

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

Evaluación de la capacidad de compuestos peróxidos para incrementar el oxígeno disuelto y su influencia en cepas de microalgas y bacterias.

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Acuícola

Presentado por:

Jaritza Jamileth Sabando Estrella

Lisette Aracelly Zavala Brito

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2022

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

College of Maritime Engineering and Sea Science

Evaluation of the capacity of peroxide compounds to increase dissolved oxygen and its influence on strains of microalgae and probiotics.

CAPSTONE COURSE

Prior to receiving the degree of:

Aquaculture Engineer

Presented by:

Jaritza Jamileth Sabando Estrella

Lisette Aracelly Zavala Brito

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2022

DEDICATORIA

A Dios, por darme fuerzas y sabiduría para guiarme por el camino correcto y no desmayar ante los problemas que se presentaban.

A mis padres Pedro Sabando y Leída Estrella, a mi hermano Jostin Sabando, y a toda mi familia por brindarme sus consejos, amor y comprensión.

A mis amigos que me regalaron su amistad y me permitieron ser parte de su vida durante la carrera universitaria.

A la ESPOL por siempre preocuparse por formar profesionales de excelencia.

Jaritzza Jamileth Sabando Estrella

DEDICATORIA

El presente proyecto se lo dedico:

A Dios por darme la fuerza y la constancia de cumplir una de las metas más importantes de mi vida, por ponerme en el camino a muchos ángeles que me ayudaron en el transcurso de mi vida universitaria.

A mis padres María Piedad Brito y Ángel Esteban Zabala Miranda quienes me dieron su apoyo incondicional, su comprensión e hicieron muchos esfuerzos para brindarme una buena educación.

A mis hermanos José Zabala Brito y Miguel Zabala Brito por ayudarme en mis estudios y por ser mi inspiración, por darme el buen ejemplo de seguir estudiando en la mejor universidad del País.

A mi esposo Jhony Chávez Ávila por su apoyo incondicional, por su confianza, por siempre estar motivándome a seguir adelante a pesar de las dificultades.

A mi hijo Joaquín Chávez Zavala, el tiempo de Dios es perfecto y mi hijo llegó en el mejor momento de mi vida es el pequeño gran motor de mi vida, mi familia fue el motivo de cumplir mi anhelado sueño. Los amo con todo mi ser.

A mis amigos Ruddy Moncayo Rea, Adriana Rivera Jaramillo, Cinthia Medina Abarca y Alejandro Paredes Elaje, por sus consejos, por brindarme su valiosa amistad, por estar en las situaciones difíciles de mi vida.

A la ESPOL por formarme con una educación de calidad para llegar a ser una gran profesional.

Lisette Aracelly Zavala Brito

AGRADECIMIENTOS

Nuestros sinceros agradecimientos a todos los docentes de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), quienes nos transmitieron sus conocimientos con su paciencia y dedicación. En especial a nuestro tutor PhD. Stanislaus Sonnenholzner, PhD. Marco Álvarez, PhD. Wilfrido Argüello; al personal de CENAIM que siempre estuvo presente apoyándonos en el desarrollo del presente estudio, MSc. Cecilia Tomalá, Blga. Yessenia Pozo, Lcda. Doris Reyes, Sr. Ivan Gonzabay y Sr. Francisco Apolinario.

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Jaritza Jamileth Sabando Estrella, Lissette Aracelly Zavala Brito* y damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”

J.J. Sabando

Jaritza Jamileth
Sabando Estrella

Lissette Zavala B.

Lissette Aracelly
Zavala Brito

EVALUADORES



Firmado electrónicamente por:
**STANISLAUS ALBERT
SONNENHOLZNER
SCHODL**

PhD. Stanislaus Sonnenholzner

TUTOR



Firmado electrónicamente por:
**WILFRIDO ERNESTO
ARGUELLO GUEVARA**

PhD. Wilfrido Argüello

PROFESOR DE LA MATERIA

RESUMEN

El oxígeno disuelto es el factor limitante en los cultivos acuícolas, debido a que es una variable que influye en el crecimiento y bienestar de los animales. En situaciones de emergencias es común utilizar compuestos químicos para incrementar los niveles de oxígeno disuelto, como los compuestos peróxidos de hidrógeno y peroxicarbonato de sodio, los cuales, son aplicados de acuerdo con las indicaciones del vendedor o con la experiencia que se gana día a día en el campo, sin embargo, no existe información técnica sobre los efectos colaterales que estos compuestos pueden ocasionar en el ecosistema acuícola. Por esta razón, el objetivo principal del presente estudio es determinar las dosis de los compuestos comerciales peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio que logren concentraciones de oxígeno disuelto y evaluar su influencia en cepas de microalgas *Chaetoceros gracilis* y bacterias. En este estudio se determinó que los compuestos efectivamente incrementan el oxígeno disuelto, y basado en los resultados obtenidos, el incremento se da en concentraciones muy elevadas, muy probablemente debido a que los productos han perdido efectividad con el tiempo o están diluidos. El peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio afectaron el crecimiento de las microalgas y mostraron destrucción de la estructura del fitoplancton, cuando se utilizaron concentraciones de 1 a 50 ppm. El peróxido de hidrógeno generó efecto bacteriostático sobre el *Vibrio* no patógeno utilizado, a una concentración 11 ppm, y efecto bactericida a 20 ppm. Mientras que, para los demás probióticos seleccionados, las concentraciones en las que generaban efectos negativos resultaron elevadas, las cuales no son utilizadas en campo, sin embargo, los datos permitirán al camaronero tomar decisiones sobre estas concentraciones y sus efectos en el ecosistema.

Palabras clave: bacteriostático, bactericida, peróxido, fitoplancton, concentración

ABSTRACT

*Dissolved oxygen is the limiting factor in aquaculture because it is a variable that influences the growth and welfare of animals. In emergency situations, it is common to use chemical compounds to increase dissolved oxygen levels, such as hydrogen peroxide and sodium peroxy carbonate compounds, which are applied according to the vendor's instructions or with the experience gained day by day. In the field, however, there is no technical information on the side effects that these compounds can cause in the aquaculture ecosystem. For this reason, the main objective of this study is to determine the doses of the commercial compound's hydrogen peroxide and sodium percarbonate that achieve dissolved oxygen concentrations and evaluate their influence on *Chaetoceros gracilis* microalgae strains and selected bacteria. In this study it was determined that the compounds effectively increase dissolved oxygen, and based on the results obtained, the increase occurs at very high concentrations, most likely because the products have lost effectiveness over time or are diluted. Hydrogen peroxide and sodium percarbonate affected the growth of microalgae and showed destruction of the phytoplankton structure, when concentrations of 1 to 50 ppm were used. Hydrogen peroxide generated a bacteriostatic effect on the non-pathogenic vibrio used, at a concentration of 11 ppm, and a bactericidal effect at 20 ppm. While, for the other selected probiotics, the concentrations in which they generated negative effects were high, which are not used in the field, however, the data will allow to the shrimp farmer to make decisions about these concentrations and their effects on the ecosystem.*

Keywords: *bacteriostatic, bactericidal, peroxide, phytoplankton, concentration*

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES.....	VI
RESUMEN.....	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS.....	V
SIMBOLOGÍA	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
CAPÍTULO 1.....	1
1. Introducción.....	1
1.1 Descripción del problema	2
1.2 Justificación del problema	2
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos.....	3
1.4 Marco teórico.....	3
CAPÍTULO 2.....	7
2. Metodología.....	7
2.1 Ensayos para evaluar incremento de oxígeno a causa de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio	7
2.1.1 Pruebas para medir el incremento de OD causado por el peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio	7
.....	9
2.1.2 Pruebas para evaluar la toxicidad del peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio en microalgas del género <i>Chaetoceros gracilis</i>	9

.....	11
2.1.3 Evaluación de los efectos bactericida y bacteriostático de los compuestos sobre dos cepas probióticas de CENAIM y dos cepas probióticas comerciales.....	12
CAPÍTULO 3.....	16
3. Resultados y análisis.....	16
3.1 Resultados de los efectos de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio sobre el oxígeno disuelto (OD).....	16
3.1.1 Resultados del efecto del peróxido de hidrógeno sobre el OD en muestras de agua destilada.	16
3.1.2 Resultados del efecto del percarbonato de sodio sobre el OD y pH en muestras de agua destilada.....	17
3.2 Resultados de la evaluación de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio sobre microalgas.	18
3.2.1 Resultados de la evaluación del peróxido de hidrógeno sobre cepas de microalgas <i>Chaetoceros gracilis</i>	18
3.2.2 Resultados de la evaluación del percarbonato de sodio sobre cepas de microalgas <i>Chaetoceros gracilis</i>	19
3.3 Resultados del efecto de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio sobre bacterias.	20
3.3.1 Resultados de la evaluación del peróxido de hidrógeno sobre bacterias.	20
3.1.1 Resultados de la evaluación del percarbonato de sodio sobre bacterias.	22
3.4 Análisis de costos.....	23
CAPÍTULO 4.....	24
4. Conclusiones y Recomendaciones.....	24
4.1 Conclusiones	24
4.1 Recomendaciones	24
BIBLIOGRAFÍA.....	25
Anexos.....	27

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas
OD	Oxígeno disuelto
TSA	Agar Triptona – Soja
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
MIC	Concentración inhibitoria mínima
MCB	Concentración mínima bactericida
CM	Control sólo medio
CB	Control bacteria
C	Control
T1	Tratamiento 1
T2	Tratamiento 2
T3	Tratamiento 3
T4	Tratamiento 4
T5	Tratamiento 5

SIMBOLOGÍA

ppm	Partes por millón
g	Gramo
mg	Miligramo
pH	Potencial de hidrógeno
µL	Microlitro
mL	Mililitro
L	Litro
°C	Grados centígrados
UFC	Unidad formadora de colonias
LB	Medio Luria-Bertani
RPM	Revoluciones por minuto
ClNa	Cloruro de sodio
O ₂	Oxígeno
Na ₂ SO ₃	Sulfito de sodio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
Na ₂ H ₃ CO ₆	Peroxicarbonato de sodio

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Esquema de la metodología aplicada	VIII
Figura 2. 2: Proceso de desoxigenación del agua destilada usando sulfito de sodio. Fuente: Autores	8
Figura 2.3: Proceso para medir el incremento de OD a causa del peróxido de hidrógeno. Fuente: Autores	9
Figura 2.4: Proceso para medir el incremento de OD a causa del percarbonato de sodio. Fuente: Autores	9
Figura 2.5: Proceso para verificar la toxicidad del percarbonato de sodio sobre las cepas de microalgas. Fuente: Autores.....	11
Figura 2. 6: Proceso para verificar la toxicidad del peróxido de hidrógeno sobre las cepas de microalgas. Fuente: Autores.....	12
Figura 2.7: Proceso para evaluar el efecto antimicrobiano del peróxido de hidrógeno y del percarbonato de sodio sobre las bacterias seleccionadas. Fuente: Autores.	15
Figura 3.1: Efecto del peróxido de hidrógeno sobre el OD en muestras de agua destilada.	16
Figura 3.2: Efecto del percarbonato de sodio sobre el OD en muestras de agua destilada.	17
Figura 3.3: Variación del pH por efecto del percarbonato de sodio	18
Figura 3.4: Efecto del peróxido de hidrógeno sobre microalgas <i>Chaetoceros gracilis</i> . ..	18
Figura 3.5: Efecto del percarbonato de sodio sobre <i>Chaetoceros gracilis</i>	19
Figura 3.6: Concentraciones de efecto bactericida y bacteriostático del peróxido de hidrógeno al 50% sobre las bacterias seleccionadas.	20
Figura 3.7: Concentraciones de efecto bactericida y bacteriostático del percarbonato de sodio sobre bacterias.....	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1: Efectos de las concentraciones de OD sobre los camarones. Fuente: (Boyd et al., 2001)	4
Tabla 2.1: Concentraciones evaluadas sobre muestras de agua destilada	8
Tabla 2. 2: Concentraciones evaluadas sobre cepas de microalgas.	10
Tabla 2.3: Concentraciones de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio utilizadas en cepas bacterianas.	13
Tabla 3.1: Concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC) del compuesto peróxido de hidrógeno sobre bacterias.	21
Tabla 3.2: Detalle de los precios de los análisis de medición de OD, análisis de fitoplancton, análisis antimicrobiano y varios productos.	23

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de camarón es una de las actividades productivas no petroleras que mayormente genera ingresos económicos al Ecuador, por lo que la investigación en este ámbito es esencial para la sostenibilidad de esta industria. Concentraciones adecuadas de OD son de vital importancia para el bienestar de los camarones y por ende para buenas producciones. Los niveles óptimos para el crecimiento del crustáceo se establecen por encima del 60% de saturación, el cual dependiendo de la temperatura y salinidad del agua puede presentar concentraciones de 4 a 10 mg/L. Concentraciones inferiores a 2 mg/L son consideradas bajas para el desarrollo de los camarones, inclusive llegando a ocasionar su muerte. (König et al., 2021)

La demanda de OD en los sistemas acuícolas se incrementa por la respiración de los camarones, y del ecosistema (microorganismos, microalgas, bacterias, etc). Este consumo de oxígeno nocturno en ocasiones puede ser alto, generando concentraciones de OD por debajo de los niveles adecuados para el equilibrio de los camarones. (König et al., 2021)

Ante estas concentraciones de baja de OD, el camaronero recurre a recambios de agua y/o a la instalación de sistema de aireación, para reducir este problema de falta de OD. Sin embargo, ante la ausencia del sistema de aireación y/o nula calidad de agua de recambio, se ha hecho muy común que los camaroneros recurran a la aplicación de productos químicos como el peróxido de hidrógeno y el peroxicarbonato de sodio, que proporcionan oxígeno a la piscina, dado que estos productos al disolverse liberan O₂ en el agua. (Boyd, 1990)

Estos productos si bien es cierto liberan O₂ al agua, deben ser aplicados con cautela, pues al ser productos oxidantes, pueden también afectar a los organismos del ecosistema. En ocasiones, el peróxido de hidrógeno se lo utiliza manualmente como desinfectante para eliminar bacterias. (Baldry, 1983). Por otro lado, el peroxicarbonato de sodio al disolverse en el agua puede generar un incremento de pH.

En el caso del peróxido de hidrógeno, este atraviesa las membranas celulares, reaccionando con el oxígeno y metales de transición, donde se libera el radical hidroxilo, el cual afecta la integridad de las células. (König et al., 2021)

El presente proyecto tiene como principal objetivo determinar las dosis de peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio (productos comerciales) que logran incrementar el oxígeno disuelto y evaluar la afectación de estos productos sobre organismos representantes del ecosistema, tales como bacterias y fitoplancton.

1.1 Descripción del problema

El OD es el principal factor limitante y una variable de gran importancia en el cultivo de camarón, dado que influye directamente sobre el crecimiento y bienestar de los animales. Ante bajos niveles de OD durante el ciclo de cultivo, el camaronero recurre a alternativas de manejo para mejorar esta condición en las piscinas, tales como el uso de aireadores, recambios de agua y también al uso de compuestos químicos que liberan oxígeno como los peróxidos. Haciendo referencia a la primera alternativa, los aireadores demandan una inversión en equipos, consumo de energía y gastos de operación y mantenimiento; en el caso de los recambios de agua, cuando estos se realizan, la calidad con la que ingresa el agua no necesariamente es mejor; y por último como medida emergente, se acoge al uso de compuestos peróxidos como el peróxido de hidrógeno y el percarbonato de sodio.

La aplicación de los mencionados compuestos peróxidos se realiza con la experiencia que se gana día a día en el campo y también con las indicaciones técnicas del proveedor, sin embargo, no existe una ficha técnica con las dosis efectivas para lograr diferentes niveles de oxígeno disuelto, y, por otro lado, existe desconocimiento de que los compuestos pueden tener efectos negativos sobre el ecosistema y actuar sobre la variación del pH.

En el mercado existen productos que no reúnen las condiciones las condiciones que dicen tener, por publicidad engañosa o información errónea y esto genera expectativas en quien adquiere tal producto, entonces por ello, las pruebas sencillas de laboratorio permiten determinar la calidad de un producto.

1.2 Justificación del problema

Los compuestos peróxidos, utilizados en acuicultura son proveedores de OD al agua, son oxidantes y como tal pueden causar mortalidad de comunidades bacterianas y otros organismos del ecosistema, que son componentes esenciales del cultivo.

Los compuestos peróxidos históricamente han sido usados como desinfectantes. El peróxido de hidrógeno y peroxicarbonato de sodio son compuestos que oxidan sustancias producidas en el agua o suelo, matan microorganismos al reaccionar con las superficies de sus membranas y liberan oxígeno molecular en el agua. Durante muchos años han sido reconocidas las propiedades antimicrobianas de los compuestos peroxígenos y se han desarrollado muchas aplicaciones, las cuales se utilizan como antisépticos, por consiguiente, se han llevado a cabo experimentos para comparar las actividades bacteriostáticas, bactericidas y esporicidas del peróxido de hidrógeno. (Baldry, 1983)

Es por esta razón que es necesario dosificar correctamente estos compuestos para reducir las afectaciones en el sistema acuícola.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar las dosis de los compuestos comerciales peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio que logren diferentes concentraciones de oxígeno disuelto y evaluar los efectos colaterales de su aplicación, sobre cepas bacterianas y microalgas seleccionadas para el análisis de su capacidad como oxidantes.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Determinar concentraciones de peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio, que permitan el incremento de oxígeno disuelto en muestras de agua destilada.
2. Evaluar la variación de pH ocasionada por el percarbonato de sodio mientras reacciona como oxigenador.
3. Analizar los efectos de toxicidad de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio, sobre cepas de microalgas *Chaetoceros gracilis*.
4. Establecer la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio, usando dos cepas probióticas de CENAIM y dos cepas probióticas de origen comercial.

1.4 Marco teórico

Oxígeno disuelto

Según Francis-Floyd (2021) el OD es una variable crítica en los sistemas de cultivos acuícolas, y se refiere al gas oxígeno que es disuelto en el agua.

Si bien es cierto, el oxígeno puede difundirse entre el aire y el agua, los procesos biológicos tienen mayor importancia que los procesos físicos en la regulación de las concentraciones de OD en el agua. Las plantas que se desarrollan en los estanques generan oxígeno en la fotosíntesis, según la ecuación 1.1; sin embargo, hay factores que controlan los niveles de OD y la fotosíntesis, como la temperatura, la presencia de luz, las concentraciones de nutrientes, el tipo de microalga, la turbulencia, entre otros. (Boyd, 1990)



Importancia del oxígeno disuelto

Es importante monitorear los parámetros físicos y químicos del agua para diagnosticar las diferentes anomalías que se puede presentar. Los acuicultores deben tener una buena comprensión de los factores que afectan la concentración de oxígeno disuelto y el impacto que ocasiona la baja concentración en los cultivos de camarón. (Boyd et al., 2001)

Los efectos comunes del bajo nivel de OD se muestran como crecimiento lento o mayor susceptibilidad a las enfermedades. En estanques con concentraciones crónicamente bajas de OD, los camarones comerán menos por lo tanto la conversión alimenticia no será comparable a estanques con niveles normales. (Boyd et al., 2001)

Tabla 1.1: Efectos de las concentraciones de OD sobre los camarones. Fuente: (Boyd et al., 2001)

Concentración de OD	Efecto
Menor de 1 o 2 mg/L	Si la exposición dura más de unas horas es letal.
2-5 mg/L	Si la baja de OD se extiende el crecimiento será lento.
5 mg/L-saturación	Condiciones óptimas para un correcto crecimiento.
Supersaturación	Generalmente no hay problema, pero puede ser dañino si las condiciones se prolongan por todo el estanque.

Compuestos peróxidos

Los peróxidos de hidrógeno y peroxicarbonato de sodio son compuestos que oxidan sustancias producidas en el agua o suelo, matan microorganismos al reaccionar con las superficies de sus membranas y liberar oxígeno molecular en el agua. (Boyd & Tucker, 2014)

El peróxido de hidrógeno es un oxidante extremadamente fuerte que se utiliza en diversas aplicaciones para acuicultura como en la desinfección de huevos de peces, desinfección tanques, entre otros. Sin embargo, el uso más común de este compuesto en acuicultura es como fuente de oxígeno disuelto en casos de emergencia. (Boyd & Tucker, 2014)

En agua, el peróxido de hidrógeno se descompone espontáneamente para liberar oxígeno molecular acorde a la siguiente explicación:



De acuerdo con la ecuación 1.2, la liberación de 1 *mg/L* de oxígeno molecular requiere 2.1 *mg/L* de peróxido de hidrógeno como compuesto puro. La aplicación del peróxido de hidrógeno como incrementador de oxígeno continúa en reemplazo de la aireación mecánica, el costo prohíbe su uso como alternativa a la aireación de rutina y sólo se debe usar para casos de emergencia, en ausencia de aireación. (Boyd & Tucker, 2014)

El peróxido de hidrógeno en acuicultura como fuente de oxígeno debe ser usado con cautela, pues este compuesto es biocida. El peróxido de hidrógeno es una molécula neutra que se difunde fácilmente a través de las membranas celulares, reacciona con oxígeno y metales en transición, liberando radicales de hidroxilos. (Girolamini et al., 2019)

Elevadas concentraciones de radicales de hidroxilo pueden producir peroxidación de lípidos y proteínas de las membranas (Justo & Venereo Gutiérrez, 2002), afectando la integridad celular, la cual puede considerarse como un mecanismo que origina la toxicidad de las células bacterianas y otros organismos vivos como las células fitoplanctónicas. (Anand et al., 2021)

El compuesto peroxicarbonato de sodio es un compuesto sólido que consiste en dos partes de carbonato y tres partes de peróxido de hidrógeno (Boyd & Tucker, 2014). Se lo utiliza principalmente como producto de limpieza y desinfectante, pero recientemente también se lo utiliza en acuicultura al igual que el peróxido de hidrógeno para oxigenar el agua en casos de emergencia. hidrógeno (Boyd & Tucker, 2014)

La capacidad de los compuestos peróxidos en estado sólido para generar oxígeno y peróxido de hidrógeno los hace altamente aptos para aplicaciones antibacterianas o de producir oxígeno. Investigaciones actuales donde se hace uso de peróxidos sólidos para aumentar oxígeno, se lleva a cabo a través de la mezcla de polvos

peróxidos sólidos en polímeros, con la finalidad de ralentizar la descomposición acuosa. (Rastinfard et al., 2022)

El peroxicarbonato de sodio se disuelve en el agua en carbonato de sodio y peróxido de hidrógeno, según la ecuación 1.3:



La disolución del peroxicarbonato de sodio puro liberará 0.15 mg/L de oxígeno molecular, es decir, la liberación de 1 mg/L de oxígeno requiere de la disolución de 6.7 mg/L de peroxicarbonato de sodio, siendo puro. (Boyd & Tucker, 2014)

El carbonato de sodio resulta de la disolución del peroxicarbonato de sodio que se disuelve en sodio y carbonato (Boyd & Tucker, 2014), según la siguiente ecuación:



Este micronutriente de carbonato en el agua entra en equilibrio con bicarbonato, dando origen a un posible incremento de pH según la siguiente ecuación:



El percarbonato de sodio es un polvo cristalino blanco que puede diluirse de manera rápida en el agua y debido a uno de los compuestos en los que se disocia, como el peróxido de hidrógeno, presenta propiedades removedores de manchas, actuando como oxidante. (Ruiz, 2008)

Propiedades bactericidas del peróxido de hidrógeno

Durante muchos años han sido reconocidas las propiedades antimicrobianas de los compuestos peroxígenos y se han desarrollado muchas aplicaciones, las cuales se utilizan como antisépticos, por consiguiente, se han llevado a cabo experimentos para comparar las actividades bacteriostáticas, bactericidas y esporicidas del peróxido de hidrógeno. (Baldry, 1983b)

El término bacteriostático proviene del prefijo “bacter”, que hace referencia a la palabra bacteria y “stático” que proviene del término griego “stasis” que significa detención. Por lo tanto, se puede definir bacteriostático como ralentizar el crecimiento (hasta el punto de detenerlo); mientras que bactericida proviene del prefijo “bacter”, que significa bacteria y La terminación “cida” que significa matar. Lo cual significa que la bacteria se ve afectada hasta morir. (Rivas Soler, n.d.)

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

El presente proyecto se desarrolló en los laboratorios de Análisis Ambiental, Fitoplancton y Bioactividad del CENAIM. Para la evaluación de los efectos de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio se desarrolló en tres fases.

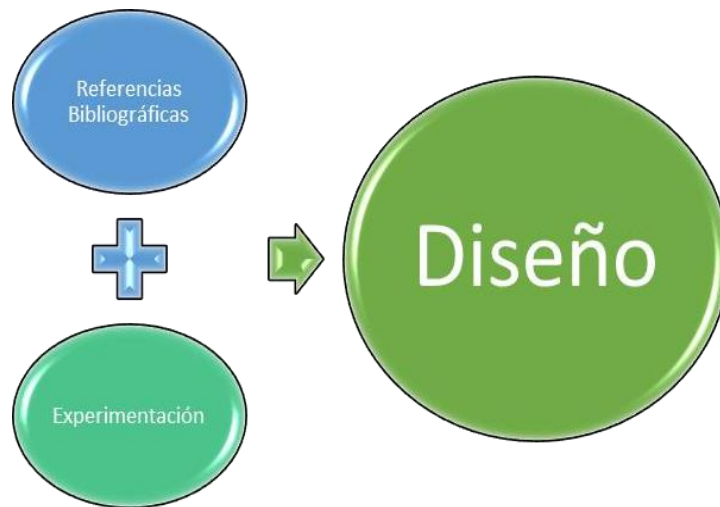


Figura 2.1: Esquema de la metodología aplicada.

2.1 Ensayos para evaluar incremento de oxígeno a causa de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio.

2.1.1 Pruebas para medir el incremento de OD causado por el peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio.

Para llevar a cabo esta evaluación se realizaron pruebas exploratorias en el laboratorio de Calidad de Agua y Suelos, donde se realizaron mediciones de parámetros como OD, temperatura, salinidad, saturación de oxígeno disuelto y pH, en muestras de agua destilada.

Para verificar el incremento de concentraciones de OD, fue necesario desoxigenar las muestras de agua (Hanh et al., 2005), para ello se utilizó sulfito de sodio (Na_2SO_3), como se describe en el proceso gráfico que se adjunta. (Ver Figura 2.2)

El sulfito de sodio es un eliminador de oxígeno de uso común. (Kikuchi et al., 1954). Este producto tiene la ventaja de ser económico y muy reactivo con el oxígeno. Para aumentar la acción de los sulfitos, se utilizan catalizadores como sales de cobalto.

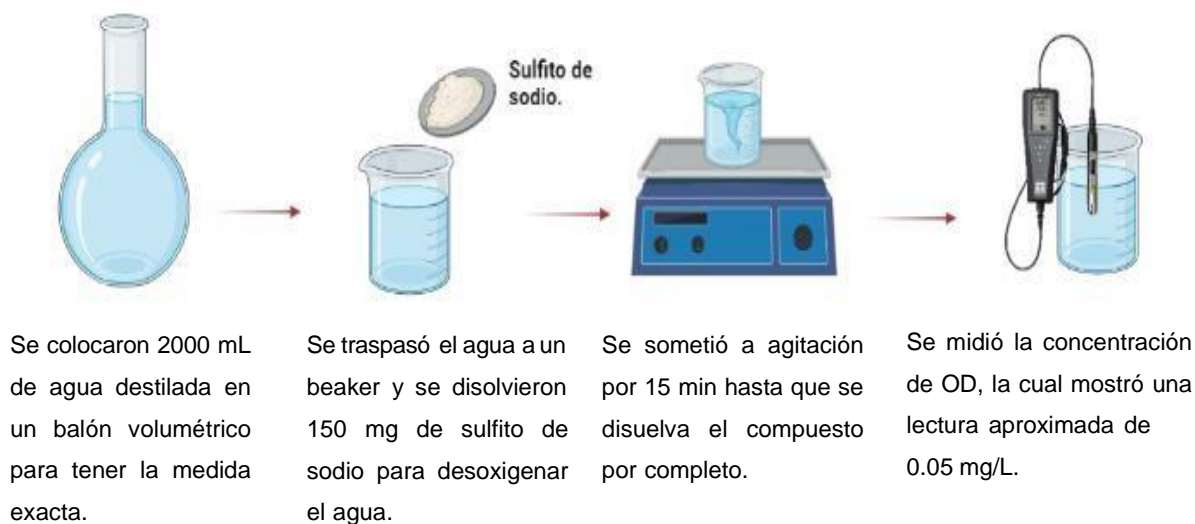


Figura 2. 2: Proceso de desoxigenación del agua destilada usando sulfito de sodio.

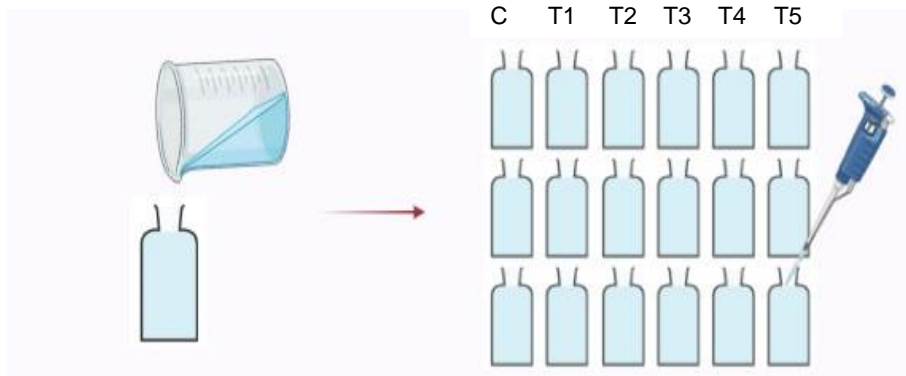
Fuente: Autores

En este proceso se evaluaron los compuestos comerciales peróxido de hidrógeno (50%) y el percarbonato de sodio (90%), se realizaron los pasos de las imágenes 2.3 y 2.4.

Para medir el incremento de oxígeno causado por las concentraciones aplicadas (Ver Tabla 2.1), se utilizó el Oxígenometro YSI DO200 y para medir la variación de pH, en las muestras que contenían concentraciones de percarbonato de sodio, se utilizó el pH metro modelo pH700 / pH2700.

Tabla 2.1: Concentraciones evaluadas sobre muestras de agua destilada.

Denominación	Concentraciones evaluadas [mg/L]	
	H ₂ O ₂	NA ₂ H ₃ CO ₆
C	0	0
T1	66.7	30
T2	133.3	60
T3	200.0	90
T4	266.7	120
T5	333.33	150



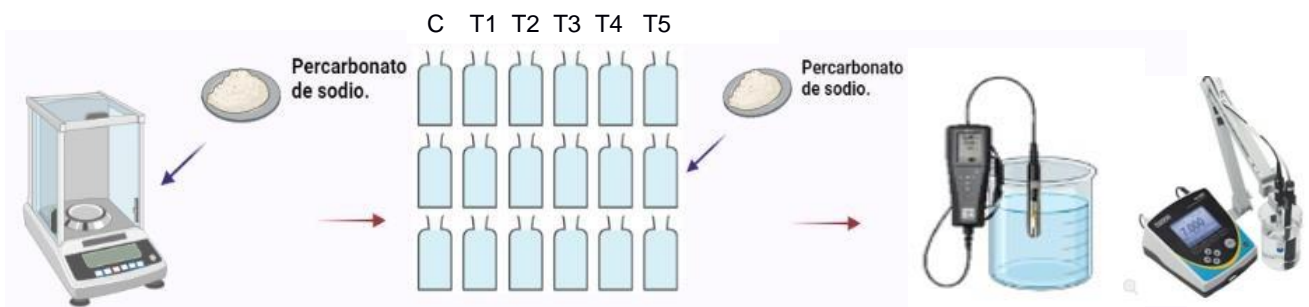
Se distribuyó el agua desoxigenada en botellas DBO (300mL). Se trabajó con 5 tratamientos por triplicado, con su respectivo control.

Se colocaron las concentraciones (obtenidas por cálculos matemáticos), de peróxido de hidrógeno en las botellas con las muestras de agua.

Luego de agitar suavemente para que se disuelva el compuesto, finalmente se midió el OD en cada una de las botellas.

Figura 2.3: Proceso para medir el incremento de OD a causa del peróxido de hidrógeno.

Fuente: Autores



Se pesó el percarbonato de sodio en la balanza

Se prepararon 5 tratamientos con percarbonato de sodio (las concentraciones indicadas en la Tabla 2.1).

Se disolvió el compuesto con ayuda de agitador magnético y posteriormente se midió el OD y pH.

Figura 2.4: Proceso para medir el incremento de OD a causa del percarbonato de sodio.

Fuente: Autores

2.1.2 Pruebas para evaluar la toxicidad del peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio en microalgas del género *Chaetoceros gracilis*.

En el laboratorio de fitoplancton se realizaron ensayos de toxicidad, donde se tomaron cepas de microalgas del género *Chaetoceros gracilis*, de 5 días de

cultivo, en su fase exponencial. Para probar la toxicidad de los productos (peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio) se realizaron los pasos de las figuras 2.5 y 2.6.

Para el caso del percarbonato de sodio, se pesó el compuesto en una balanza analítica Boeco BAS 31Plus, se diluyeron las cantidades adecuadas en medio de cultivo para obtener las concentraciones (Ver Tabla 2.2) a evaluar. Luego la dilución se sometió a agitación en el equipo THERMO FISHER SCIENTIFIC SP131325Q Cimarec – Placa digital de cerámica, 18,4 cm x 18,4 cm, 120 V.

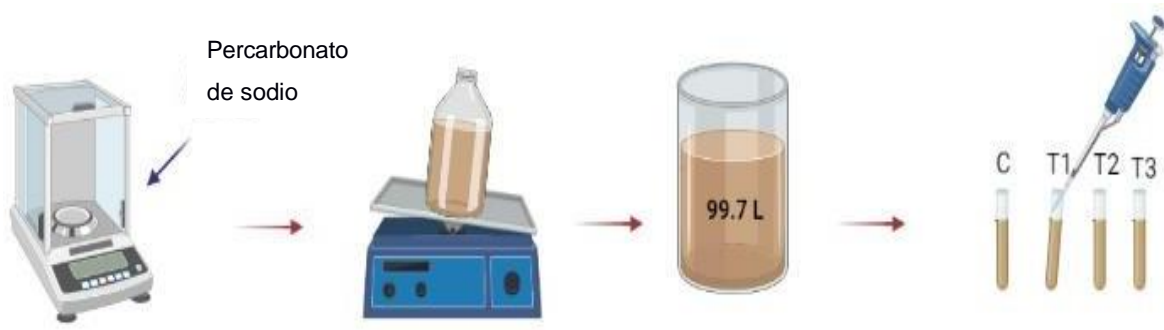
Tabla 2. 2: Concentraciones evaluadas sobre cepas de microalgas.

DENOMINACIÓN	Concentraciones evaluadas [mg/L]	
	H ₂ O ₂	NA ₂ H ₃ CO ₆
C	0	0
T1	15	1
T2	30	2
T3	45	7
T4	50	10

Posteriormente, se procedió con el proceso como se muestra gráficamente (Figura 2.5), donde se tomó 1 mL de cada tratamiento y se inyectó en 9 mL de cepas de la microalga seleccionada. Para obtener resultados precisos del efecto del compuesto, una vez que este se inyectó sobre las microalgas, se colocó el tubo en el equipo VORTEX MIXER, para lograr una homogenización total.

Las cepas de microalgas contenidas en los tubos de ensayo se dejaron en una gradilla, con luz blanca y temperatura de 18 – 21 °C. (Guo et al., 2021)

Finalmente se hicieron dos conteos, el primero después de 1 hora y el siguiente después de 24 horas, con la ayuda del microscopio LED compuesto binocular OMAX 40X-2000X y la cámara Neubauer, la cual es un instrumento que se utiliza para contar las células en un medio líquido. Se verificó la toxicidad de los compuestos en las microalgas a través del conteo de las células fitoplanctónicas y se analizó la forma de su estructura, en los tratamientos, y se comparó con los controles.

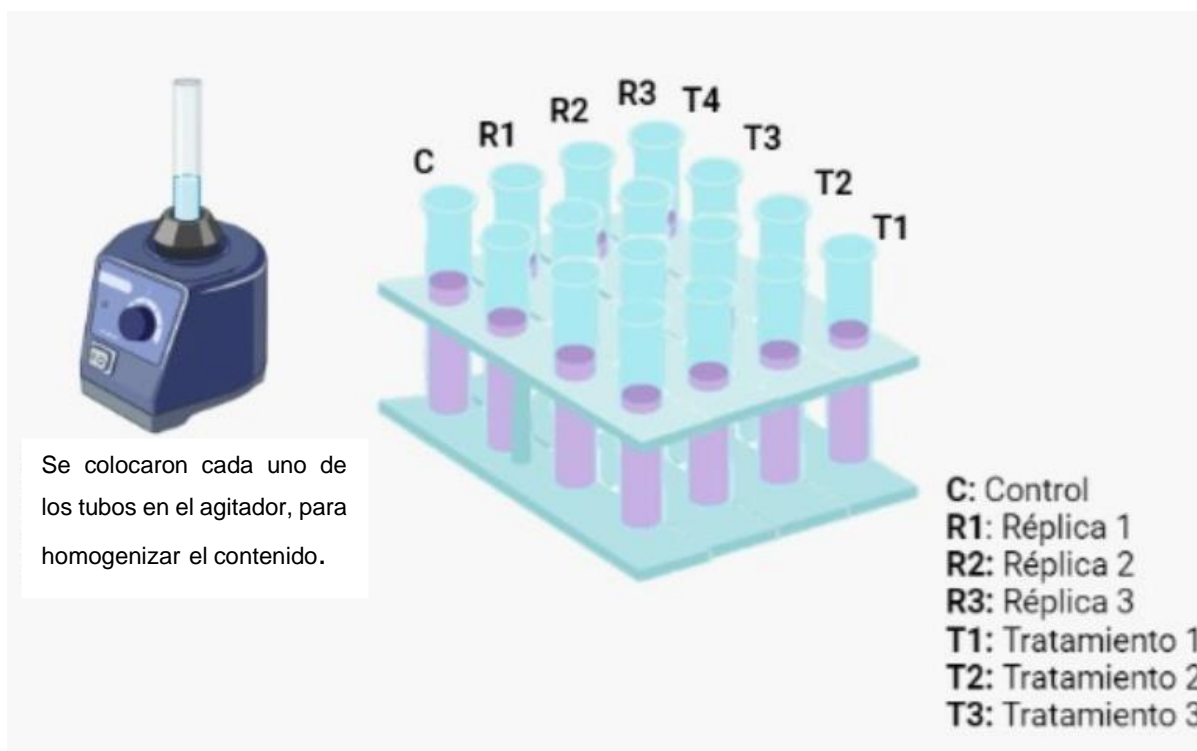


Se pesó el compuesto. La cantidad depende de la concentración a obtener.

Se colocó el compuesto en 300 mL de medio de cultivo y se sometió a agitación.

Se colocaron los 300 mL de la solución anterior en 24.7 L del medio de cultivo.

El control contiene 10 mL de cepas de microalgas. Y en los tubos T1, T2, T3 y T4 se colocaron 9 mL de cepas y se inyectó 1 mL de la solución anterior.



Se colocaron cada uno de los tubos en el agitador, para homogenizar el contenido.

C: Control
R1: Réplica 1
R2: Réplica 2
R3: Réplica 3
T1: Tratamiento 1
T2: Tratamiento 2
T3: Tratamiento 3

Figura 2.5: Proceso para verificar la toxicidad del percarbonato de sodio sobre las cepas de microalgas. Fuente: Autores.

Para el caso del peróxido de hidrógeno, se realizaron diluciones seriadas del compuesto para obtener las diferentes concentraciones que se evaluaron, de acuerdo con el procedimiento de la figura 2.6.

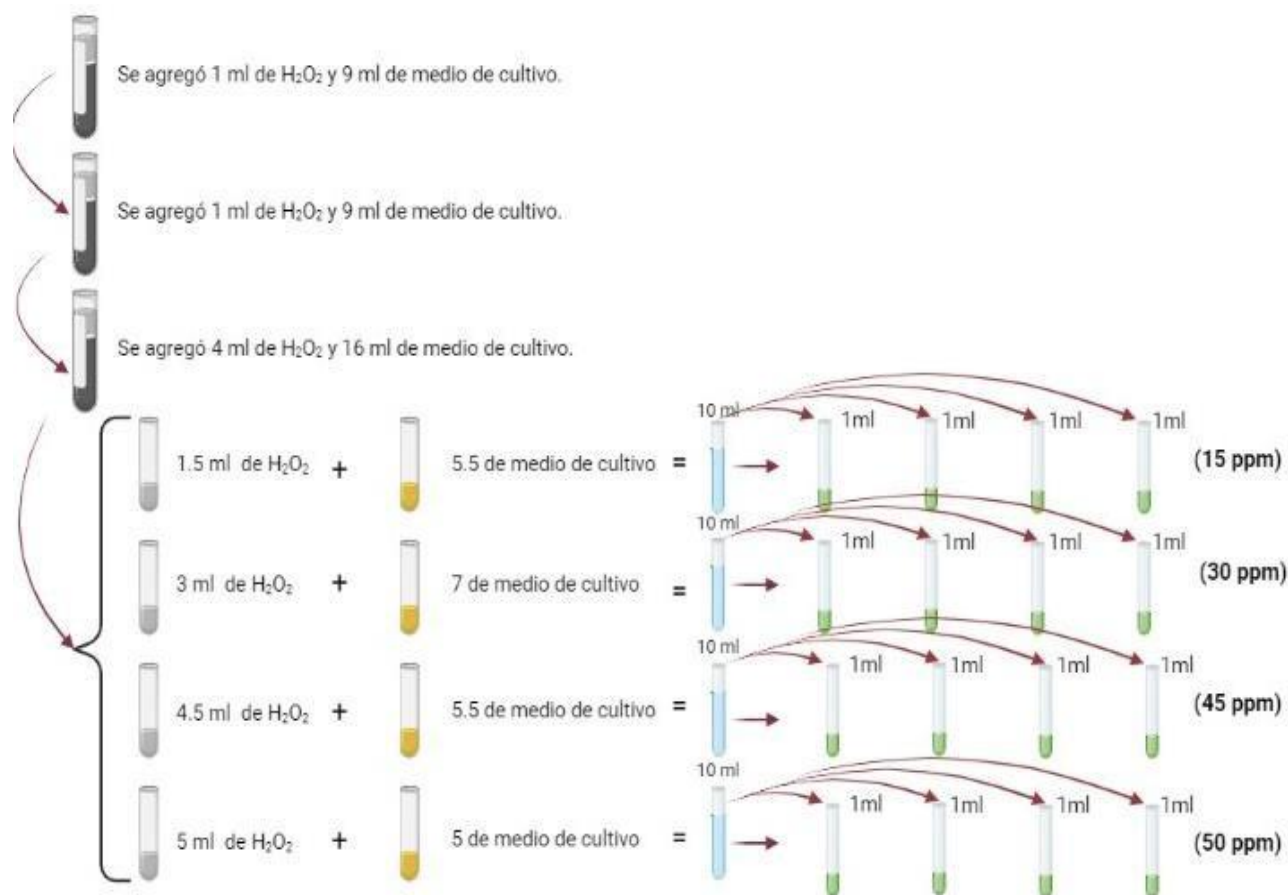


Figura 2. 6: Proceso para verificar la toxicidad del peróxido de hidrógeno sobre las cepas de microalgas. Fuente: Autores.

2.1.3 Evaluación de los efectos bactericida y bacteriostático de los compuestos sobre dos cepas probióticas de CENAIM y dos cepas probióticas comerciales.

Se evaluó el efecto bactericida y bacteriostático de los compuestos oxidantes (peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio), usando dos cepas probióticas de CENAIM (un bacillus, denominado P64 y un *Vibrio alginolyticus*, denominado ILI) y dos probióticos comerciales. La evaluación de los compuestos peróxido de hidrógeno (50%) y percarbonato de sodio (90%), consistió en un primer barrido de concentraciones altas. Después de esta evaluación se verificaron las concentraciones aparentemente bactericidas por cada cepa y se procedió a una segunda evaluación diferenciada basada en el primer barrido.

Tabla 2.3: Concentraciones de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio utilizadas en cepas bacterianas.

Compuestos químicos	BACTERIAS			
	Cepa probiótica 1	Cepa probiótica 2	Cepa comercial A	Cepa comercial B
Peróxido de hidrógeno al 50% (ppm)	400	50	500	500
	300	40	400	400
	250	30	300	300
	200	25	250	250
	130	22	220	220
	120	21	210	210
	110	20	200	200
	100	10	100	100
	50	5	20	20
Percarbonato de sodio 90% (ppm)	20000	8000	30000	30000
	18000	4000	24000	24000
	17000	3500	22000	22000
	16000	3000	20000	20000
	12000	2500	18000	18000
	10000	2000	17000	17000
	8000	1800	16000	16000
	4000	1700	8000	8000
2000	1600	6000	6000	

La sensibilidad de las bacterias seleccionadas ante los agentes oxidantes peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio se ensayó mediante la técnica MIC. Según Krochmal y Wicher, (2021), esta técnica ha permitido determinar concentraciones antimicrobianas de sustancias tóxicas. La MIC para ambos compuestos se realizó en una microplaca con 9 concentraciones (ver Tabla 2.2) de cada uno de los compuestos químicos, donde la preparación contenía el medio, el inóculo bacteriano y el producto. Además, se colocó un control sólo con medio (CM) y un control con bacteria (CB). Se realizaron tres réplicas de los tratamientos.

En los pocillos donde se evaluaron las concentraciones de los productos se añadieron 50 µL de cada concentración (Ver Figura 2.7) y se colocó el medio de

cultivo más la bacteria probiótica a concentración de 10^5 UFC/mL (escala McFarland). Las placas fueron incubadas a 30 °C durante 24 horas.

La actividad antimicrobiana del peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio se evaluó por 24 horas. Los pocillos del control solo medio (CM) fueron utilizados para determinar la esterilidad del medio. Después de 24 horas, el crecimiento microbiano fue determinado mediante turbidez para verificación del MIC. La concentración más baja (la mayor dilución) del compuesto químico que impidió la turbidez fue considerada como la concentración mínima inhibitoria (MIC). A esta dilución, el compuesto evaluado es bacteriostático. La concentración mínima bactericida (MBC) fue determinado subcultivando en medios frescos de TSA (Agar Tripticasa Soya), de los pocillos en los que no hubo crecimiento visible.

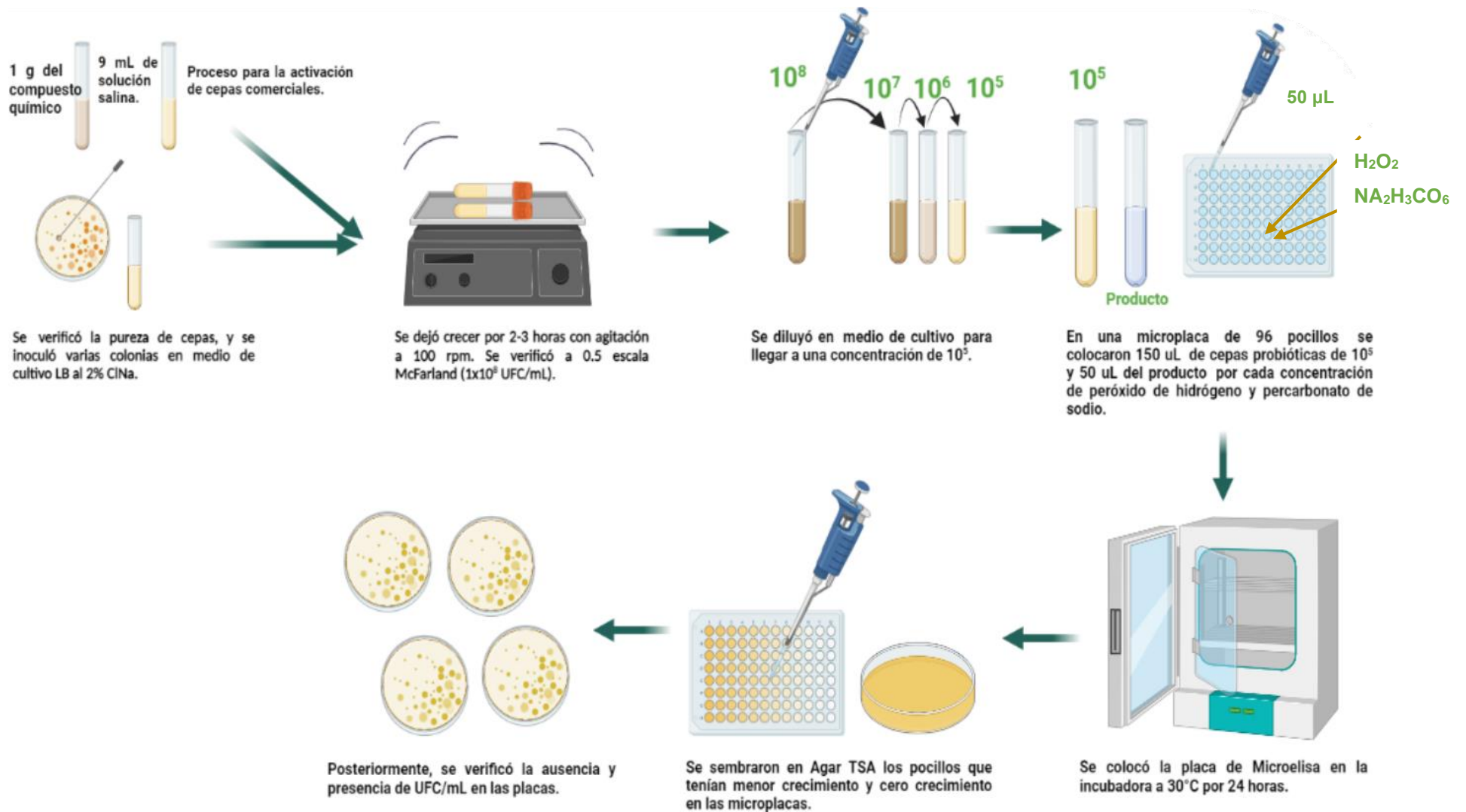


Figura 2.7: Proceso para evaluar el efecto antimicrobiano del peróxido de hidrógeno y del percarbonato de sodio sobre las bacterias seleccionadas. Fuente: Autores.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Resultados de los efectos de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio sobre el oxígeno disuelto (OD).

3.1.1 Resultados del efecto del peróxido de hidrógeno sobre el OD en muestras de agua destilada.

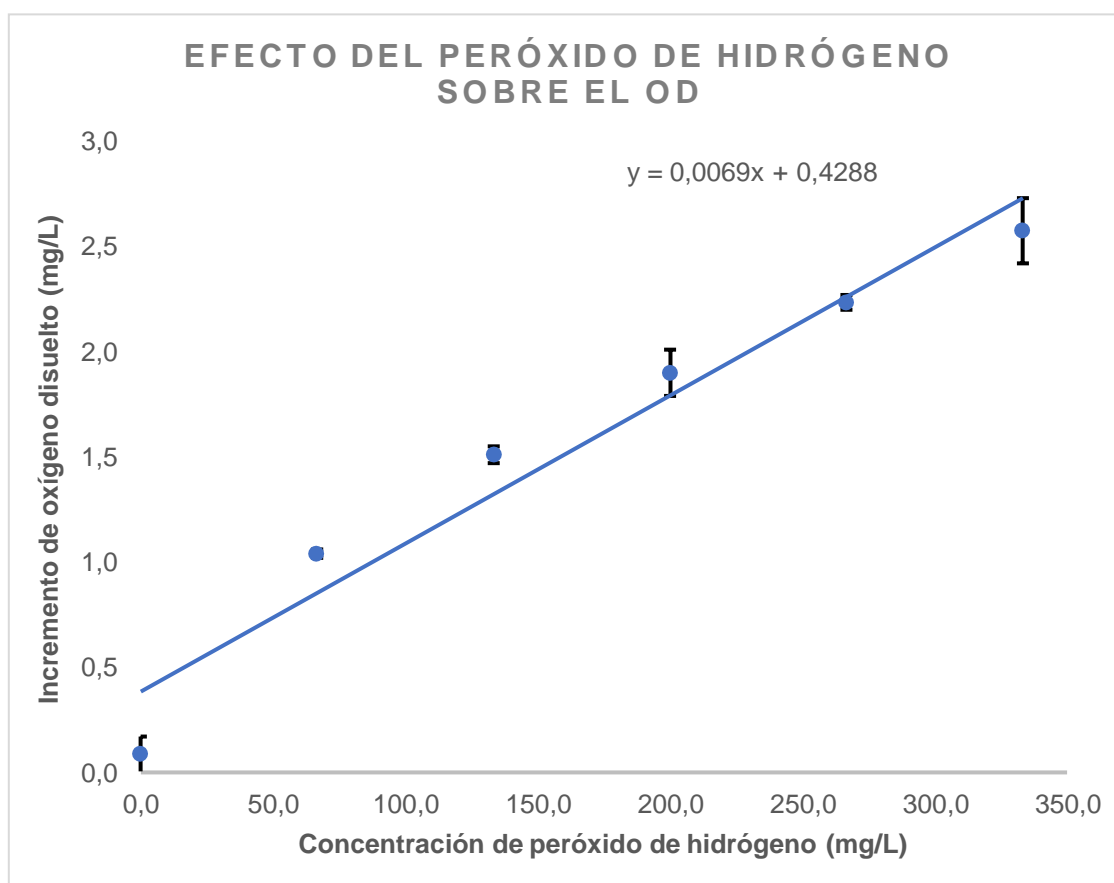


Figura 3.1: Efecto del peróxido de hidrógeno sobre el OD en muestras de agua destilada.

El gráfico 3.1 muestra el incremento de OD causado por el peróxido de hidrógeno, donde la concentración mínima del compuesto (50%) para el incremento de, al menos 1 mg/L, es de aproximadamente 67 ppm. Esta concentración es muy elevada ya que, según la teoría, al usar el compuesto al 50%, se requieren tan solo 4.2 ppm para obtener 1 mg/L de OD, por lo que existe probablemente una dilución muy alta.

3.1.2 Resultados del efecto del percarbonato de sodio sobre el OD y pH en muestras de agua destilada.

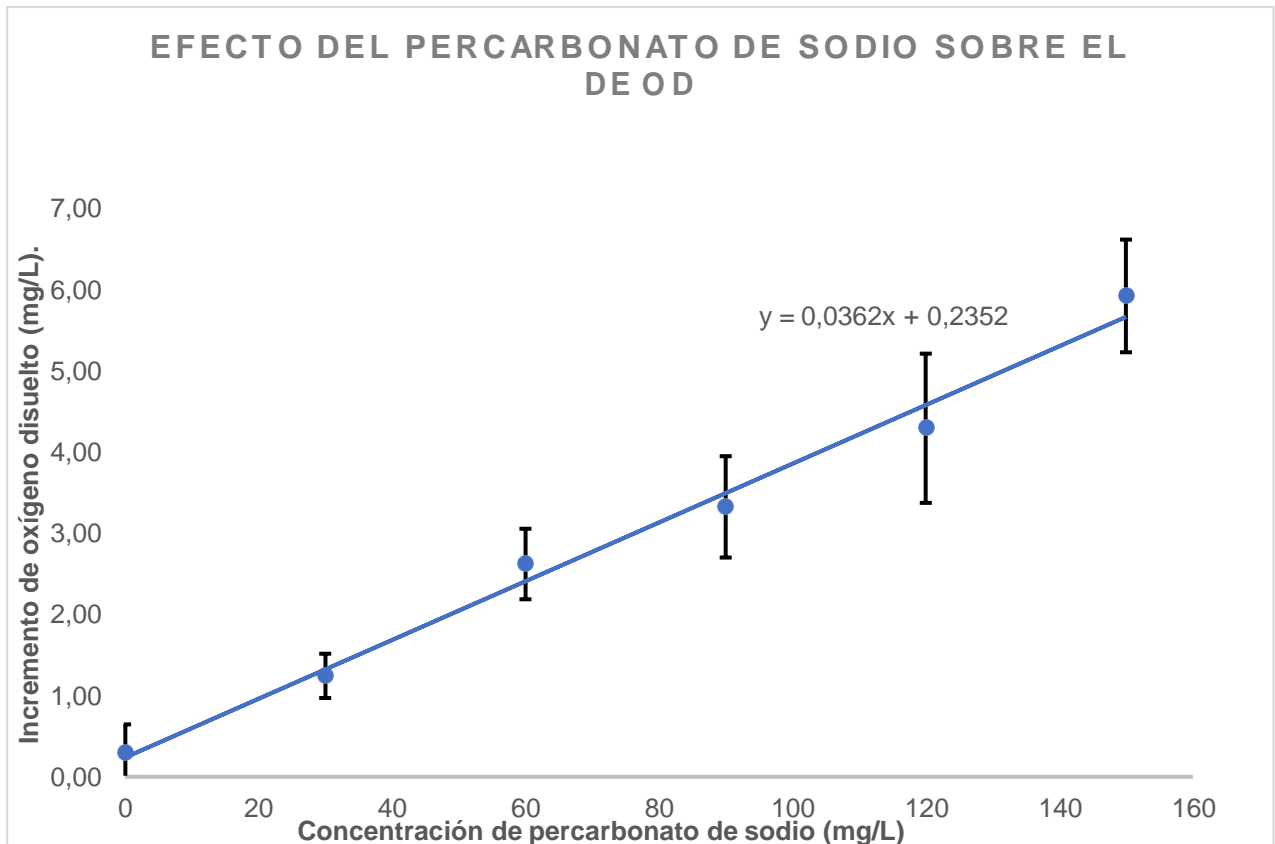


Figura 3.2: Efecto del percarbonato de sodio sobre el OD en muestras de agua destilada.

El gráfico 3.2 presenta el aumento de OD causado por el percarbonato de sodio, donde se obtuvo que para obtener el menos 1 mg/L de OD se requieren aproximadamente 33 ppm del compuesto al 90%. Mientras que teóricamente, el producto al 100% incrementa la misma concentración de OD cuando se utilizan únicamente 6.7 ppm. Lo que llevó al análisis de que el producto perdió efectividad con el tiempo.

Cabe mencionar que este compuesto se utilizó después de un mes de su adquisición, y para las diferentes pruebas realizadas se ha manipulado el empaque constantemente, lo que muy probablemente ha generado degradación del compuesto y por tanto la efectividad no es la misma.

Finalmente, de acuerdo con las pruebas realizadas para verificar el incremento de oxígeno, se determinó que los compuestos efectivamente incrementan el OD, y basado en la presenta información las concentraciones son muy elevadas, lo que llevó al análisis

de que la concentración probablemente no era la que el producto comercial indicaba y que se dio una degradación del producto con el tiempo.

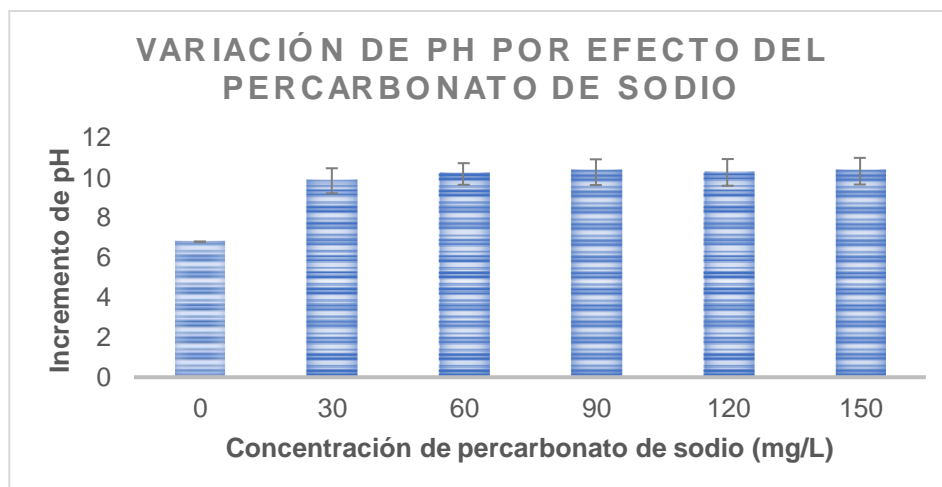


Figura 3.3: Variación del pH por efecto del percarbonato de sodio.

El gráfico 3.3 indica el incremento de pH causado por el percarbonato de sodio. Las muestras de agua destilada tenían un pH de aproximadamente 6.5, y cuando se colocaron las concentraciones del compuesto aumentó hasta aproximadamente 10.

3.2 Resultados de la evaluación de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio sobre microalgas.

3.2.1 Resultados de la evaluación del peróxido de hidrógeno sobre cepas de microalgas *Chaetoceros gracilis*.

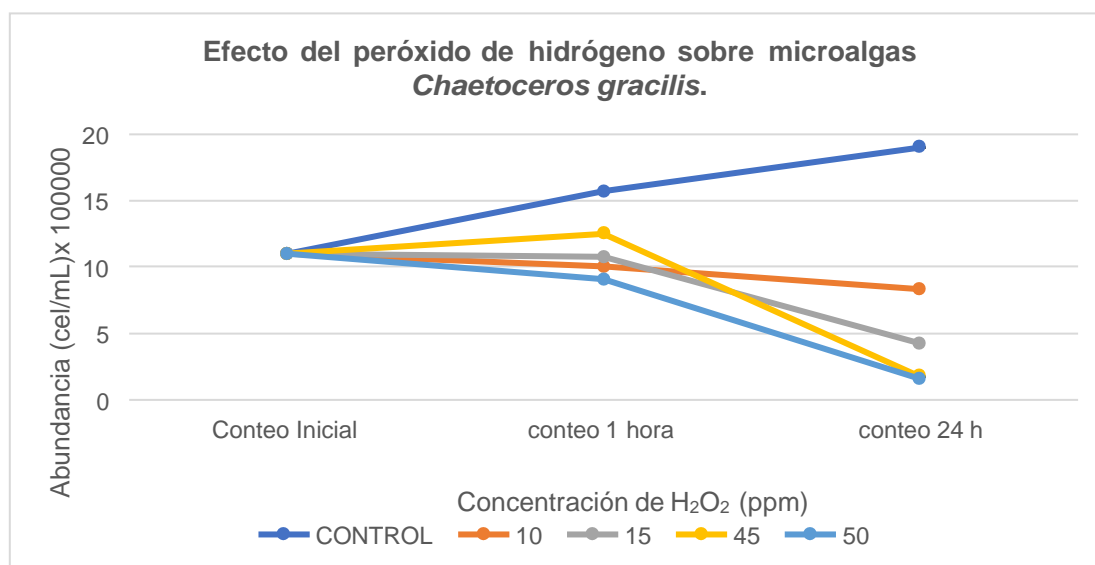


Figura 3.4: Efecto del peróxido de hidrógeno sobre microalgas *Chaetoceros gracilis*.

El gráfico 3.4 explica cómo el peróxido de hidrógeno actúa sobre la supervivencia del fitoplancton. Definitivamente concentraciones de entre 10 y 50 ppm inciden en el desarrollo de estas microalgas.

3.2.2 Resultados de la evaluación del percarbonato de sodio sobre cepas de microalgas *Chaetoceros gracilis*.

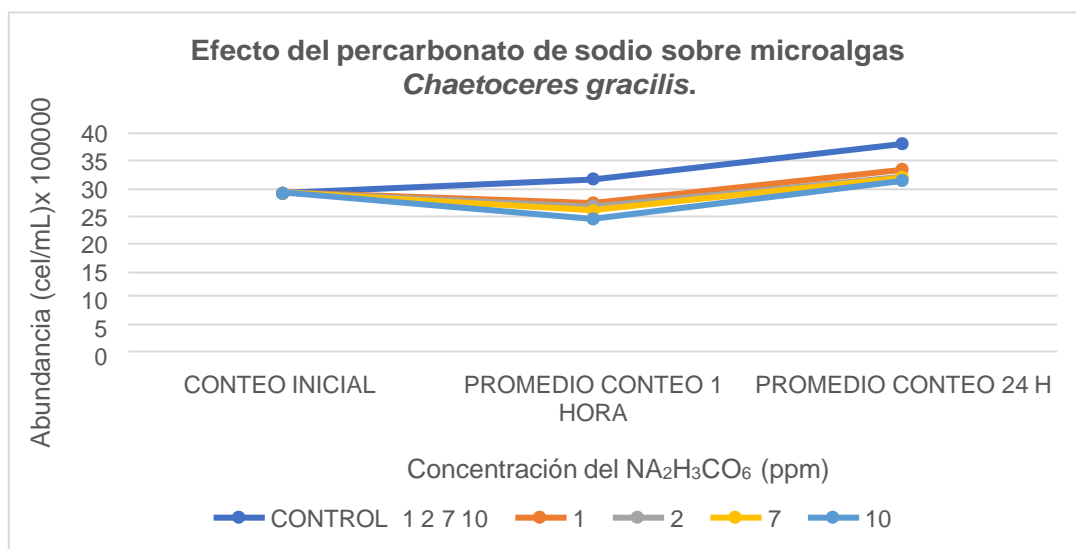


Figura 3.5: Efecto del percarbonato de sodio sobre *Chaetoceros gracilis*.

El gráfico 3.5 explica que el percarbonato de sodio a la primera hora generó efecto negativo, pero luego de esto el pH se regula y las células comienzan a regenerarse y recuperar la población.

3.3 Resultados del efecto de los compuestos peróxido de hidrógeno y percarbonato de sodio sobre bacterias.

3.3.1 Resultados de la evaluación del peróxido de hidrógeno sobre bacterias.

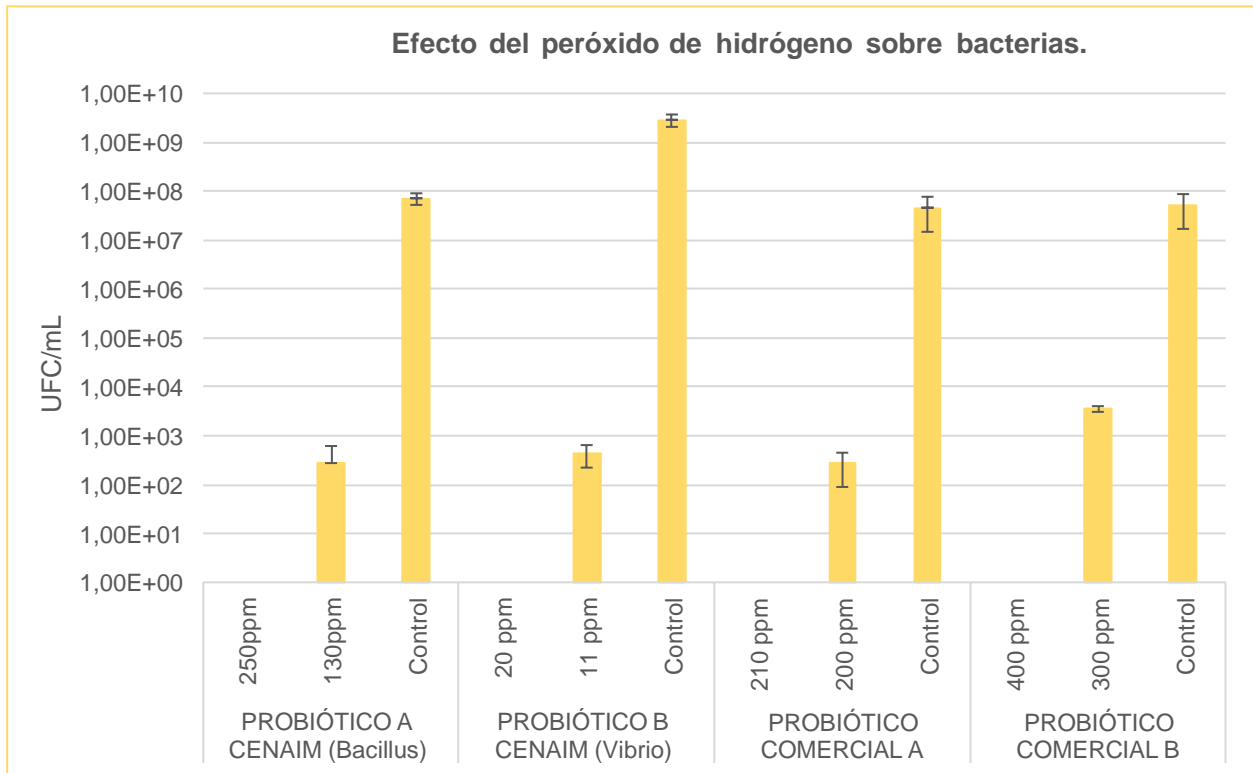


Figura 3.6: Concentraciones de efecto bactericida y bacteriostático del peróxido de hidrógeno al 50% sobre las bacterias seleccionadas.

El efecto bactericida de un producto puede variar dependiendo de la resistencia. Se determinó que a concentraciones de 11 ppm el H₂O₂ generó efecto bacteriostático en el Vibrio seleccionado (*Vibrio alginolyticus*), y a 20 ppm ya es bactericida, lo que significa que éste compuesto además de incrementar el OD, puede ser un agente desinfectante en el medio acuícola. Cabe mencionar que solo se escogió un Vibrio de tantos, como representante de la comunidad bacteriana. Mientras que para los demás probióticos las concentraciones bactericidas y bacteriostáticas son más elevadas (ver Tabla 3.1), probablemente no usadas en campo, pero los datos sirven como un dato de recomendación para que el camaronero pueda tomar decisiones en base a esto.

Tabla 3.1: Concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC) del compuesto peróxido de hidrógeno sobre bacterias.

	Bacillus P64	Vibrio alginolyticus (ILI)	Probiótico comercial A	Probiótico comercial B
MIC (ppm)	250	20	210	300
MBC (ppm)	130	11	200	400

3.1.1 Resultados de la evaluación del percarbonato de sodio sobre bacterias.

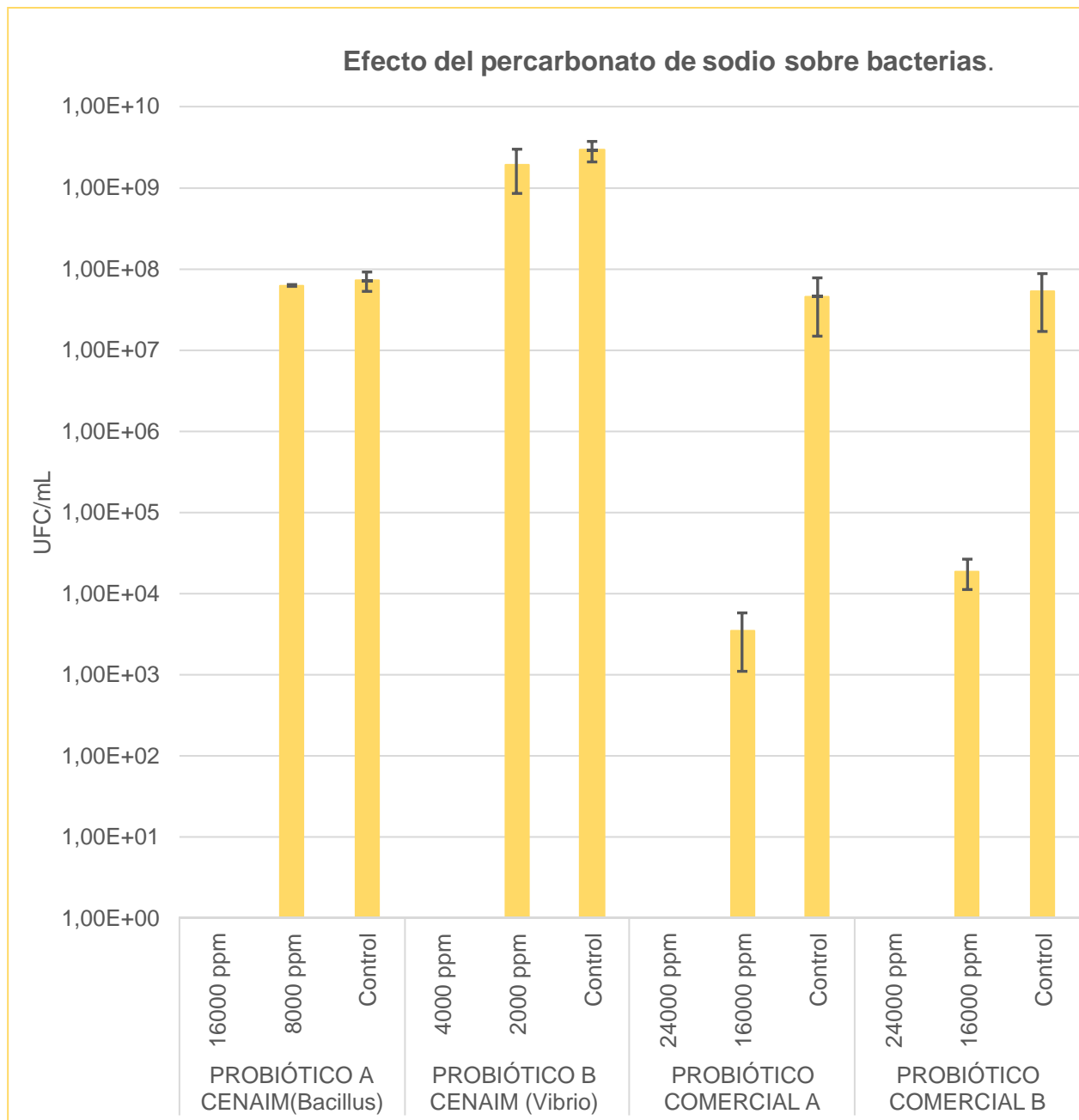


Figura 3.7: Concentraciones de efecto bactericida y bacteriostático del percarbonato de sodio sobre bacterias.

El percarbonato de sodio mostró generar estos efectos tóxicos a concentraciones muy elevadas, por encima de 2000 ppm para todas las bacterias seleccionadas en este estudio.

3.4 Análisis de costos

Para el análisis del costo se tomaron en consideración el precio de los análisis y los productos que ofrece CENAIM, el costo aproximado del proyecto (no incluye el 12% de IVA), fue de \$3,742.00 (ver Tabla 3.2).

Tabla 3.2: Detalle de los precios de los análisis de medición de OD, análisis de fitoplancton, análisis antimicrobiano y varios productos.

Análisis	Detalle	Cantidad	Precio Unitario	Precio Total
Pruebas para evaluar el incremento de OD con el peróxido de hidrógeno y el percarbonato de sodio.	Salinidad	36	\$3.00	\$108.00
	PH	36	\$2.50	\$90.00
	Oxígeno disuelto (Oxigenómetro)	36	\$4.00	\$144.00
Medición de toxicidad en microalgas	Cepas de microalgas (Tubo 10ml)	16	\$50.00	\$800.00
	Identificación visual de algas	16	\$20.00	\$320.00
Evaluación de efectos bactericida y bacteriostático en bacterias.	Cepa probiótica	1	\$18.00	\$18.00
	Cepa probiótica	1	\$20.00	\$20.00
	Cepa comercial 1	1	\$1.00	\$1.00
	Cepa comercial 2	1	\$1.00	\$1.00
	Análisis concentración Mínima Inhibitoria (MIC) en placas	70	\$17.00	\$1,190.00
	Conteo Bacteriano método Neubauer	70	\$15.00	\$1,050.00

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- El peróxido de hidrógeno empleado en el estudio incrementa el oxígeno disuelto, pero a una concentración mucho mayor que la concentración teórica establecida de ecuaciones estequiométricas.
- El peróxido de hidrógeno testeado inhibe el crecimiento de *Chaetoceros gracilis* a concentraciones de 10 a 50 ppm (concentraciones evaluadas en este estudio).
- Muy probablemente la calidad de los productos testeados no tenía la concentración indicada, ya sea porque el producto no era de esa concentración o se degradó cuando se usó.
- Pruebas sencillas como las realizadas en este estudio, permiten evaluar la calidad de los productos.
- Se demostró que a ciertas concentraciones si hay afectación sobre las microalgas y bacterias, por lo que tener cautela es una prioridad.

4.1 Recomendaciones

- Realizar estudios más finos para abarcar mayor representatividad de la biota.
- Antes de empezar, se deben conocer las concentraciones de partida de los compuestos comerciales.
- Determinar la pérdida de concentración de los compuestos con el tiempo.
- Para determinar el MIC y MBC se recomienda verificar los cálculos de las diluciones.
- Evaluar afectaciones de organismos con otros indicadores de respuesta, por ejemplo, capacidad de fotosíntesis en cepas de microalgas.
- Manipular los productos con equipos de protección adecuados (mascarilla, lentes, mandil, guantes, etc.).
- Utilizar equipos correctamente calibrados para la medición de parámetros como el oxígeno disuelto, pH y salinidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anand, V., Kashyap, M., Sharma, M. P., & Bala, K. (2021). Impact of hydrogen peroxide on microalgae cultivated in varying salt-nitrate-phosphate conditions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 105814. <https://doi.org/10.1016/j.iece.2021.105814>
2. Baldry, M. G. C. (1983a). The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *Journal of Applied Bacteriology*, 54(3), 417–423. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb02637.x>
3. Baldry, M. G. C. (1983b). The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *Journal of Applied Bacteriology*, 54(3), 417–423. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb02637.x>
4. Boyd, C. E. (1990). *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Auburn University.
5. Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (2014). *Handbook for Aquaculture Water Quality*.
6. Boyd, C., Treece, G., Engle, C., Valdemarra, D., Lightner, D., Pantoja, C., . . . Benner, R. (2001). *Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica*.
7. Francis-Floyd, R. (2021). *DISSOLVED OXYGEN FOR FISH PRODUCTION*. Obtenido de <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/FA002>
8. Girolamini, L., Dormi, A., Pellati, T., Somaroli, P., Montanari, D., Costa, A., Savelli, F., Martelli, A., Grottole, A., Fregni Serpini, G., & Cristino, S. (2019). Advances in Legionella Control by a New Formulation of Hydrogen Peroxide and Silver Salts in a Hospital Hot Water Network. *Pathogens*, 8(4), 209. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040209>
9. Guo, Y., O'Brien, A. M., Lins, T. F., Shahmohamadloo, R. S., Almirall, X. O., Rochman, C. M., & Sinton, D. (2021). Effects of Hydrogen Peroxide on Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in the Presence of Nanoplastics. *ACS ES&T Water*, 1(7), 1596–1607. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.1c00090>
10. Hanh, D. N., Rajbhandari, B. K., & Annachatre, A. P. (2005). Bioremediation of Sediments from Intensive Aquaculture Shrimp Farms by Using Calcium

- Peroxide As Slow Oxygen Release Agent. *Environmental Technology*, 26(5), 581–590. <https://doi.org/10.1080/09593332608618543>
11. Justo, C., & Venereo Gutiérrez, R. (2002). DAÑO OXIDATIVO, RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES. In *Rev Cubana Med Milit* (Vol. 31, Issue 2).
 12. Kikuchi, S., Honda, K., & Kim, S. (1954). Removal of Dissolved Oxygen by Sodium Sulfite. Application to the Polarographic Study. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 27(1), 65–68. <https://doi.org/10.1246/bcsj.27.65>
 13. König, R. B., Furtado, P. S., Wasielesky, W., & Abreu, P. C. (2021). Effect of hydrogen peroxide on the microbial community present in biofloc production systems of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 533, 736155. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736155>
 14. Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 10(2). <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
 15. Rastinfard, A., Dalisson, B., & Barralet, J. (2022). Aqueous decomposition behavior of solid peroxides: Effect of pH and buffer composition on oxygen and hydrogen peroxide formation. *Acta Biomaterialia*, 145, 390–402. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.04.004>
 16. Rivas Soler, nombre. (n.d.). *Evaluación de la actividad bactericida de un antimicrobiano de origen natural*. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/167484/P%c3%a9rez%3bRvas%20-%20Evaluac%c3%b3n%20de%20la%20actvdad%20bactercda%20de%20un%20antmcrobano%20de%20orgen%20natural.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 17. Ruiz, E. J. (2008). “SÍNTESIS ELECTROQUÍMICA DE PERCARBONATO. Obtenido de <https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/362/1/S%C3%ADntesis%20electroqu%C3%ADmica%20de%20percarbonato%20de%20sodio%20por%20medio%20de%20reacciones%20an%C3%B3dicas%20y%20cat%C3%B3dicas%20acopladas.pdf>

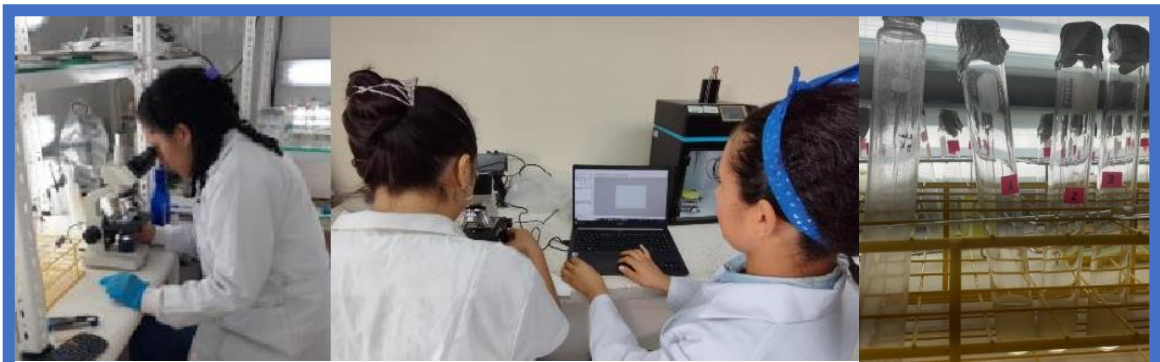
Anexos



Anexo 1: Testeo del incremento de oxígeno disuelto como efecto de los compuestos comerciales H_2O_2 y $Na_2H_3CO_6$.



Anexo 2: Testeo de las concentraciones antimicrobianas de los compuestos comerciales H_2O_2 y $Na_2H_3CO_6$.



Anexo 3: Verificación de la toxicidad de los compuestos H_2O_2 y $Na_2H_3CO_6$ sobre fitoplancton.