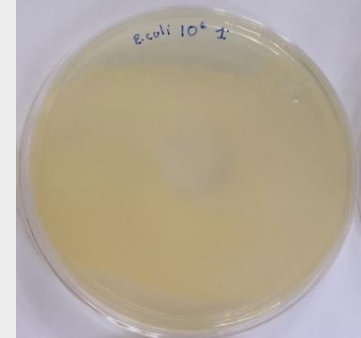
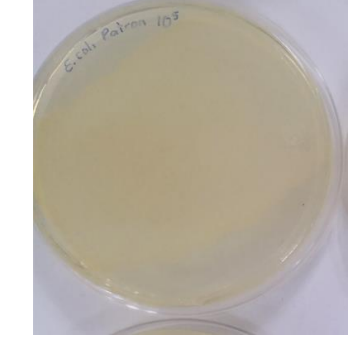
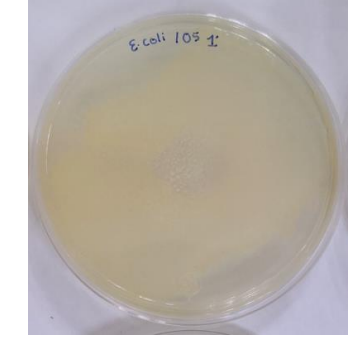

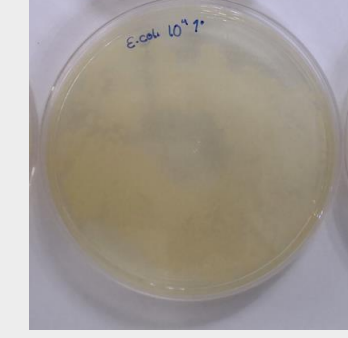
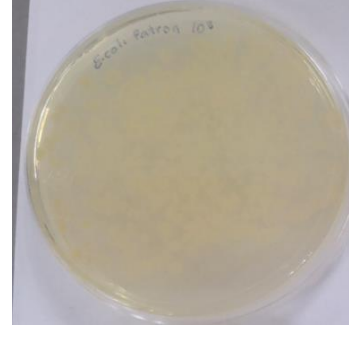
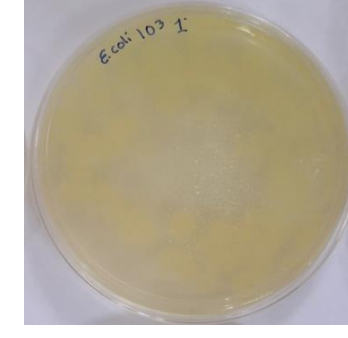
10 ⁵ bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁵ Patron".	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁵ 2".
10 ⁴ bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁴ Patron".	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁴ 2".
10 ³ bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ³ Patron".	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ³ 2".
10 ² bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ² Patron".	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. The lid is labeled "B. subtilis 10 ² 2".

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 3.13: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
10 ⁹ bacterias/ ml		
10 ⁸ bacterias/ ml		
10 ⁷ bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

<p>10^6 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10⁶ 1</p>	 <p>E. coli 10⁶ 2</p>
<p>10^5 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10⁵ 1</p>	 <p>E. coli 10⁵ 2</p>
<p>10^4 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10⁴ 1</p>	 <p>E. coli 10⁴ 2</p>
<p>10^3 bacterias/ ml</p>	 <p>E. coli 10³ 1</p>	 <p>E. coli 10³ 2</p>

**OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.**

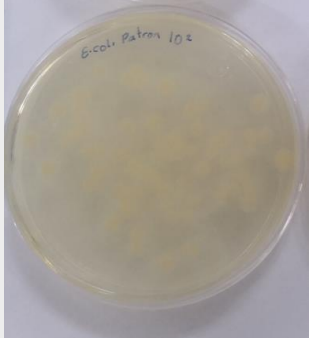
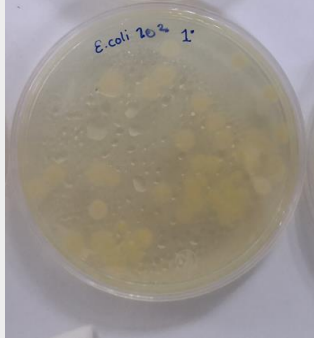

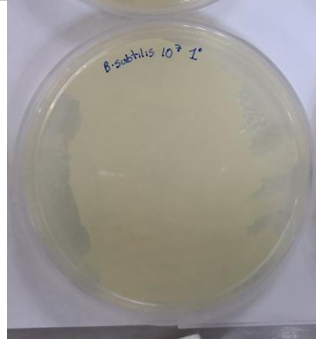
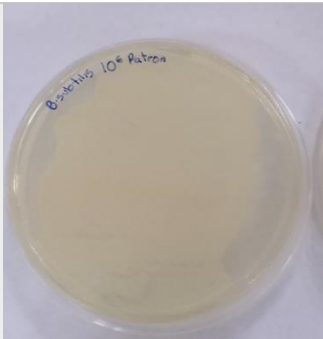
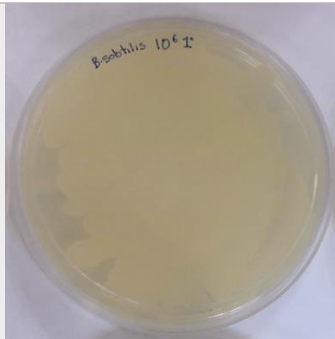
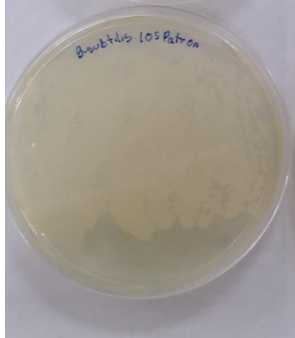
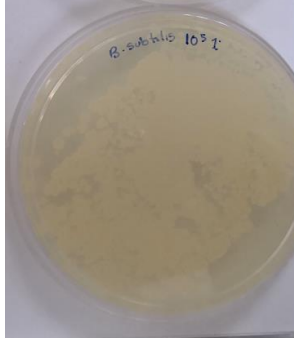



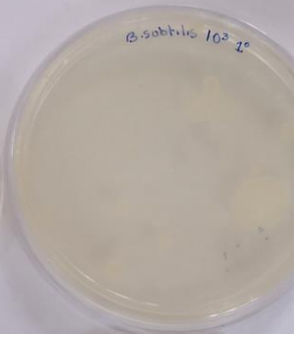

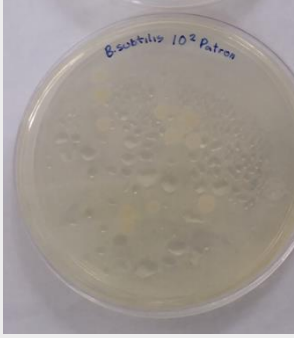
<p>10² bacterias/ ml</p>	 <p><i>E. coli Patron 10²</i></p>	 <p><i>E. coli 10² 1°</i></p>
-------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 3.14: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

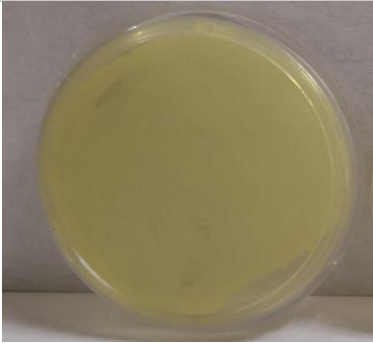
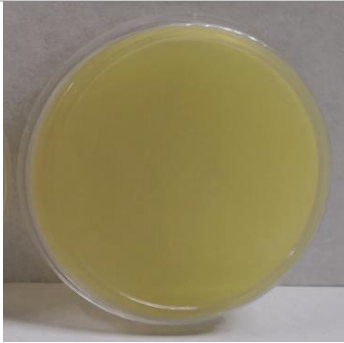
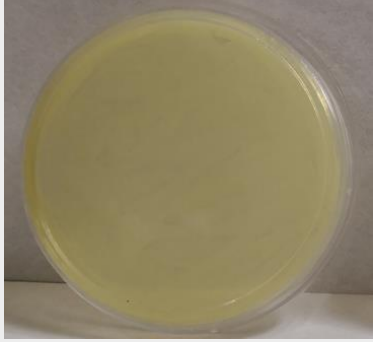
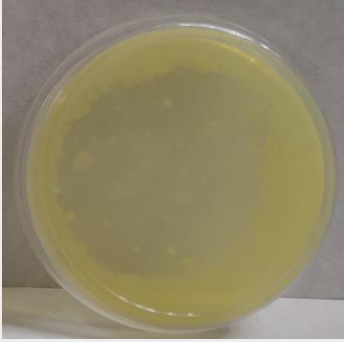
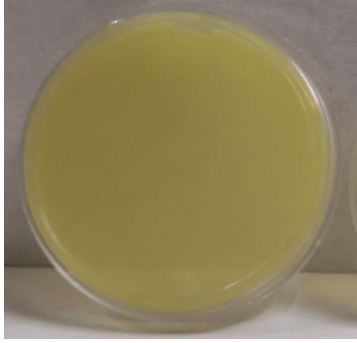
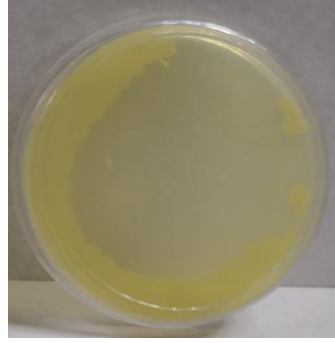
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>	 <p><i>B. subtilis 10⁷ Patron</i></p>	 <p><i>B. subtilis 10⁷ 1°</i></p>
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>	 <p><i>B. subtilis 10⁶ Patron</i></p>	 <p><i>B. subtilis 10⁶ 1°</i></p>

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

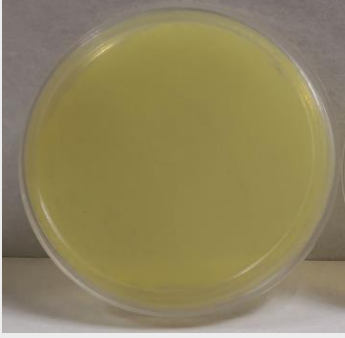
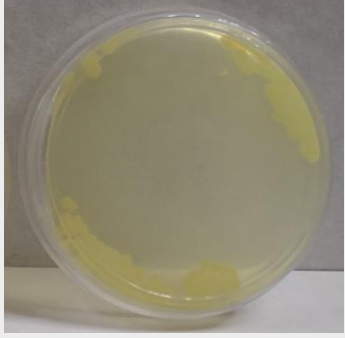
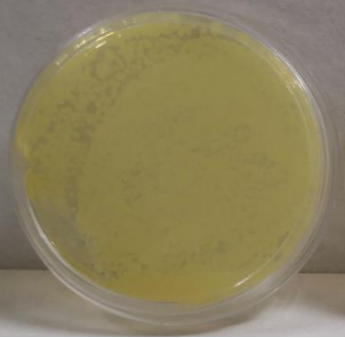
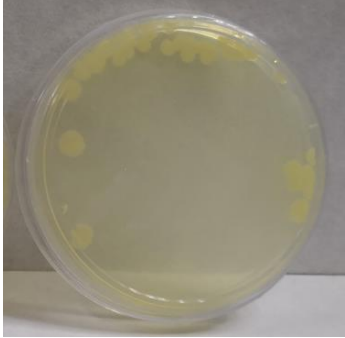
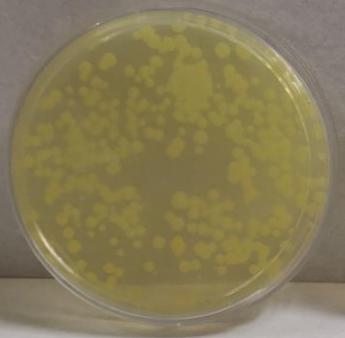
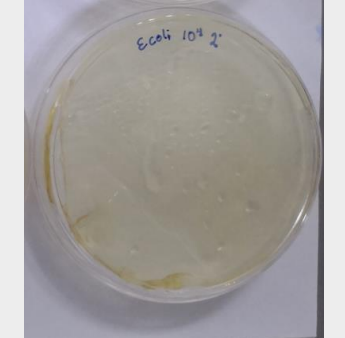
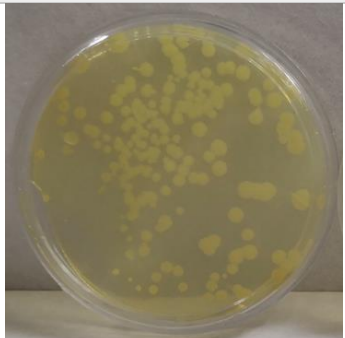
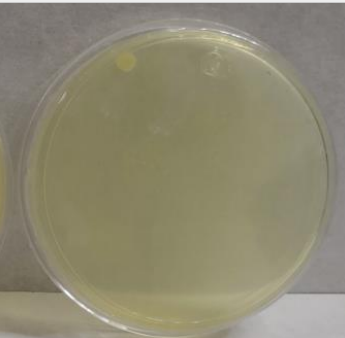
10 ⁵ bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁵ Patron". The medium shows some faint, irregular growth patterns.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁵ T". The medium shows some faint, irregular growth patterns.
10 ⁴ bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁴ Patron". The medium shows some faint, irregular growth patterns.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ⁴ T". The medium shows some faint, irregular growth patterns.
10 ³ bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ³ Patron". The medium shows some faint, irregular growth patterns.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ³ T". The medium shows some faint, irregular growth patterns.
10 ² bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ² Patron". The medium shows some faint, irregular growth patterns.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The lid is labeled "B. subtilis 10 ² Patron". The medium shows some faint, irregular growth patterns.

3.3.3 Tercera aplicación cuatro atomizaciones y en forma de aro de inhibición

Tabla 3.15: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cuatro atomizaciones) a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10 ⁹ bacterias/ ml		
10 ⁸ bacterias/ ml		
10 ⁷ bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

<p>10^6 bacterias/ ml</p>	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is smooth and uniform in color, indicating a control or untreated sample.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is mostly clear, with some faint yellowish spots visible, indicating partial inactivation of the bacteria.
<p>10^5 bacterias/ ml</p>	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is covered with a dense, fine-grained yellowish precipitate, indicating high bacterial concentration.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is mostly clear, with a few small, distinct yellowish spots, indicating significant inactivation.
<p>10^4 bacterias/ ml</p>	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is covered with numerous small, distinct yellowish spots, indicating a moderate bacterial concentration.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is mostly clear, with a few very small, faint yellowish spots. The dish has handwritten text "E.coli 10^4 2" in blue ink.
<p>10^3 bacterias/ ml</p>	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is covered with many small, distinct yellowish spots, indicating a low bacterial concentration.	 A petri dish containing a yellowish liquid medium. The surface is mostly clear, with a few very small, faint yellowish spots, indicating almost complete inactivation.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

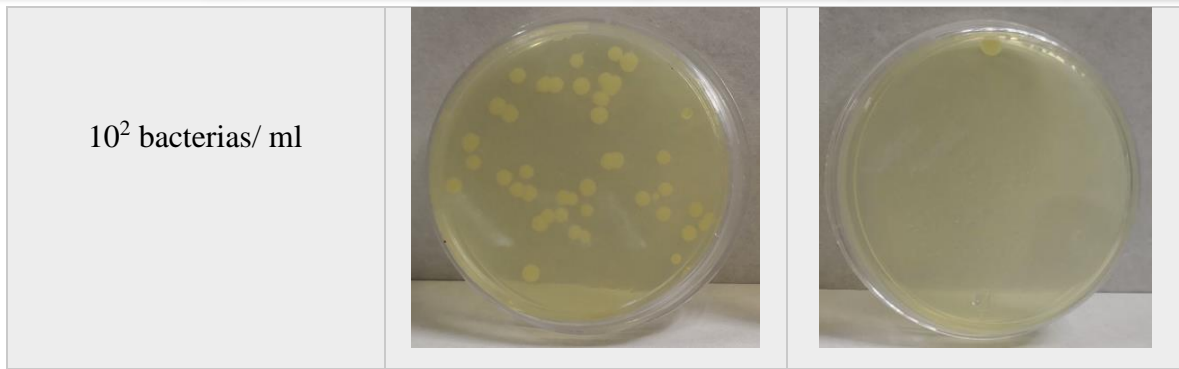
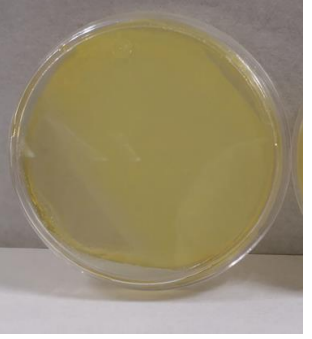
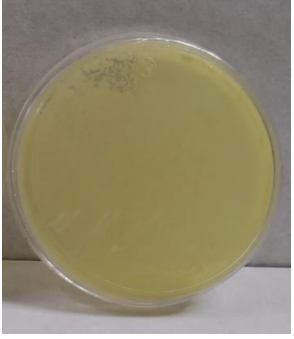
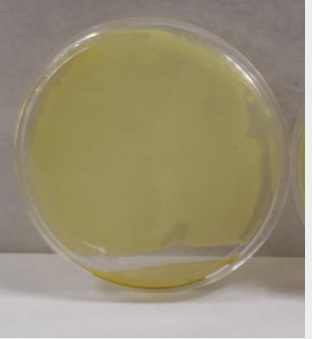
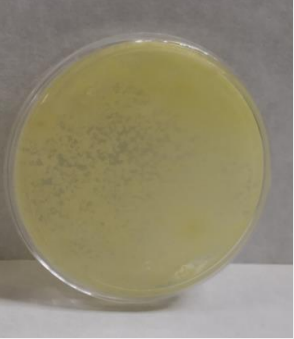
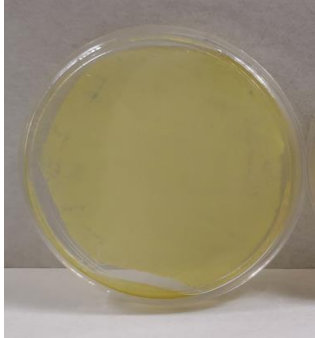
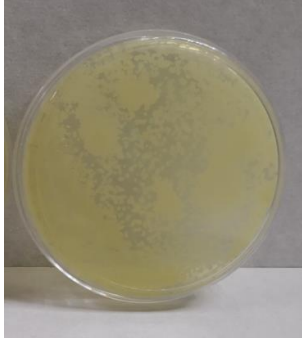
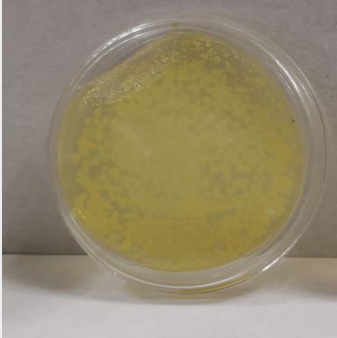
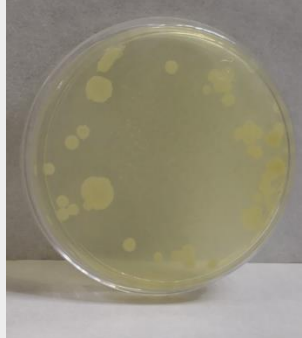
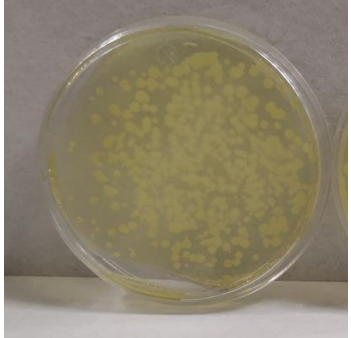
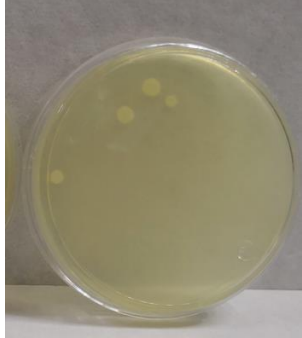
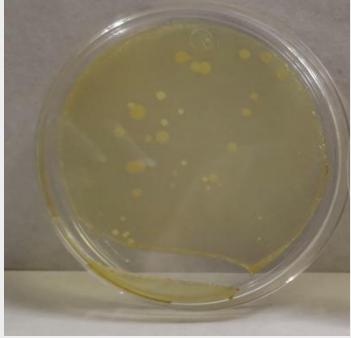
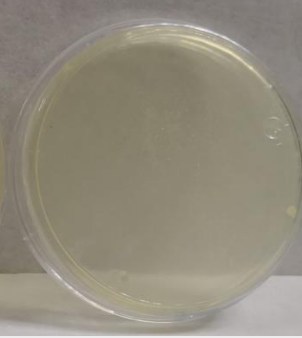


Tabla 3.16: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cuatro atomizaciones) a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

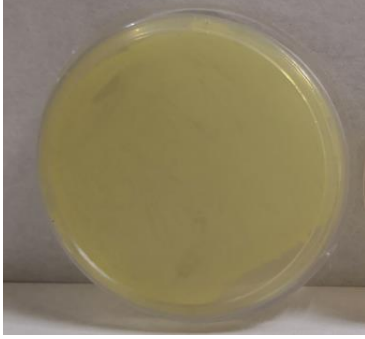
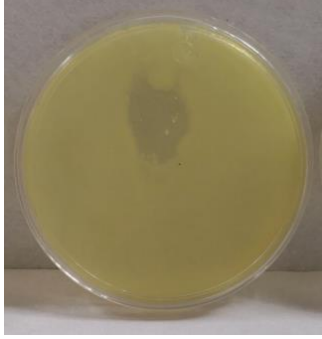
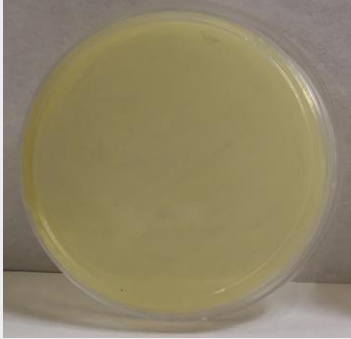
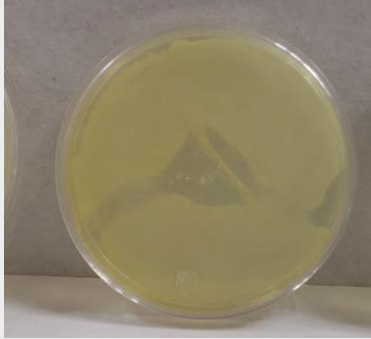
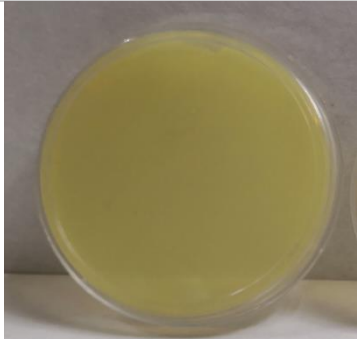
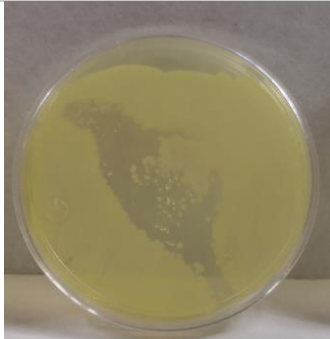
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

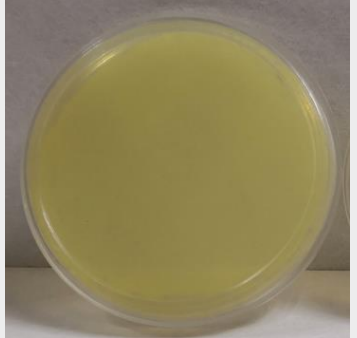
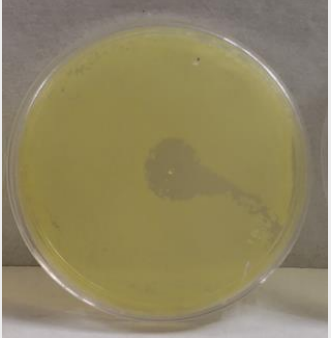
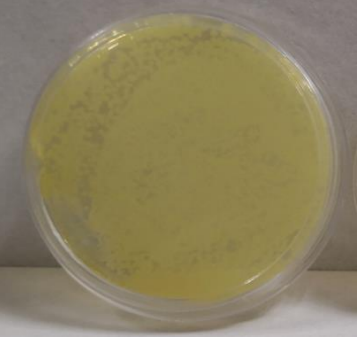
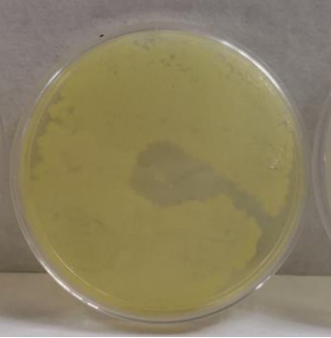
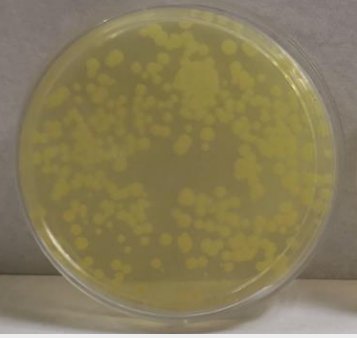
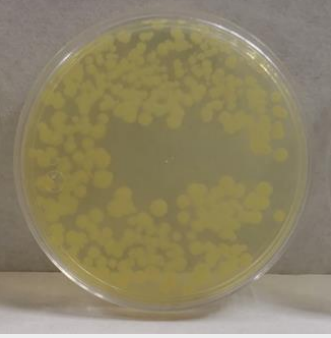
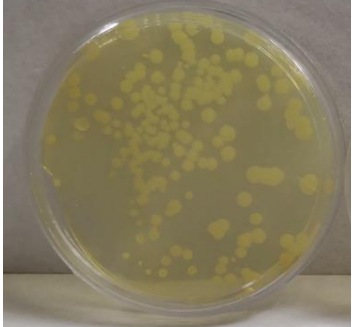
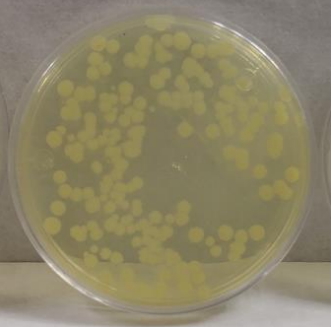
10 ⁵ bacterias/ ml		
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		
10 ² bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 3.17: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
10^9 bacterias/ ml		
10^8 bacterias/ ml		
10^7 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

10^6 bacterias/ ml		
10^5 bacterias/ ml		
10^4 bacterias/ ml		
10^3 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

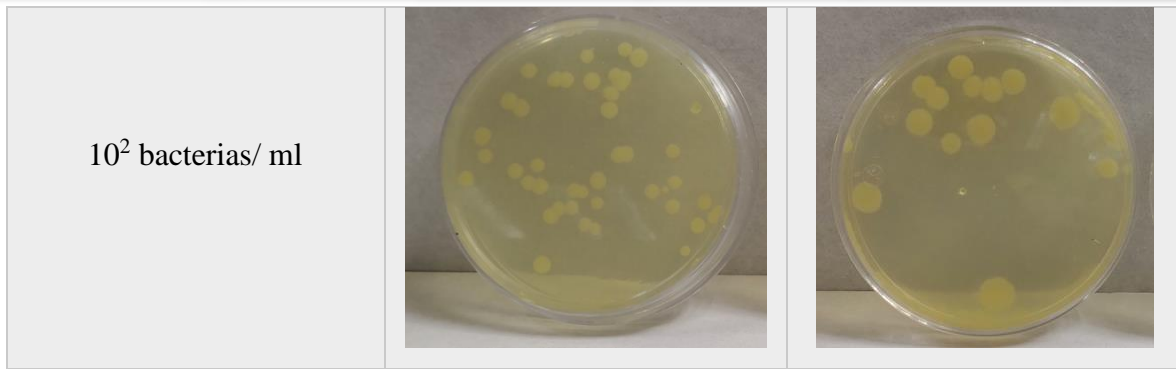
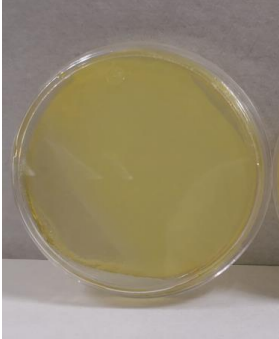
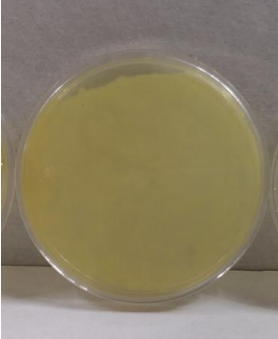
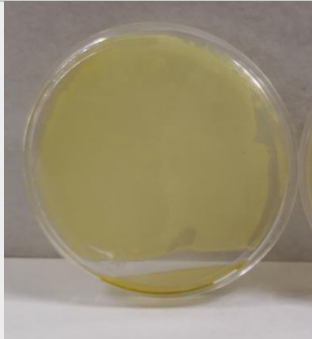
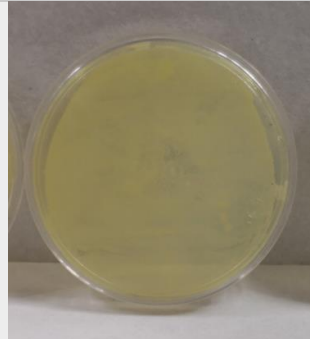
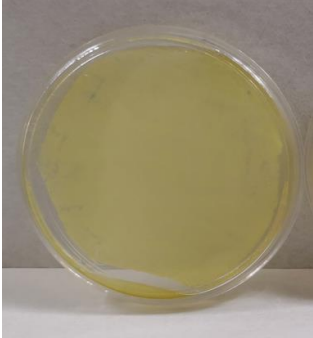
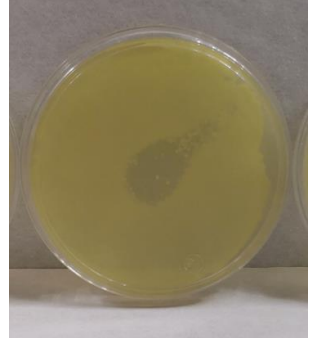
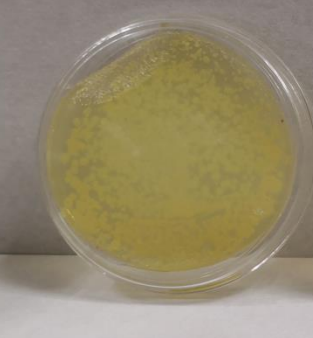
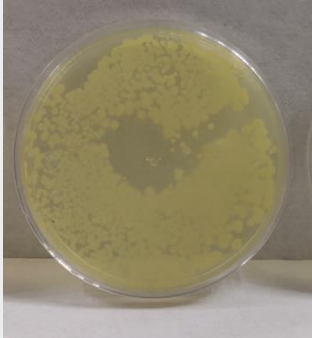
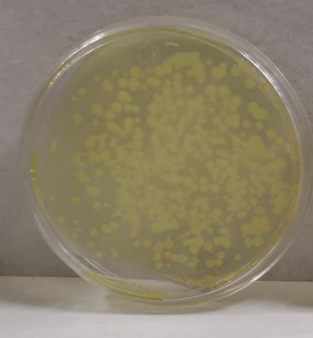
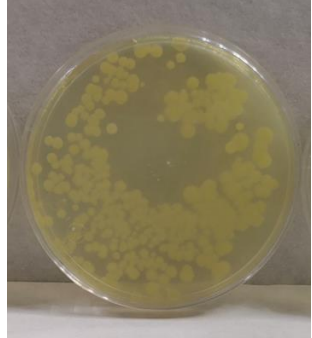
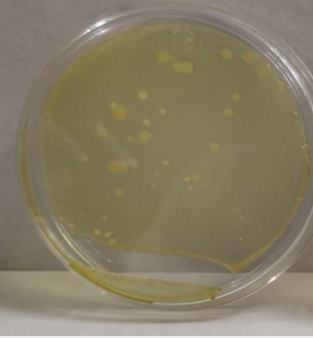
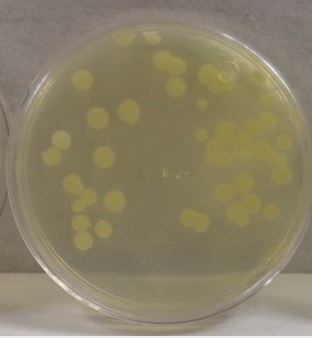


Tabla 3.18: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

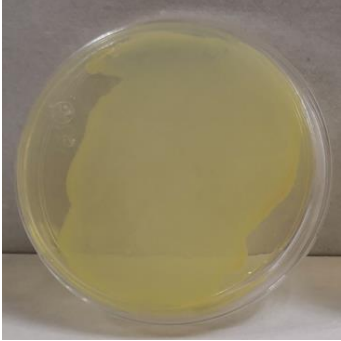
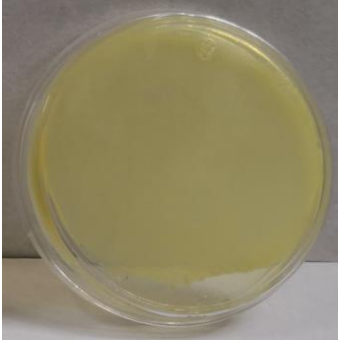
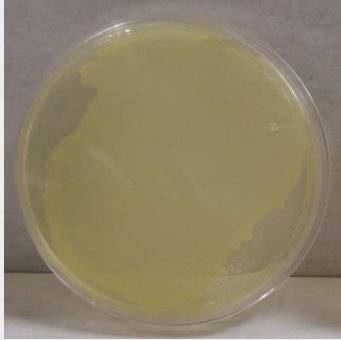
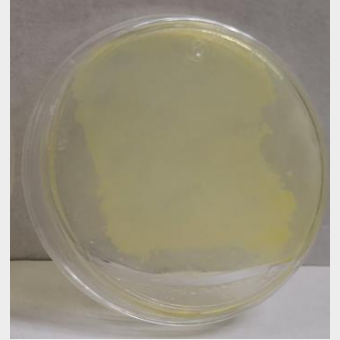
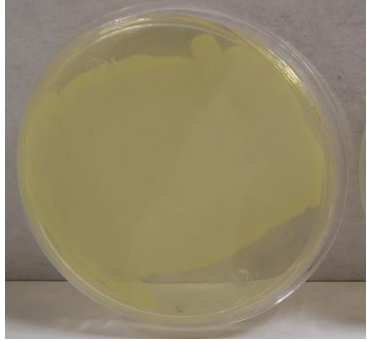
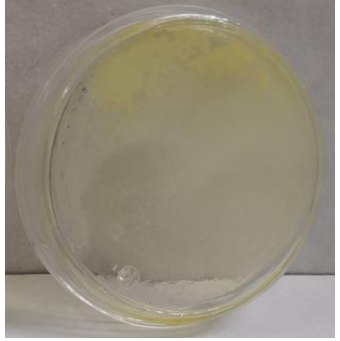
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

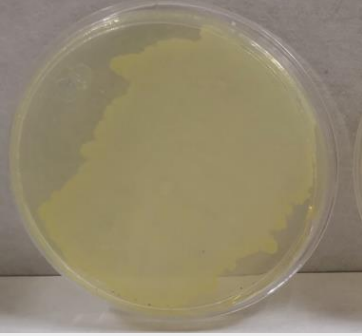
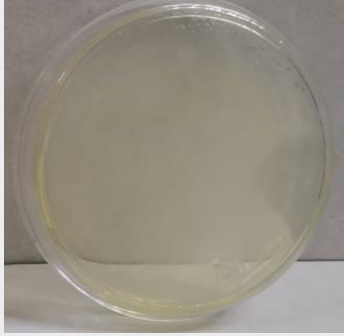
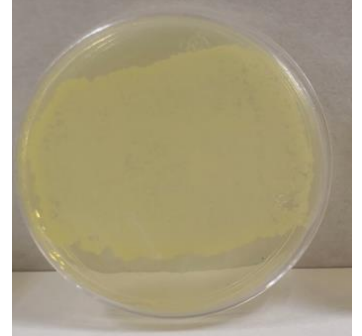
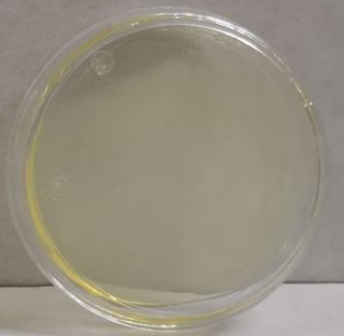
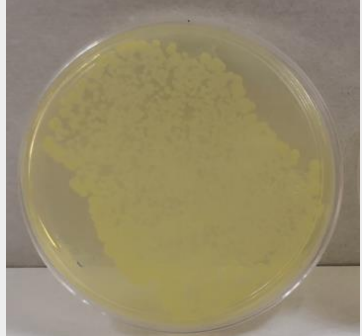
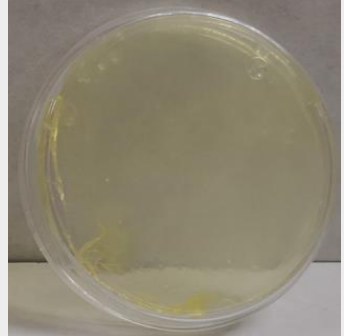
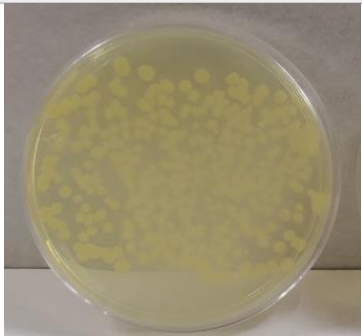
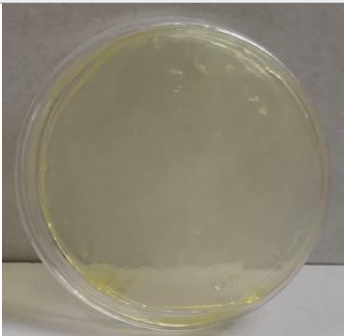
10 ⁵ bacterias/ ml		
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		
10 ² bacterias/ ml		

3.3.4 Cuarta aplicación cinco atomizaciones y en forma de aro de inhibición

Tabla 3.19: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cinco atomizaciones) a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10 ⁹ bacterias/ ml		
10 ⁸ bacterias/ ml		
10 ⁷ bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

10^6 bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish, opaque bacterial suspension.	 A petri dish containing a clear, colorless liquid, indicating complete inactivation of the bacteria.
10^5 bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish, opaque bacterial suspension.	 A petri dish containing a clear, colorless liquid, indicating complete inactivation of the bacteria.
10^4 bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish, opaque bacterial suspension.	 A petri dish containing a clear, colorless liquid, indicating complete inactivation of the bacteria.
10^3 bacterias/ ml	 A petri dish containing a yellowish, opaque bacterial suspension.	 A petri dish containing a clear, colorless liquid, indicating complete inactivation of the bacteria.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

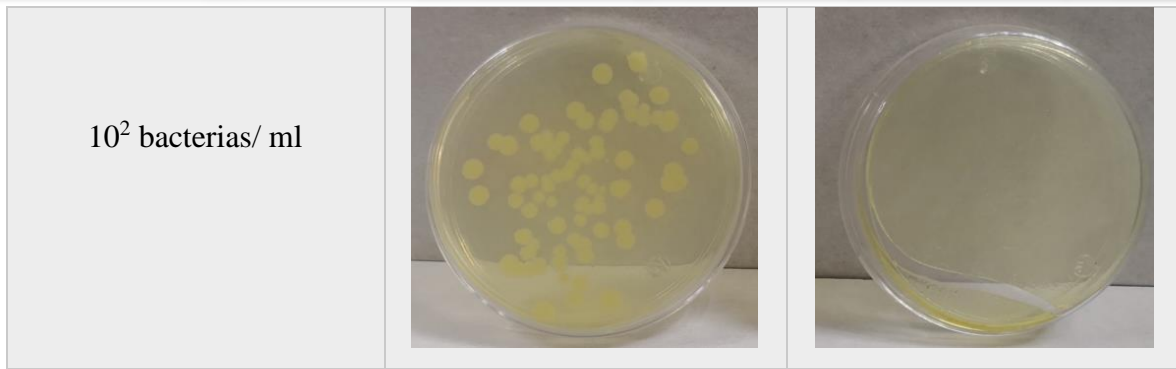
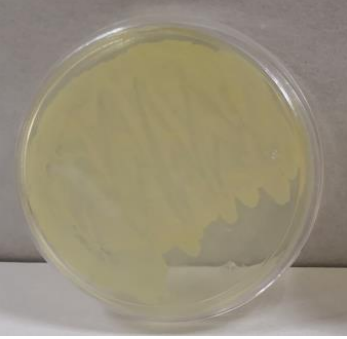
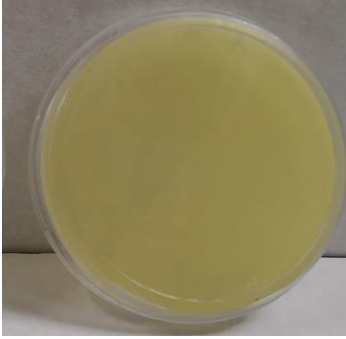
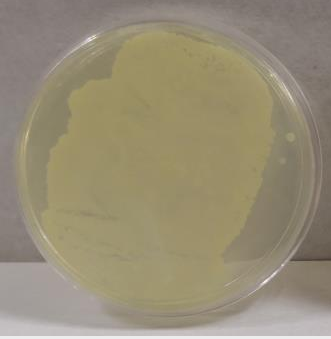
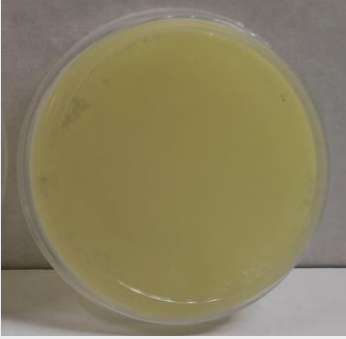
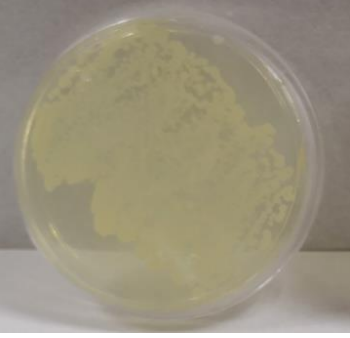
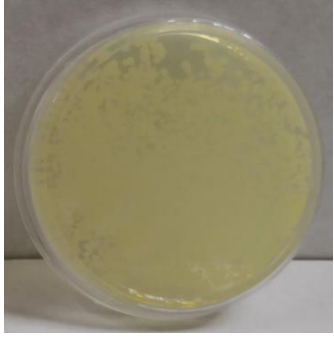
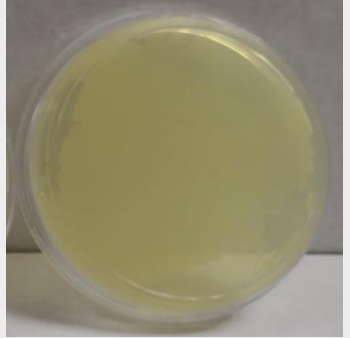
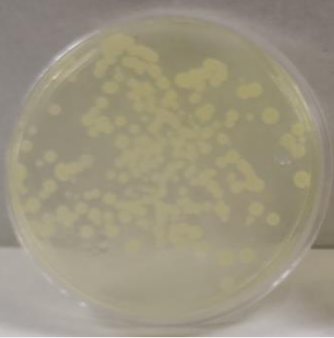

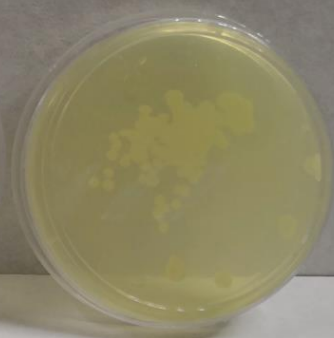
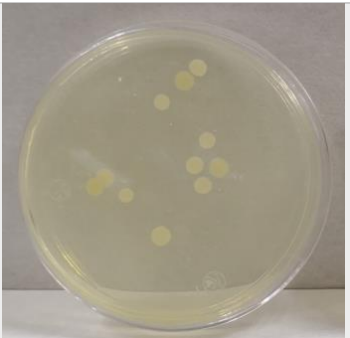
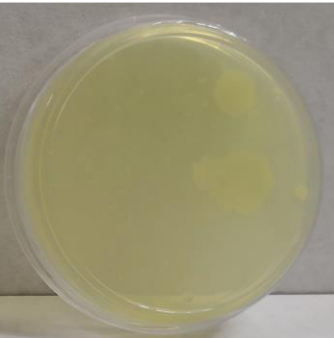


Tabla 3.20: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (cinco atomizaciones) a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

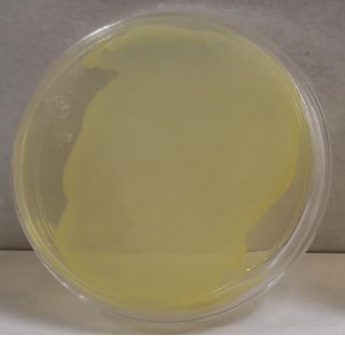
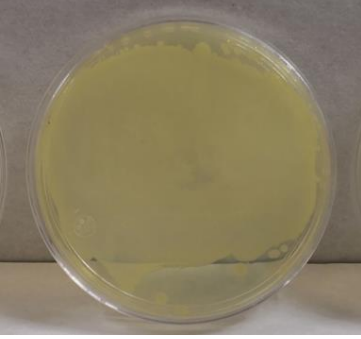
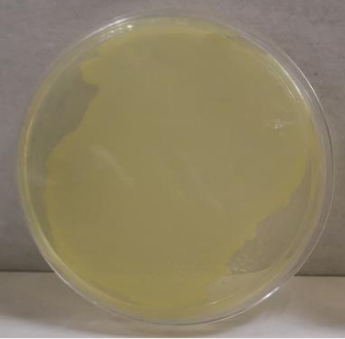
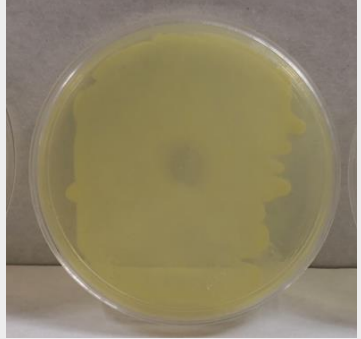
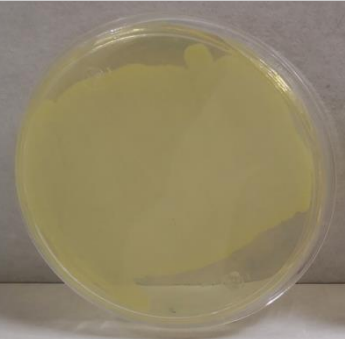
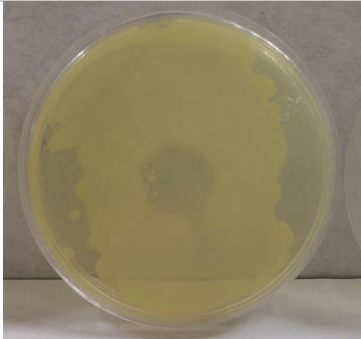
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

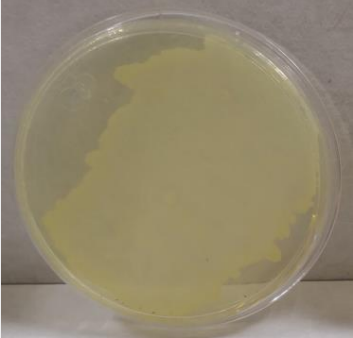
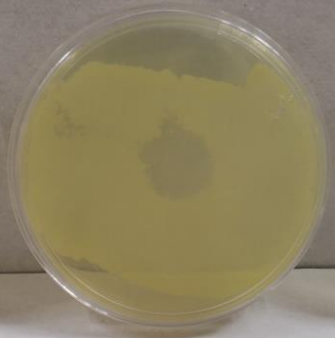
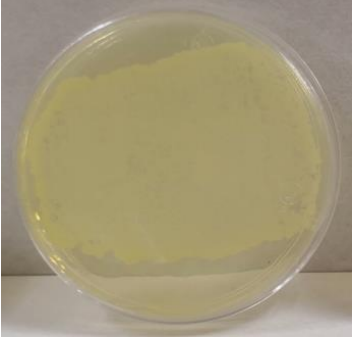
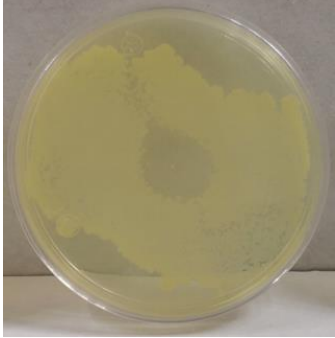
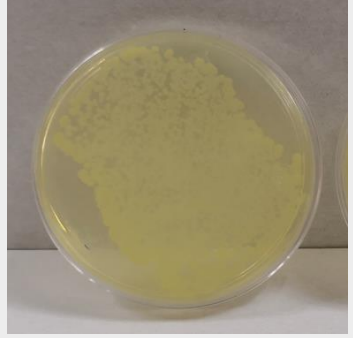
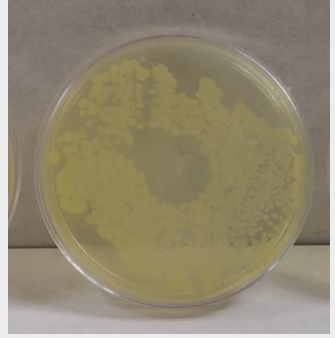
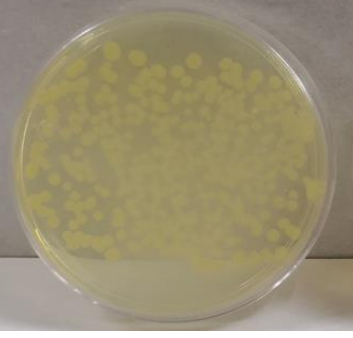
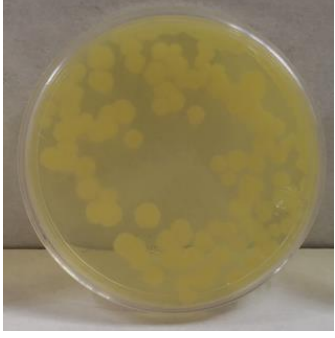
10^5 bacterias/ ml		
10^4 bacterias/ ml		
10^3 bacterias/ ml		
10^2 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 3.21: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
10^9 bacterias/ ml		
10^8 bacterias/ ml		
10^7 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

10^6 bacterias/ ml		
10^5 bacterias/ ml		
10^4 bacterias/ ml		
10^3 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

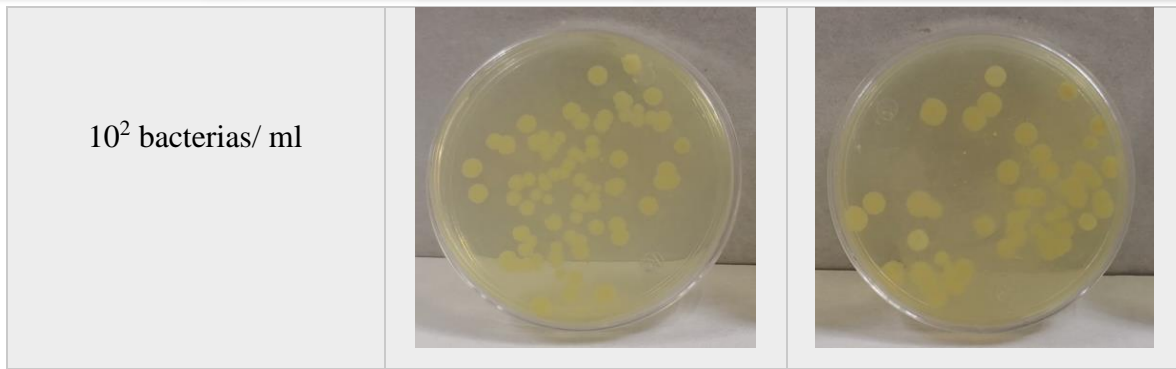
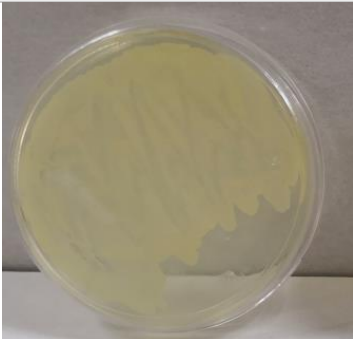
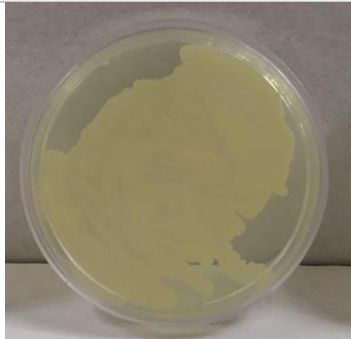
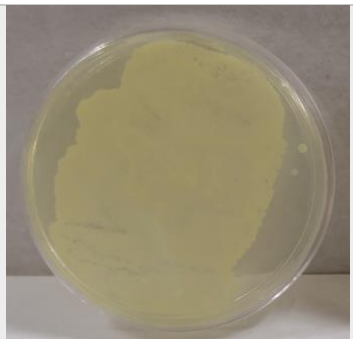
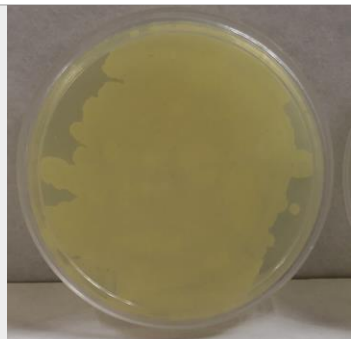
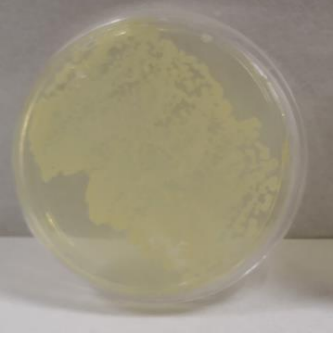
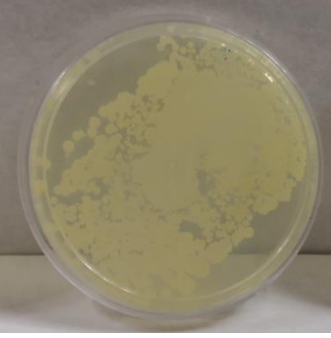
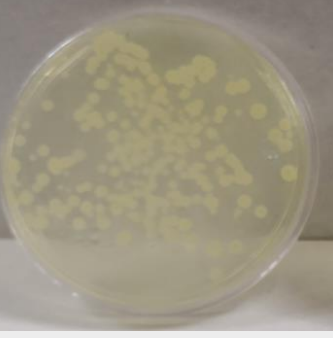
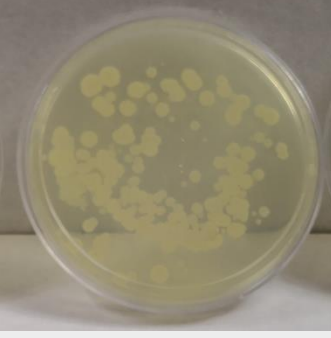

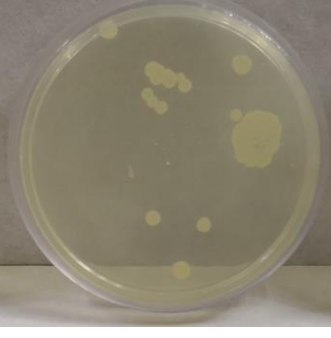




Tabla 3.22: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

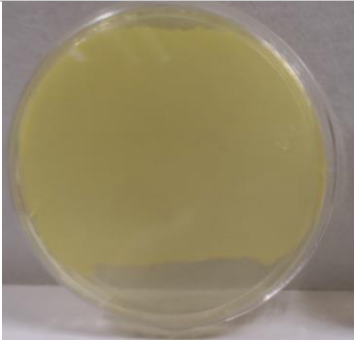
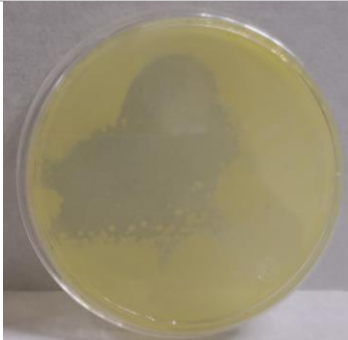
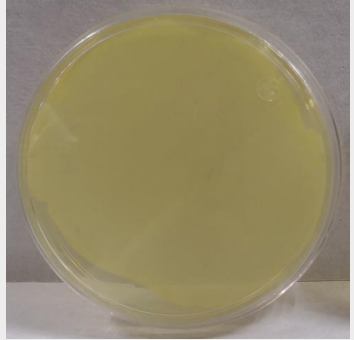
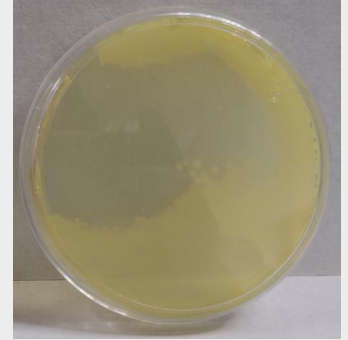
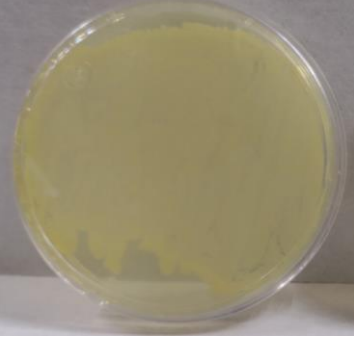
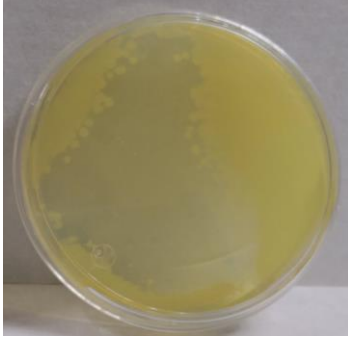
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

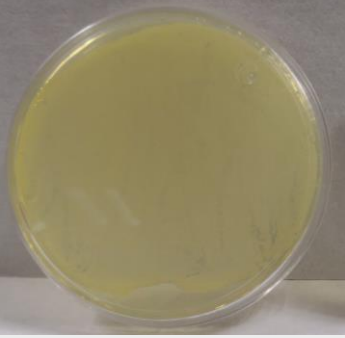
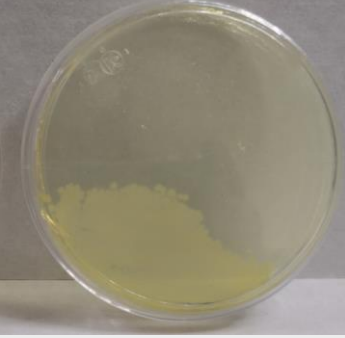
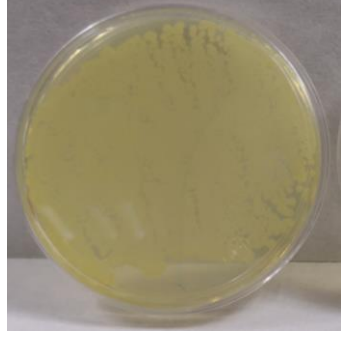
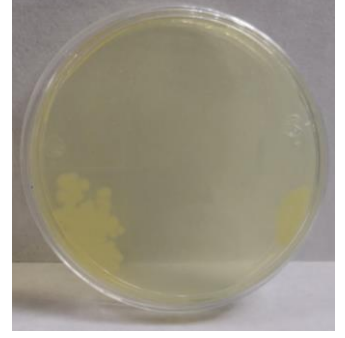
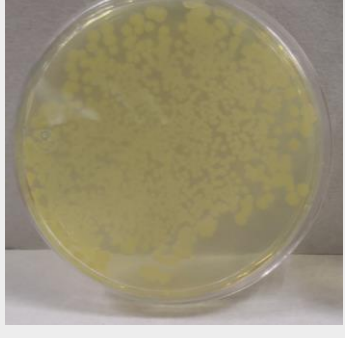
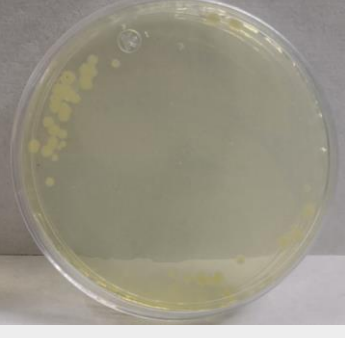
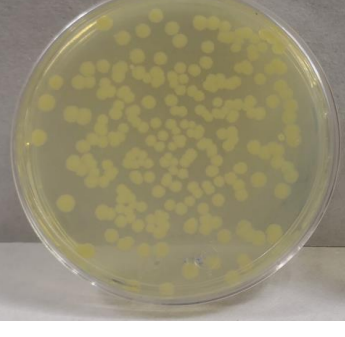
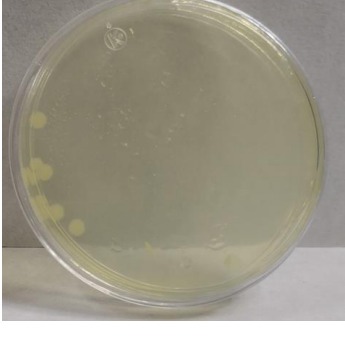
10 ⁵ bacterias/ ml		
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		
10 ² bacterias/ ml		

3.3.5 Quinta aplicación seis atomizaciones y en forma de aro de inhibición

Tabla 3.23: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (seis atomizaciones) a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
10 ⁹ bacterias/ ml		
10 ⁸ bacterias/ ml		
10 ⁷ bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

10^6 bacterias/ ml		
10^5 bacterias/ ml		
10^4 bacterias/ ml		
10^3 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

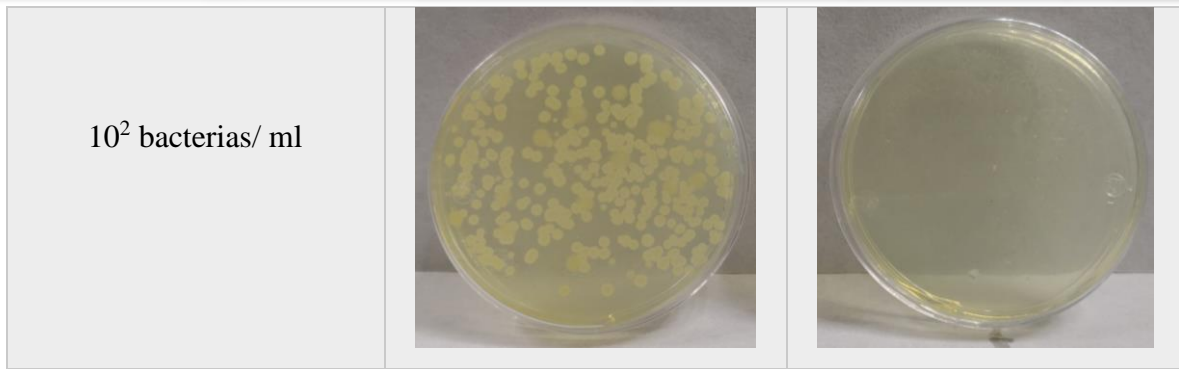
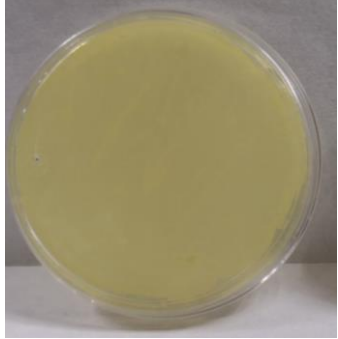
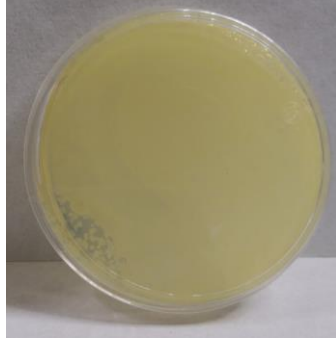
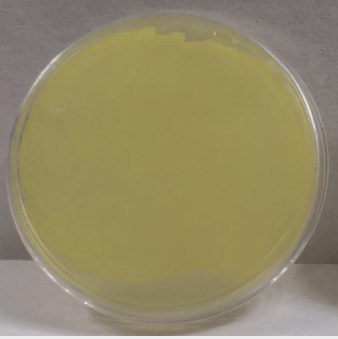
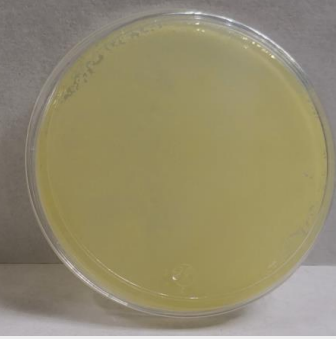
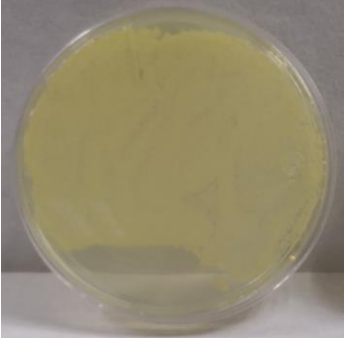
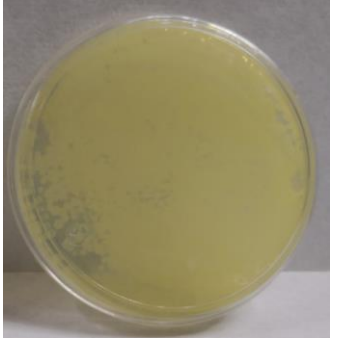
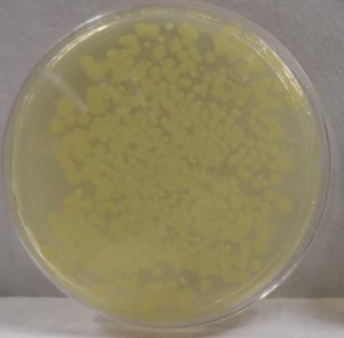
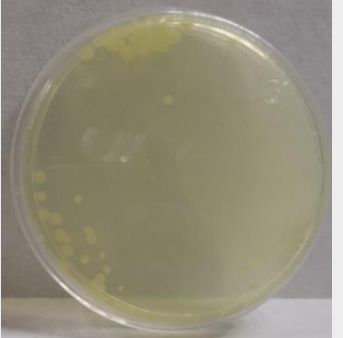
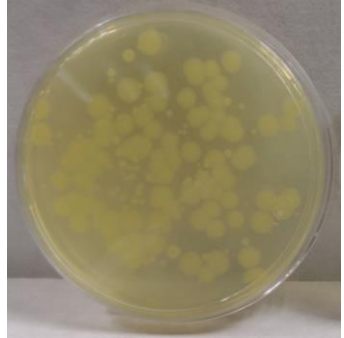
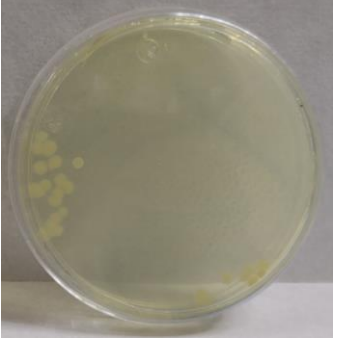
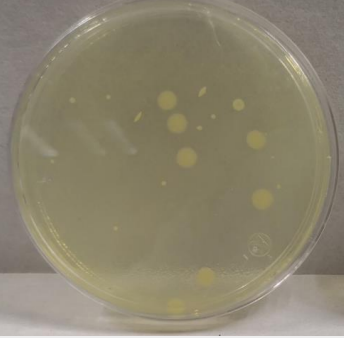
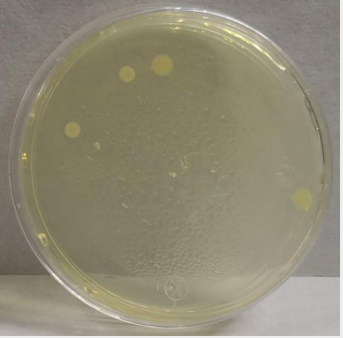


Tabla 3.24: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en aerosol (seis atomizaciones) a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

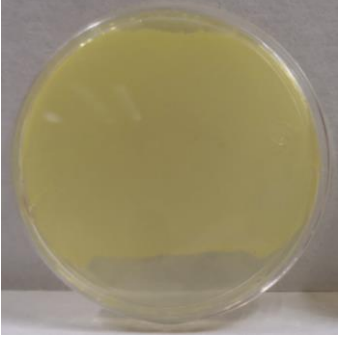
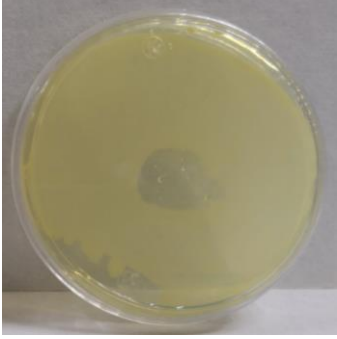
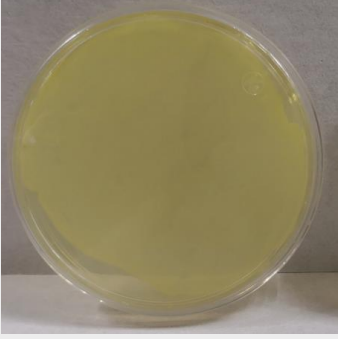
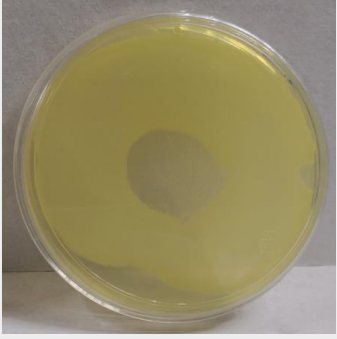
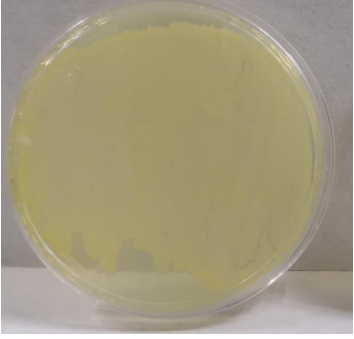
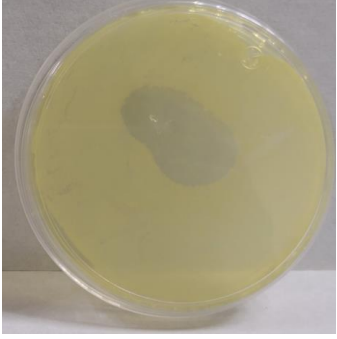
<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en aerosol
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

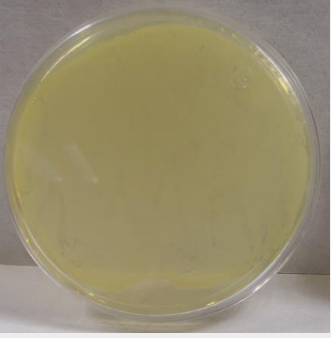
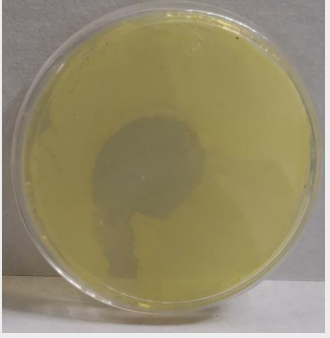
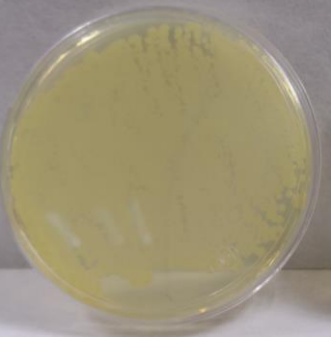
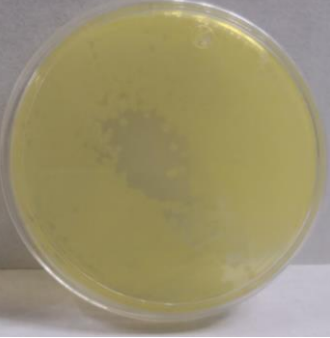
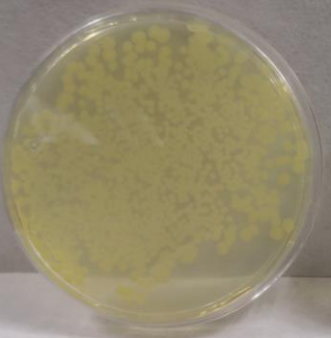
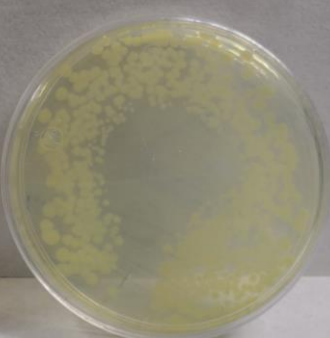
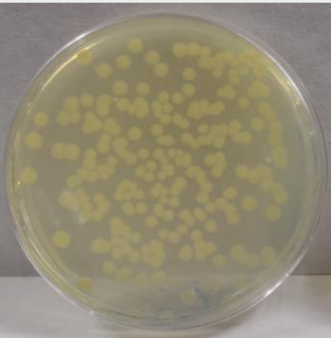
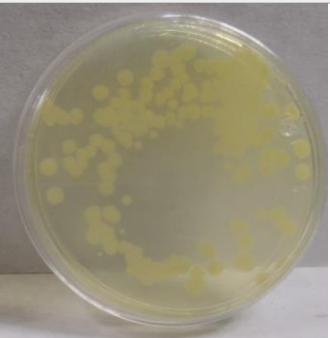
10 ⁵ bacterias/ ml		
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		
10 ² bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Tabla 3.25: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *E. coli* después de 24 horas en incubación.

<i>E. coli</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
10^9 bacterias/ ml		
10^8 bacterias/ ml		
10^7 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

10^6 bacterias/ ml		
10^5 bacterias/ ml		
10^4 bacterias/ ml		
10^3 bacterias/ ml		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

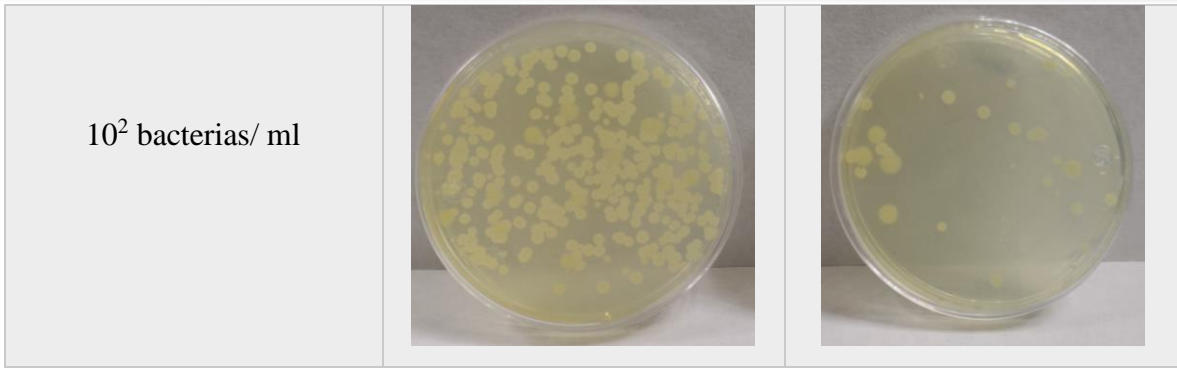
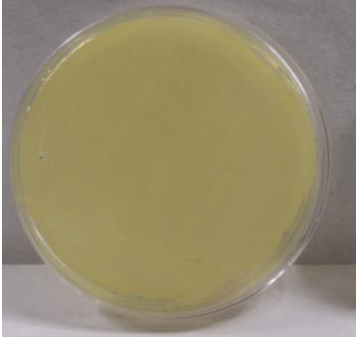
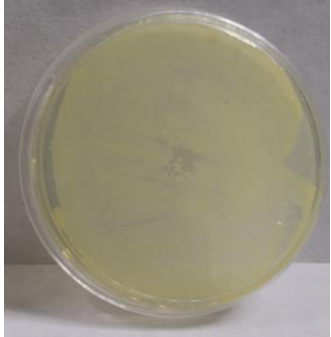
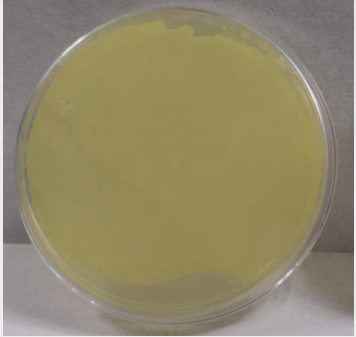
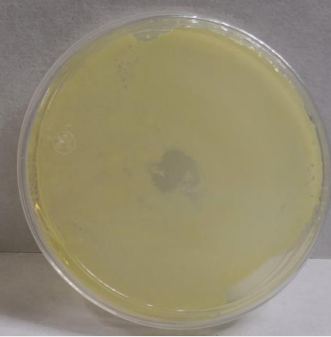
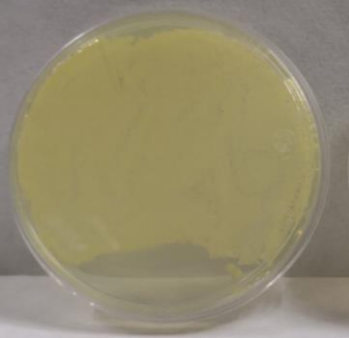
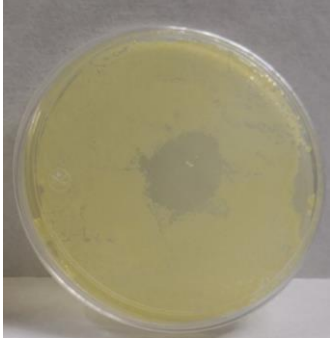
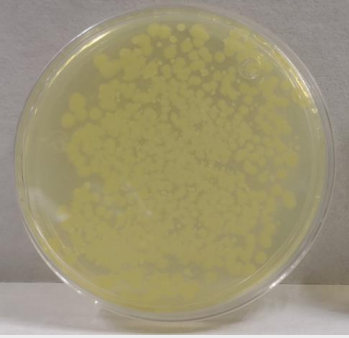
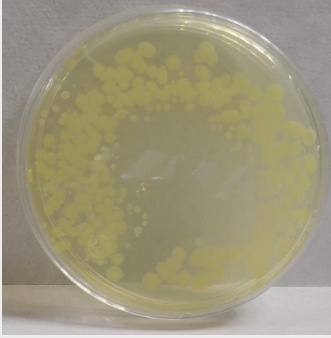
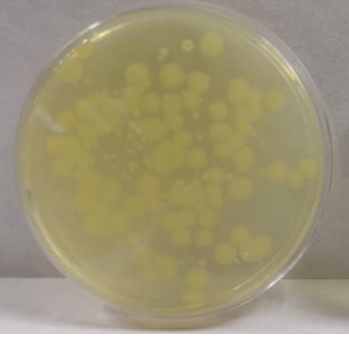
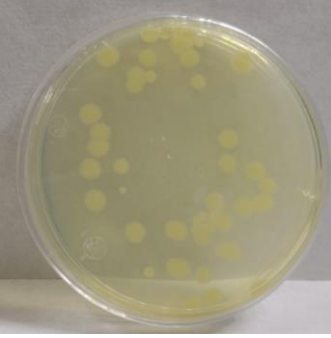
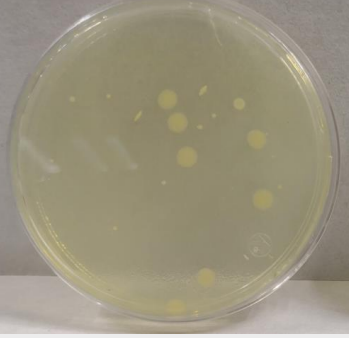
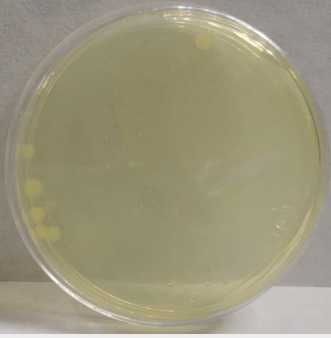


Tabla 3.26: Resultados aplicación de solución sanitizante con poliacrilato de sodio en forma de aro de inhibición a bacteria *B. subtilis* después de 24 horas en incubación.

<i>B. subtilis</i>		
Concentración	Muestra patrón	Muestra con adición de solución en forma de aro de inhibición
<p>10⁷ bacterias/ ml</p>		
<p>10⁶ bacterias/ ml</p>		

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

10 ⁵ bacterias/ ml		
10 ⁴ bacterias/ ml		
10 ³ bacterias/ ml		
10 ² bacterias/ ml		

3.4 Aplicación en diferentes superficies (monedas, billetes, cepillo dental, pantalla de teléfonos)

Al concluir la aplicación de la solución sanitizante en las cajas Petri con las diferentes soluciones sucesivas se hizo la aplicación de la solución sanitizante en diferentes superficies, que fueron monedas, billetes, cepillos dentales y pantallas de teléfonos, que son de los objetos que diariamente estamos en contacto con ellos y que son los objetos que acumulan gran cantidad de bacterias provocando diferentes enfermedades se observó que la solución sanitizante no provocó ningún cambio en sus propiedades físicas ni químicas de los objetos y superficies en las que se aplicó.

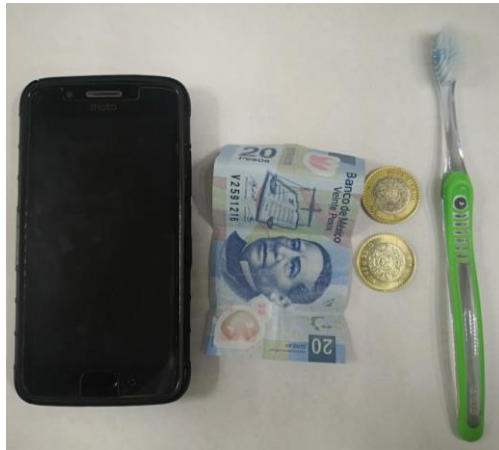


Figura 3.7: Tipos de superficies con bacterias.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.



a)



b)



c)



d)

Figura 3.8: Aplicación de solución sanitizante a) cepillo dental, b) teléfono, c) monedas, d) billetes

Conclusiones

La solución sanitizante empleada en la experimentación realizada es de relevancia ya que como se puede observar todas las personas estamos expuestas a bacterias sin ser conscientes de ellas ya que en simples objetos que utilizamos diariamente como lo son el dinero, teléfonos y tabletas e incluso los cepillos de dientes que usamos para nuestra propia higiene pueden contener diversos microorganismos que pueden llegar a causar numerosos problemas a la salud. En los últimos años y debido a la situación actual que se vive por la pandemia, el tema de la limpieza de superficies y la higiene personal ha tomado mucha relevancia, ya que se volvió indispensable esta actividad. Como resultado de esta situación muchas marcas comerciales se vieron en la necesidad, de generar productos que garanticen la desinfección de superficies y promover el uso de desinfectante para asegurar la sanitización de los hogares de cada persona o de espacios públicos. Por lo tanto, se comenzó a utilizar diversas soluciones sanitizantes, en su mayoría que contiene alcohol o cloro para la desinfección ya sea de objetos o superficies; al ser estos los dos desinfectantes más usados y comercializados, se experimentó y comprobó el uso de los POA para la realización que la solución sanitizante realizada en el laboratorio.

La solución sanitizante derivada de los POA, específicamente la reacción involucrada de ozono O_3 y peróxido de hidrogeno H_2O_2 , en agua, genera la cantidad suficiente de especies químicas como el radical $\bullet OH$, la propia difusión del O_3 y H_2O_2 en el agua, que al ser absorbidas en el poliacrilato de sodio se dosifican con respecto al tiempo, logrando inactivar a la bacteria *E. coli* y *B. subtilis*, comprobando que los resultados mostrados en esta investigación son satisfactorios, debido a que se inactivan concentraciones elevadas de bacterias, aproximadamente de 10^9 bacterias/ml para el caso de *E. coli* y para *B. subtilis* 10^6 bacterias/ml. Además, las superficies comunes tienen una menor concentración biológica, por lo tanto con esta solución sanitizante compuesta por 400 μ l de H_2O_2 , 0.25g de poliacrilato de sodio, 100 ml de H_2O y 20 minutos de O_3 , se asegura la inactivación total de las bacterias en superficies.

Se realizaron 26 experimentos, lo cual demuestra evidencia científica suficiente para comprobar que el tiempo de vida de la solución para esta investigación es de 37 días y

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

asimismo la solución no es toxica al ponerse en contacto con superficies, ya que después de aplicarla en las cajas Petri, se aplicó a diferentes superficies (cepillo dental, teléfono, monedas y billetes y también se aplicó al mobiliario de un laboratorio) para su sanitización, realizando su función de limpieza y desinfección de superficies.

Bibliografía

Abdel-Mawgoud, A.M., Aboulwafa, M.M., Hassouna, N.A.H (2008) Optimization of surfactin production by *Bacillus subtilis* isolate BS5. *Appl Biotechnol* 150, 305-325.

Álvarez, L., Estrán, L., Gatto, A., Moyano, F. (2019) Un polímero superabsorbente: poliacrilato de sodio

Aydogan, A., y Gurol, M. (2006). Application of Gaseous Ozone for Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores. *Air & Waste Management Association* (2012) 179-185. doi: <https://doi.org/10.1080/10473289.2006.10464443>

Baig, S., Liechti, P.A. (2001). Ozone treatment for biorefractory COD removal. *Wat. Sci. Technol.*, Vol. 43. No. 2, 197-204.

Cappuccino, J., Sherman, N. (1992). *Microbiology. A Laboratory Manual*. Ed. 3ra Benjamin Cummings Publishing Co. Inc. U.S.A.

Carbajal, A., Gonzales, M. (2012). Propiedades y funciones biológicas del agua. *Agua para la salud: pasado, presente y futuro*. pp. 33-35.

Davis., G.M., Magee, C.D., Stein, R.M., Adams, C.E. (1976). Ozonation of wastewater from organic chemical manufacture. *Proc. Sec. Intl. Symp. On Ozone Technology*. 675-683.

Facile, N., Barbeau, B., Prevost, M., y Koudjonou, B. (2000). Evaluating bacterial aerobic spores as a surrogate for *Giardia* and *Cryptosporidium* inactivation by ozone. *Water Research*, 34(12), 3238–3246. doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00086-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00086-5)

Fan, X., Sokorai, K., y Gurtler, J. (2020). Advanced oxidation process for the inactivation of *Salmonella typhimurium* on tomatoes by combination of gaseous ozone and aerosolized hydrogen peroxide. *International Journal of Food Microbiology* 312 (2020) 108387, 1-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108387>

FUDSA. (2004). El agua: Recurso natural. México, DF.

Goldblatt, J., et al. "Use of Cellular Telephones and Transmission of Pathogens by Medical Staff in New York and Israel". Infection control and hospital epidemiology. April (2007). Vol. 28. No. 4. 500-503.

Gordon, F., Wang, Y., y Beverly, U. (2014). INACTIVATION OF ESCHERICHIA COLI USING OZONE AND OZONE - HYDROGEN PEROXIDE. Environmental Technology. Vol.13 (2014) 571-578. doi: <https://doi.org/10.1080/09593339209385185>

Hai, F., Yamamoto, K. Fukushi, K. (2007). "Hybrid Treatment Systems for Dye Wastewater, Critical Reviews". Environmental Science and Technology, 37(4): 315-377.

Hernández, E. (2010). Importancia del agua para los seres vivos. 9-6.

Hicks, G. (1960). Bombas su selección y aplicación. México, D.F. CECSA.

Huang, C.P., Dong, Ch., Tang, Z. (1993) Advanced Photochemical Oxidation Processes. Waste Management, 361-377.

Hunt, N., y Mariñas, B. (1997). Kinetics of Escherichia coli inactivation with ozone. Water Research, 31(6), 1355–1362. doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)003946](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)003946)

Khadre, M., y Yousef, A. (2001). Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. International Journal of Food Microbiology (2001) 71(2-3), 131–138. doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00561-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00561-X)

Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., Winn, W. (1997) *Enterobacteriaceae*. Capítulo III. Diagnóstico microbiológico. 3er Ed. Argentina: Editorial Panamericana, 203-267.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Koneman, E., Allen, S. (2008). Diagnostico microbiológico. Ed. Panamericana. 6ta edición. Buenos Aires, Argentina. pp. 326.

Legrini, O., Oliveros, E., Braun, A.M. (1993). Photochemical Processes for Water Treatment. Chem. Rev. 671-698.

Levenspiel, O. (2004). *Ingeniería de las reacciones químicas*. México: LIMUSA S.A.

Mohammad, Z., Kalbasi-Ashtari, A., Riskowski, G., Juneja, V., y Castillo, A. (2020). Inactivation of Salmonella and Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) from the surface of alfalfa seeds and sprouts by combined antimicrobial treatments using ozone and electrolyzed water. Food Research International, 136, 109488. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109488>

Pelczar, M., Chan, E., Krieg, N. (1993). Microbiology concepts and application. Mc Graw Hill.

Rico, A., Pérez, R., Cartellanos, M.J. (2008). Química I (oxígeno e hidrógeno) 3ra. Ed. Direccion General del Colegio de Ciencias y humanidades. México, DF. pp. 96.

Rodriguez, F.J (2003). Procesos de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización. Ed. Díaz de Santos. Madrid España. 13-15.

Romeo, R., Herrera, I.F. (2002). Síndrome diarreico infeccioso. Ed. Panamericana. Madrid España. 95-97.

Sanz, J., Lombraña J.I. de Luis A. (2013) Estado del arte en la oxidación avanzada a efluentes industriales: nuevos desarrollo y futuras tendencias. Afinidad LXX, 561: 25-33.

OZONO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA PARA LA
INACTIVACIÓN DE BACTERIAS EN CAJAS PETRI.

Sharma, M., y Hudson, J. (2008). Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. *American Journal of Infection Control*, 36(8), 559–563. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2007.10.021>

US/EPA (1998) Handbook of Advanced Photochemical Oxidation Processes, Epa/625/R-98/004.

Viejo, M. (1977). *Bombas: teoría, diseño y aplicación*. México, D.F. Limusa.

Weber, W.J. (2003). *Control de la calidad de agua, procesos fisicoquímicos*. Ed.Reverte. Barcelona España. pp. 466.

Xiao, X., Chen, H et al (2007). Impact of *Bacillus subtilis* JA, A biocontrol strain of fungal plant pathogens, on arbuscular mycorrhiza formation in *Zea mays*. *World J Microbiol Biotechnol*. DOI: 10.1007/s112774-007-9584-3